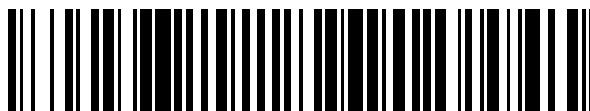


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 441**

51 Int. Cl.:

C07F 15/00

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.01.2006** **E 06719722 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2013** **EP 1896490**

54 Título: **Análogos de platino con ligandos de monoimina**

30 Prioridad:

30.06.2005 US 695637 P

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

19.04.2013

73 Titular/es:

**BIONUMERIK PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)**

**SUITE 1250, 8122 DATAPOINT DRIVE
SAN ANTONIO, TEXAS 78229, US**

72 Inventor/es:

**HAUSHEER, FREDERICK, H.;
XIAO, ZEJUN y
KOCHAT, HARRY**

74 Agente/Representante:

ZUAZO ARALUZE, Alexander

ES 2 401 441 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

Análogos de platino con ligandos de monoimina

5 **Campo de la invención**

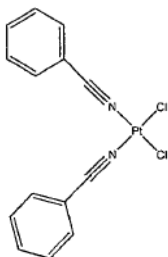
La presente invención se refiere a análogos de platino novedosos que presentan ligandos de monoimina y derivados de los mismos, y da a conocer métodos para la síntesis de estos análogos de platino mencionados anteriormente y derivados de los mismos.

10

Antecedentes de la invención

El fármaco antineoplásico cisplatino (cis-diaminodicloroplatino o "CDDP"), y fármacos a base de platino relacionados incluyendo carboplatino y OxaliplatinTM, se usan ampliamente en el tratamiento de una variedad de tumores malignos, incluyendo, pero sin limitarse a, cánceres de ovario, pulmón, colon, vejiga, tumores de células germinales y de cabeza y cuello. Se notifica que los análogos de platino actúan, en parte, mediante acuación para formar especies de agua reactivas, algunas de las que pueden predominar de manera intracelular, y formar posteriormente reticulaciones de quelación por coordinación intracatenaria de ADN con bases purínicas, reticulando de ese modo el ADN (predominantemente reticulaciones intracatenarias entre bases purínicas y menos comúnmente como reticulaciones intercatenarias entre bases purínicas y pirimidínicas) y perturbando la función y estructura del ADN, lo que es citotóxico para las células cancerosas. Las células cancerosas resistentes a platino son resistentes a las acciones citotóxicas de estos agentes. Algunos cánceres presentan de manera imprevisible una resistencia natural *de novo* intrínseca frente a los efectos de destrucción de los agentes de platino y no experimentan apoptosis ni necrosis ni regresión tras el tratamiento con platino inicial. Otros cánceres presentan grados variables de sensibilidad citotóxica a fármacos de platino, tal como se evidencia mediante la regresión de tumor tras el tratamiento inicial, pero posteriormente desarrollan un aumento del nivel de resistencia a platino que se manifiesta como una ausencia de contracción del tumor o mediante una progresión manifiesta del crecimiento tumoral o metástasis durante o tras el tratamiento con el fármaco de platino (es decir, "resistencia adquirida"). Se buscan nuevos agentes de platino que puedan destruir eficazmente células tumorales pero que también sean insensibles o menos susceptibles a mecanismos de resistencia a fármacos mediados por tumores que se observan con otros agentes de platino.

Al intentar resolver este problema, un grupo de investigación (véase, Uchiyama, *et al.*, Bull. Chem. Soc. Jpn. 54:181-85 (1981)) ha desarrollado análogos de cisplatino que presentan un grupo nitrilo sustituido por cada uno de los grupos amino en el cisplatino (nomenclatura IUPAC: cis-bisbenzonitrilodichloroplatino (II)). La fórmula estructural para este análogo se muestra a continuación:



40

cis-bisbenzonitrilodichloroplatino (II)

En general, los análogos de platino a base de ligandos de nitrilo son menos polares y más lipófilos (es decir, hidrófobos) que los fármacos a base de platino comercializados actualmente, y por tanto pueden disolverse en disolventes menos polares incluyendo, pero sin limitarse a, dicloruro de metileno, cloroformo, acetona y similares. Esta lipofilia superior puede permitir que tales análogos se absorban más fácilmente por células cancerosas, mediante una fácil difusión/transporte a través la bicapa lipídica de la membrana celular, que los fármacos actuales. Aumentando de ese modo la concentración disponible de las especies de platino que pueden participar en los efectos antitumorales citotóxicos sobre el ADN dentro de células cancerosas.

Adicionalmente, el par de electrones solitario en el nitrógeno en el grupo nitrilo está ubicado en el orbital híbrido sp, que está más próximo al núcleo de nitrógeno que el orbital híbrido sp³ en el ligando amino. Por tanto, en análogos de platino, la atracción del núcleo de nitrógeno en el ligando de nitrilo por el par de electrones solitario compartidos con platino es mayor que en el ligando amino. Este efecto da como resultado una disminución del efecto iónico entre platino (II) y el grupo saliente, y un aumento de la unión covalente. Como resultado, los grupos salientes son más difíciles de desplazar por sustitución, incluyendo la acuación, y por tanto se observan velocidades de acuación más lentas en análogos de platino donadores de N de nitrilo en comparación con análogos de aminoplatino. Parecería

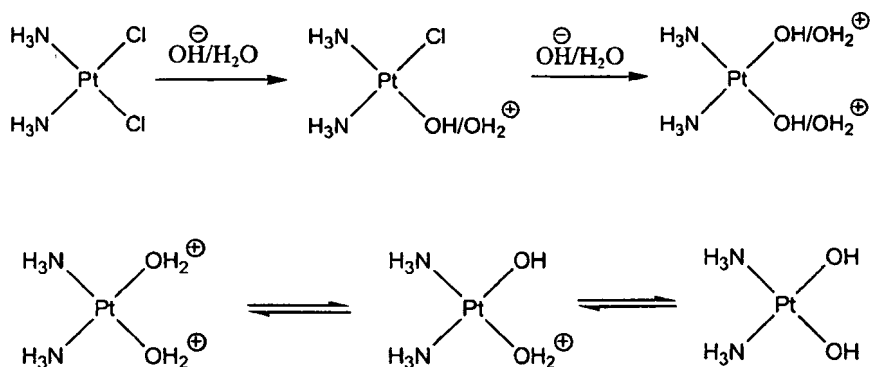
55

que tanto los análogos de platino a base de ligandos de nitrilo como los productos intermedios que forman tras hidrólisis, presentan una velocidad de reacción más lenta con ADN desnudo en comparación con análogos de platino a base de ligandos amino. Se asume que la velocidad de formación de reticulación de análogos de platino más lenta con bases de ADN pueden ser menos susceptibles a mecanismos de reparación de ADN-platino mediados por tumores, que es uno de los mecanismos de resistencia a fármacos de platino clave. Además, e igualmente importante desde un punto de vista farmacológico, toxicológico, químico y mecanístico de elusión de la resistencia a fármacos, se predice que los análogos de platino que contienen nitrilo, azido y R-N=N descritos a continuación serán sustancialmente menos reactivos químicamente que el cisplatino, carboplatino y Oxaliplatino. Por tanto, estos análogos de platino que contienen nitrilo, azido y R-N=N reaccionan sustancialmente más lentamente con, y evitan de ese modo conjugados de platino-azufre y platino-nitrógeno no deseados con, los tioles, disulfuros y proteínas/péptidos presentes *in vivo*; específicamente los tioles, disulfuros y péptidos/aminoácidos fisiológicos que contienen azufre, incluyendo pero sin limitarse a, glutatión, cisteína, homocisteína, metionina y todos los demás dipéptidos, tripéptidos y péptidos mayores de arginina o lisina que contienen azufre y contienen imidazol (por ejemplo, histidina), que participan en resistencia a fármacos de platino mediada por tumores. Por tanto, estos análogos de platino novedosos a base de nitrilo, azido y otros ligandos de nitrógeno tienen potencial para eludir la resistencia a cisplatino mediada por tumores *de novo* y adquirida y destruir células cancerosas con resistencia natural a fármacos de platino conocidos. También se cree que los análogos de platino descritos a continuación permiten la reducción controlada de la reactividad química de las especies de platino hasta tal grado que también se suministran de manera intracelular mayores cantidades de las especies de platino. Este suministro mejorado de platino que está disponible para la formación de aductos de ADN intracelular está mediado por una reducción sustancial en la cantidad de reacciones ineficaces e inespecíficas de estas especies de platino novedosas con proteínas y tioles y disulfuros fisiológicos, que pueden atenuar los efectos antitumorales de los análogos de platino convencionales.

Presentan las mismas ventajas los análogos de cisplatino en los que se sustituye un grupo amino por un grupo imina sustituida. Estos análogos podrían producir enlaces de hidrógeno o electrostáticos con el ADN. La supuesta ventaja es que estos análogos de platino implican una reducción más lenta y más controlada de la reactividad química de las especies de platino hasta tal grado que se suministran de manera intracelular mayores cantidades de las especies de platino. Este suministro mejorado de platino que está disponible para la formación de aductos de ADN intracelular está mediado por una reducción sustancial en la cantidad de reacciones ineficaces e inespecíficas de estas especies de platino novedosas con proteínas y tioles y disulfuros fisiológicos (especialmente glutatión, que está presente en grandes concentraciones de manera intracelular), que pueden atenuar de otro modo los efectos antitumorales de los análogos de platino convencionales.

Se ilustra la reacción para la hidrólisis de cisplatino a continuación en el esquema I:

Esquema I



El cisplatino es relativamente estable en plasma humano, en el que una alta concentración de cloruro impide la acuación de cisplatino. Una vez que el cisplatino entra en una célula tumoral, en la que existe una concentración mucho menor de cloruro, uno o ambos de los ligandos cloruro del cisplatino se desplaza por agua para formar una forma intermedia activa de acuación (tal como se ilustró anteriormente), que a su vez puede reaccionar rápidamente con purinas del ADN para formar aductos de platino-purina-ADN estables. Otra reacción lateral no deseada de tales especies de platino son reacciones laterales con tioles y disulfuros así como proteínas fisiológicas; se cree que tales reacciones no son beneficiosas en la destrucción de células tumorales.

Por tanto, el desarrollo de análogos de platino que no reaccionan tan fácilmente con tioles/disulfuros y proteínas fisiológicas puede ser notablemente más eficaz contra tumores resistentes a fármacos que o bien cisplatino o bien los análogos utilizados actualmente.

Intini *et al*, Journal of Biological Inorganic Chemistry, vol. 9, n.º 6, páginas 768-780, dan a conocer complejos de platino con iminoéteres que tienen actividad antitumoral *in vitro*.

Sumario de la invención

La invención proporciona los siguientes compuestos:

1. cis-Aminodiclorometilimina-platino (II).
2. cis-Aminodicloroetilimina-platino (II).
3. cis-Aminodiclorociclohexanimina-platino (II).
4. cis-Aminodiclorociclopropanimina-platino (II).
5. cis-Aminodiclorofenilimina-platino (II).
6. cis-Aminodiclorobutilimina-platino (II)

y tales compuestos para uso como agente antineoplásico

Se dan a conocer en el presente documento análogos a base de platino novedosos con un ligando de imina sustituida: $R_7RC=NR_8$, en la que R_7 y R_8 son hidrógeno y R se selecciona de metilo, etilo, ciclohexano, ciclopropano, fenilo y butilo y el grupo funcional $R_7RC=NR_8$ se une covalentemente al platino. Los análogos también tienen ligandos donadores de nitrógeno que pueden formar enlaces de hidrógeno con las bases en el ADN o el ARN, y grupos salientes que pueden desplazarse por agua, iones hidróxido u otros nucleófilos, que se cree que forman especies activas *in vivo*, y luego, formar complejos reticulados entre cadenas de ácido nucleico, principalmente entre purinas en el ADN (o el ARN), es decir, en las bases de guanina o adenina del mismo. El esquema de reacción para la hidrólisis de los grupos salientes en estos complejos a base de platino novedosos sería análogo al mostrado anteriormente para cisplatino, en el que los productos intermedios en los sitios de grupos salientes incluyen OH/OH_2^+ ; OH_2^+ y OH.

A diferencia de los análogos de bis-nitrilo-platino, los análogos de monoimina-platino conservan el ligando donador de amino, que se cree que proporciona una fuerte capacidad de formación de enlaces de hidrógeno en la zona próxima al núcleo de platino. Estos análogos de platino también pueden transportarse más fácilmente al interior de células tumorales, debido a su lipofilia aumentada. Así, es probable que estos análogos novedosos sean útiles como agentes antineoplásicos, y en la modulación o interferencia con la síntesis o replicación o transcripción de ADN o traducción o función de ARN *in vitro* o *in vivo*, ya que potencialmente pueden formar un complejo de coordinación de platino con ARN o ADN intacto o naciente e interferir de ese modo con la síntesis celular, la transcripción o la replicación de polinucleótidos de ácido nucleico.

En los análogos a base de platino de la presente invención, o bien uno o bien los dos grupos salientes, que se hidrolizan en el entorno intracelular para en primer lugar generar grupos hidroxilo en las posiciones de grupos salientes, y luego producir agua, dejando la molécula lábil y adecuada para la sustitución nucleófila. El platino puede producir rápidamente quelación y reticulación con oligonucleótidos a través de la reacción con la base de guanina o adenina de un oligonucleótido de ADN (o posiblemente también un ARN). Esta reticulación funciona para inhibir o impedir la extensión de la cadena de oligonucleótido adicional.

El cisplatino es relativamente estable en plasma humano, en el que una alta concentración de cloruro impide la acuación de cisplatino. Sin embargo, una vez que el cisplatino entra en una célula tumoral, en la que existe una concentración mucho menor de cloruro, uno o ambos de los ligandos cloruro del cisplatino se desplaza por agua para formar una forma intermedia activa de acu (tal como se mostró anteriormente), que a su vez puede reaccionar rápidamente con purinas del ADN (es decir, A y G) para formar aductos de platino-purina-ADN estables. Una limitación asociada con estos análogos de bis-nitrilo-platino es que sus aductos con el ADN pueden no ser tan estables como los aductos de cisplatino-ADN, porque los grupos amino en el cisplatino participan en la formación de enlaces de hidrógeno locales con la estructura de ADN para estabilizar estos complejo de ADN-platino. La ausencia de interacción por formación de enlaces de hidrógeno locales entre los análogos de bis-nitrilo-platino y la estructura del ADN disminuye potencialmente la afinidad de unión de los análogos de bis-nitrilo-platino con el ADN.

Por tanto, sigue habiendo una necesidad de nuevos análogos de platino novedosos que: (i) puedan formar complejos más estables (con aumento de la afinidad de unión) y (ii) no reaccionar tan fácilmente en reacciones laterales no deseadas con tioles/disulfuros y proteínas fisiológicos.

Descripción detallada de la invención

Las realizaciones preferidas descritas en el presente documento no pretenden ser exhaustivas, ni limitar la invención

a las formas precisas dadas a conocer. Se eligen y se describen para ilustrar de la mejor manera los principios de la invención, y su aplicación y uso práctico para permitir de la mejor manera que otros expertos en la técnica sigan sus enseñanzas.

5 Definiciones

Todas las definiciones se proporcionaron por: Hawley's Condensed Chemical Dictionary, 14ª edición, John Wiley & Sons, Inc., Publishers ((2001) y American Hospital Formulary Service, Drug Information, American Society of Health-System Pharmacists, Publishers (1999).

10 El término "agente antineoplásico" o "agente quimioterápico" se refiere a un agente que inhibe, previene o detiene el crecimiento o las metástasis de neoplasias, o destruye células neoplásicas directamente mediante necrosis, o mediante apoptosis de las neoplasias.

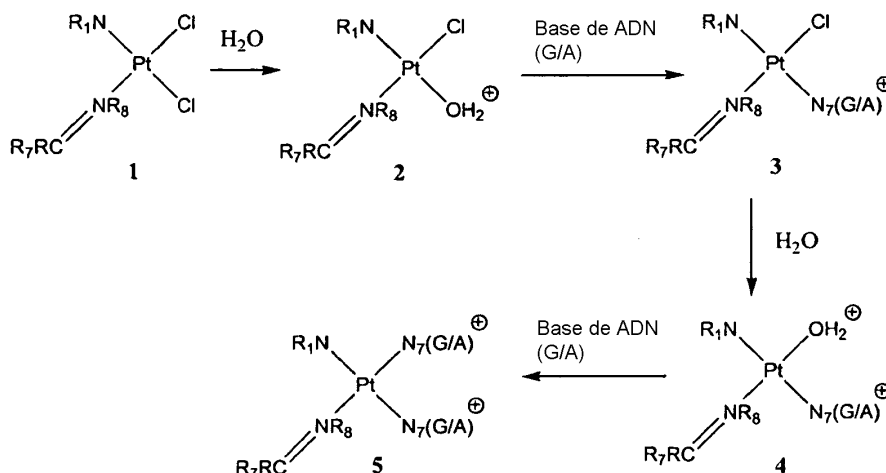
15 Tal como se define en la presente invención, una "cantidad eficaz" o una "cantidad farmacéuticamente eficaz" en referencia a los compuestos o las composiciones de la presente invención se refiere a la cantidad suficiente para inducir un desenlace biológico, farmacológico o terapéutico en un sujeto con una enfermedad neoplásica. Ese resultado puede ser la prevención, mitigación, reducción en la gravedad, acortamiento del tiempo hasta la resolución o alivio de los signos, síntomas, o ejercer un efecto beneficioso desde un punto de vista médico sobre la patogenia o fisiopatología subyacente de un efecto secundario, toxicidad, trastorno o estado esperado u observado, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. En la presente invención, el resultado incluirá generalmente la prevención, el retraso, la mitigación, la disminución o la reversión de la toxicidad asociada a agentes quimioterápicos, y un aumento en la frecuencia, el número o los tratamientos y/o la duración de la terapia quimioterápica.

25 Tal como se usa en el presente documento, "prevención" significa la prevención de la aparición, o el desarrollo de una mayor gravedad en un estado o signo adverso en un sujeto, en su totalidad o en parte, o la mejora o el control de tal estado o signo adverso en el sujeto, ya que implican cualquier efecto secundario adverso asociado a agentes quimioterápicos.

30 En estos análogos a base de platino mencionados anteriormente, o bien uno o bien los dos grupos salientes cloro se hidrolizan en el entorno intracelular para generar: inicialmente, grupos hidroxilo en la(s) posición/posiciones de grupos salientes, y luego, posteriormente, producir agua, dejando la molécula lábil y adecuada para la sustitución nucleófila. El platino puede producir rápidamente quelación y reticulación con oligonucleótidos a través de la reacción con una base de guanina o adenina de un oligonucleótido de ADN (o posiblemente también un ARN). El platino reticula el oligonucleótido en la posición 7 del resto guanina o adenina. Esta reticulación funciona para inhibir o impedir la extensión de la cadena de oligonucleótido adicional.

40 Tal como se indicó previamente, los grupos de amina en la posición de ligando portador pueden participar en la formación de enlaces de hidrógeno, que pueden servir para estabilizar los aductos de ADN.

45 Se ilustran a continuación, en el esquema II, los análogos de platino a base de monoamina dados a conocer en el presente documento (en los que R₁N representa un grupo amino) que forman un aducto con una base de ADN. Debido a la naturaleza asimétrica de un ligando amino y un ligando de imina en estos análogos (1), se esperan diferentes tasas de hidrólisis en los grupos salientes. Haciendo referencia a este esquema de reacción, supuestamente un grupo hidroxilo nucleófilo se sustituye inicialmente por cloro en la transposición del ligando amino para formar la especie de monoacuo (2). Los productos intermedios de monoacuo reaccionan fácilmente con la base de ADN (G/A) para formar aductos de ADN (3). El aducto (3) puede hidrolizarse adicionalmente para dar la especie de monoacuo (4) para formar el aducto (5), que da como resultado un efecto antineoplásico.

Esquema II

Ejemplos específicos de síntesis de análogos de platino

5 I. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodiclorometilimina-platino (II)

A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de metilimina (recién preparada en disolución) mediante burbujeo. Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido resultante, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recrystalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

10 II. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodicloroetilimina-platino (II)

15 A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de etilimina (recién preparada en disolución) mediante burbujeo. Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recrystalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

20 III. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodiclorodimetilimina-platino (II) (ejemplo de referencia)

25 A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de dimetilimina (recién preparada en disolución). Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recrystalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

30 IV. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodiclorociclohexanimina-platino (II)

35 A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de ciclohexanimina (recién preparada en disolución). Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recrystalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

40 V. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodiclorociclopropanimina-platino (II)

45 A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de ciclopropanimina (recién preparada en disolución). Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recrystalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

VI. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodiclorofenilimina-platino (II)

A una disolución de $\text{K}[\text{PtNH}_3\text{Cl}_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de fenilimina (recién preparada en disolución). Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido resultante, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para

proporcionar un producto en bruto. La recristalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

VII. Procedimiento propuesto para la preparación de cis-aminodicloro-butiliminaplatino (II)

- 5 A una disolución de $K[PtNH_3Cl_3]$ (150 mg) en 4 ml de agua desionizada se le añaden 0,1 g de butilimina (recién preparada en disolución). Se agita la mezcla resultante a 23°C durante aproximadamente 24 horas. Se filtra el precipitado de color amarillo pálido resultante, se lava con agua desionizada y etil éter, y se seca a alto vacío para proporcionar un producto en bruto. La recristalización en alcohol etílico pudo producir un producto puro.

REIVINDICACIONES

1. cis-Aminodiclorometilimina-platino (II).
2. cis-Aminodicloroetilimina-platino (II).
3. cis-Aminodiclorociclohexanimina-platino (II).
4. cis-Aminodiclorociclopropanimina-platino (II).
5. cis-Aminodiclorofenilimina-platino (II).
6. cis-Aminodiclorobutilimina-platino (II).
7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como agente antineoplásico.