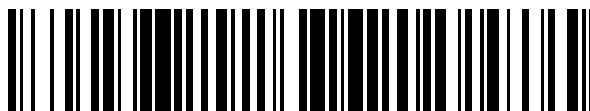


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 902**

51 Int. Cl.:

A61K 31/513 (2006.01)

A61K 31/16 (2006.01)

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 31/175 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

C07C 233/58 (2006.01)

C07C 233/59 (2006.01)

C07C 233/60 (2006.01)

C07D 295/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2004 E 04777557 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014 EP 1656144**

54 Título: **Compuestos activadores de TRP-P8 y métodos de tratamiento terapéuticos**

30 Prioridad:

02.07.2003 US 484526 P

31.07.2003 US 491616 P

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

15.07.2014

73 Titular/es:

GENENTECH, INC. (100.0%)

1 DNA WAY

SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080-4990, US

72 Inventor/es:

REYNOLDS, MARK y

POLAKIS, PAUL

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 476 902 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).

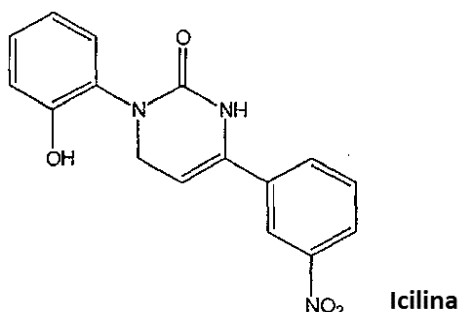
DESCRIPCIÓN

Compuestos activadores de TRP-P8 y métodos de tratamiento terapéuticos

5 **Antecedentes**

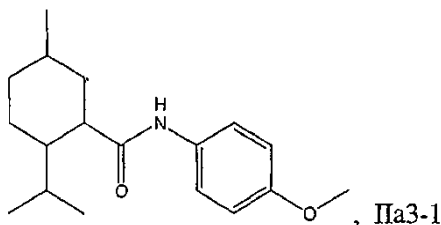
Los compuestos que producen una sensación fisiológica de frío cuando se aplican a la piel son conocidos, véase, por ejemplo, "New Compounds with the Menthol Cooling Effect", H.R. Watson, et al., J. Soc. Cosmet. Chem., 1978, 29, 185-200.

10 Wei, E.T., et al., J. Pharm. Pharmacol., 1983, 35 (2), 110-112, describe un compuesto llamado "icilina" por sus propiedades de sensación de frío que produce, (también conocida como AG-3-5) o 3-(2-hidroxi-fenil)-6-(3-nitro-fenil)-3,4-dihidro-1H-pirimidin-2-ona, de la fórmula:



15 Recientemente también se han descrito otros compuestos que tienen acción refrescante, ver H. Ottinger, et al., J. Agric. Food Chem., 2001, 49, 5383-5390.

20 La patente US-4.150.052 divulga compuestos mentano carboxamida, por ejemplo, de la fórmula IIa3-1:



que supuestamente tienen una acción fisiológica refrescante en la piel.

25 La patente US-4.070.496, divulga determinados compuestos óxido de fosfina ($R_1R_2R_3P=O$) y composiciones que supuestamente tienen una acción fisiológica refrescante en la piel.

30 La patente US-3.821.221, divulga determinados compuestos tetrahidropirimidina-2-ona que supuestamente tienen actividad en el sistema nervioso central como depresores o estimulantes.

35 Recientemente, se ha demostrado que ciertos receptores TRP tienen un papel en la termosensación, véase D.D. McKemy et al., "Identification of a Cold Receptor Reveals a General Role for TRP Channels in Thermosensation", Nature, 2002, 7 de marzo; 416 (6876):52-8. Para una revisión reciente de "La familia del canal iónico TRP", véase D.E. Clapham, et al., Nature Reviews, Neuroscience, 2001, 2, 387-396 <www.nature.com/reviews/neuro>. Okazawa et al Neuroscience letters (8 de abril de 2004), 359 (1-2):33-6; Nealen et al Journal of neurophysiology (julio de 2003), 90(1):515-20; Thut et al., Neuroscience (2003), 119(4):1071-83.

40 El gen Trp-p8 fue descubierto mediante el cribado de una biblioteca de ADNc extraído específico de la próstata. La proteína predicha tiene homología significativa con la familia Trp (receptor de potencial transitorio) de las proteínas del canal de Ca^{2+} . El análisis de transferencia Northern indica que la expresión de Trp-p8 dentro de los tejidos humanos normales está principalmente limitada a las células epiteliales de la próstata. El análisis de hibridación in situ muestra que la expresión del ARNm de Trp-p8 estaba en niveles moderados en el tejido normal de próstata y aparentemente elevado en el cáncer de próstata. El ARNm de Trp-p8 también se expresaba en una serie de tumores primarios no prostáticos de mama, colon, pulmón y piel, mientras que los transcritos que codifican Trp-p8 apenas se detectaban o incluso no se detectaban en los correspondientes tejidos humanos normales (Tsavaler, et al Cancer Research (2001), 61(9):3760-3769).

La inmunoterapia del carcinoma de próstata (CaP) depende en gran medida de la identificación de los antígenos diana adecuados que están presentes en un alto porcentaje de los tumores de próstata. La supuesta proteína del canal de calcio, Trp-p8, está asociada con la pérdida de expresión del ARNm de Trp-p8 y con un tiempo significativamente más corto hasta la supervivencia libre de recaída del PSA. La identificación de Trp-p8 se asocia con el resultado del cáncer de próstata y sugiere un papel integral para este receptor en la carcinogénesis prostática. Se han descrito péptidos inmunogénicos derivados del receptor de potencial transitorio de la proteína específica de la próstata-p8 (Trp-p8) que es reconocido por los linfocitos T citotóxicos de pacientes con CaP (Kiessling, et al (2003) Prostate 56(4):270-279; Henshall, et al Cancer Research (2003), 63(14):4196-4203; Fuessel, et al International Journal of Oncology (2003), 23(1):221-228; US 2003108963 A1). La identificación de agentes terapéuticos eficaces en el tratamiento de enfermedades o trastornos neoplásicos, hiperplásicos y similares sigue siendo el objeto de esfuerzos de investigación significativos. Trabajos recientes indican que ciertos agentes terapéuticos en combinación con ciertas preparaciones de anticuerpos pueden ser eficaces en el tratamiento de trastornos relacionados con la angiogénesis y enfermedades o trastornos similares, véase, por ejemplo, patente US-6.582.959.

Actualmente hay una necesidad de agentes terapéuticos y métodos que sean útiles para tratar enfermedades y trastornos que estén asociados con la regulación del receptor Trp-p8. También hay una necesidad de agentes terapéuticos y métodos de tratamiento, que sean específicos y selectivos de las células cancerosas y que tengan baja citotoxicidad para las células sanas. También hay una necesidad de agentes terapéuticos en combinación con agentes quimioterapéuticos adicionales, incluyendo, por ejemplo, preparaciones de anticuerpos y métodos de tratamiento terapéutico de combinación de los mismos, que sean útiles para tratar enfermedades y trastornos que estén asociados con la regulación del receptor de Trp-p8.

Resumen

Ahora se ha descubierto que ciertos compuestos, incluyendo algunos conocidos por producir una sensación fisiológica de frío ("frío-génicos"), tales como los anteriormente mencionados tetrahidropirimidin-2-onas, óxidos de fosfina, compuestos mentano carboxamida, compuestos de alquilamida sustituida con alquilo y alfa-ceto enaminas, presentan una actividad biológica útil, tal como una actividad anti-tumoral.

Por consiguiente, la presente solicitud describe compuestos que activan el receptor Trp-p8. En realizaciones la presente divulgación proporciona compuestos y medicamentos para métodos de tratamiento, que provocan un aumento del flujo de iones de calcio en las células cancerosas (es decir, compuestos "activadores del flujo" o "promotores del flujo"). En realizaciones, la presente divulgación proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos para métodos de tratamiento, que inhiben o destruyen las células cancerosas, por ejemplo, al provocar apoptosis.

En realizaciones, la presente divulgación también proporciona:

- una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones y un excipiente farmacéuticamente aceptable (la composición comprende preferiblemente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o sal);
- una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de tumores, que comprende un compuesto de la divulgación y combinaciones del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable;
- un compuesto de la divulgación para su uso en el tratamiento del cáncer o para provocar apoptosis en las células cancerosas;
- uso de un compuesto de la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, tumores, o para provocar apoptosis en las células cancerosas; y
- un método *ex vivo* o *in vitro* para desencadenar la apoptosis en las células cancerosas, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación.

Los inventores también han descubierto que ciertos compuestos de la divulgación, por ejemplo, aquellos compuestos conocidos por producir una sensación fisiológica de frío ("frío-génicos") y los compuestos estructuralmente relacionados, tales como los anteriormente mencionados tetrahidropirimidin-2-onas, óxidos de fosfina, compuestos mentano carboxamida, compuestos de alquilamida sustituida con alquilo y alfa-ceto enaminas y compuestos similares, cuando se usan en combinación con agentes quimioterapéuticos adicionales, incluyendo, por ejemplo, anticuerpos, son capaces de ejercer una actividad biológica útil, tal como la actividad anti-tumoral.

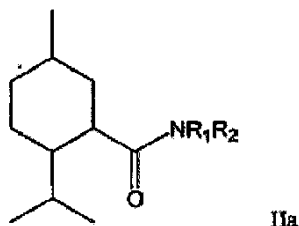
Por consiguiente, la presente solicitud se refiere además a combinaciones terapéuticas de un compuesto de la divulgación (que puede activar el receptor Trp-p8) y agentes quimioterapéuticos adicionales, incluyendo, por ejemplo, un anticuerpo. En realizaciones, tales combinaciones terapéuticas pueden ser eficaces en el tratamiento de las células cancerosas. En realizaciones, tales combinaciones terapéuticas pueden ser eficaces en la inhibición o destrucción de las células cancerosas, por ejemplo, al provocar apoptosis, inhibir la angiogénesis, o ambas.

En realizaciones, la presente divulgación también proporciona:

una composición farmacéutica que comprende combinaciones terapéuticas de un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones y un anticuerpo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable (la composición comprende preferiblemente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto o sal y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo, un anticuerpo anti-angiogénico);
 una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de tumores, que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con una cantidad antitumoral eficaz de al menos un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo, un anticuerpo anti-angiogénico y un vehículo farmacéuticamente aceptable;
 uso de un compuesto de la presente divulgación para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, tumores, o para provocar apoptosis, comprendiendo el tratamiento administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación en combinación con una cantidad eficaz de al menos un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo, un anticuerpo anti-angiogénico;
 un compuesto de la divulgación para su uso en el tratamiento del cáncer o para provocar apoptosis en células cancerosas, comprendiendo el tratamiento administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación en combinación con una cantidad eficaz de al menos un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo, un anticuerpo anti-angiogénico; y
 un método *ex vivo* o *in vitro* para desencadenar la apoptosis en células cancerosas, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación en combinación con una cantidad eficaz de al menos un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo un anticuerpo anti-angiogénico.

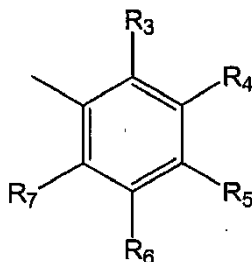
También hemos descubierto que otros determinados compuestos, tales como ciertos compuestos de mentano carboxamida descritos a continuación, se caracterizan por que también presentan actividad biológica útil, tal como actividad anti-tumoral destructora de las células.

Por consiguiente, la presente solicitud también describe compuestos de la fórmula IIa:



en la que

R₁ es H o alquilo (C₁-C₆);
 R₂ es fenilo o un fenilo sustituido de la fórmula (-PhR₃R₄R₅R₆R₇)



donde

R₃, R₄, R₆ y R₇ son cada uno independientemente -H, alquilo (C₁-C₆), alcoxilo (C₁-C₆) o halo;
 R₅ es halo, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₁₂), alcoxilo (C₁-C₆), -C(=O)alquilo (C₁-C₆) o alcanóilo (C₁-C₇);
 o R₅ es -NR₈R₉, donde R₈ y R₉ son cada uno independientemente -H, alquilo (C₁-C₆), o R₈ y R₉ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, pirrolidino, piperidino, piperzino, indolino, benzimidazolino, azetidino, aziridino, azepino, 1,4-oxazino o tiomorfolino;
 o R₄ y R₅ junto con el fenilo al que están unidos, forman un anillo que tiene de 4 a 7 átomos y el anillo tiene de 1 a 3 insaturaciones; y formas estereoisoméricas, mezclas de formas estereoisoméricas;
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
 a condición de que cuando R₃, R₄, R₆ y R₇ de -PhR₃R₄R₅R₆R₇ sean H, R₅ sea distinto de -CH₃, -OCH₃, -OH, -F o -NO₂; y

a condición de que R₂ sea distinto de 3-hidroxi-4-metil-fenilo; y además a condición de que R₂ sea distinto de 2-hidroxi-naftilo o piridilo.

5 La solicitud también describe un compuesto de la fórmula anteriormente mencionada IIa, que se caracteriza por que el compuesto es eficaz en destruir las células que expresan TRP-p8, pero donde el flujo de iones de calcio de la célula que expresa no necesita ser sustancialmente cambiado por la presencia del compuesto .

En realizaciones, la presente divulgación también proporciona:

10 el uso de un compuesto de fórmula IIa en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer o para provocar apoptosis en las células cancerosas;
un compuesto de fórmula IIa para su uso en el tratamiento del cáncer o para provocar apoptosis en células cancerosas;
15 una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula IIa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable;
un método *ex vivo* o *in vitro* para desencadenar la apoptosis en células cancerosas que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula IIa; y
20 cualquiera de los métodos o usos anteriores que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la divulgación de la fórmula IIa en combinación con otro compuesto de la divulgación, un anticuerpo anti-angiogénico o mezclas de los mismos.

Estas y otras realizaciones se ilustran en la presente memoria.

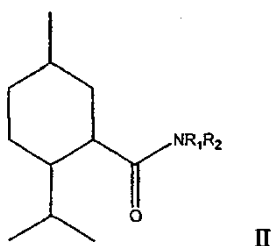
25 Breve divulgación de las Figuras

La FIG. 1A-D ilustra la eficacia de los compuestos frío-génicos seleccionados de la presente divulgación en destruir las células humanas que expresan Trp-p8 en comparación con la insensibilidad relativa de las células humanas que no expresan Trp-p8.
30 La FIG. 2 ilustra las tasas relativas de crecimiento para líneas celulares cancerosas clonadas (PC3/Trp-p8) que expresan Trp-p8 en comparación con una línea celular de control (PC3-neo) que no expresa Trp-p8.

Descripción detallada

35 La presente divulgación proporciona las composiciones farmacéuticas anteriormente mencionadas y medicamentos para métodos de tratamiento. La presente divulgación también proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de la divulgación de la fórmula IIa y medicamentos para métodos de tratamiento con los mismos y donde los compuestos y composiciones farmacéuticas, son citotóxicos para las células que expresan Trp-p8.

40 Ejemplos de compuestos frío-génicos son, por ejemplo, un compuesto de la fórmula II



45 en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo, o arilo, o como se describe, por ejemplo, en la patente US-4.150.052 y J. Soc. Cosmet. Chem., 1978, 29, 185-200; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 Se usan las siguientes definiciones, a menos que se describa lo contrario: halo es fluoro, cloro, bromo, o yodo. Alquilo, alcoxi, etc. indican tanto grupos lineales como ramificados; pero la referencia a un radical individual, como "propilo" abarca sólo el radical de cadena lineal, refiriéndose específicamente a un isómero de cadena ramificada tal como "isopropilo".

55 "Alquilo" es un hidrocarburo C₁-C₁₈ que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos. Ejemplos son metilo (Me, -CH₃), etilo (Et, -CH₂CH₃), 1-propilo (n-Pr, n-propilo, -CH₂CH₂CH₃), 2-propilo (i-Pr, i-propilo, -CH(CH₃)₂), 1-butilo (n-Bu, n-butilo, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metil-1-propilo (i-Bu, i-butilo, -CH₂CH(CH₃)₂), 2-butilo (s-Bu, s-butilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-2-propilo (t-Bu, t-butilo, -C(CH₃)₃), 1-pentilo (n-pentilo, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)₂), 2-metil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-metil-2-butilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)₂), 3-metil-1-butilo (-CH₂CH₂CH(CH₃)₂), 2-metil-1-butilo (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexilo (-

CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-hexilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexilo (-CH(CH₂CH₃)(CH₂CH₂CH₃)), 2-metil-2-pentilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)₂), 3-metil-3-pentilo (-C(CH₃)(CH₂CH₃)₂), 2-metil-3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)₂), 2,3-dimetil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH(CH₃)₂), 3,3-dimetil-2-butilo (-CH(CH₃)C(CH₃)₃).

“Ariilo” indica un radical fenilo o un radical carbocíclico bicíclico condensado en orto que tiene aproximadamente de nueve a veinte átomos, donde al menos un anillo es aromático. Ariilo (Ar) puede incluir ariilos sustituidos, tales como un radical fenilo que tiene de 1 a 5 sustituyentes, por ejemplo, alquilo, alcoxi y sustituyentes similares y cuyos sustituyentes son coherentes con los compuestos e incluyen los sustituyentes divulgados en las patentes o publicaciones anteriormente mencionadas para los compuestos de las fórmulas II.

El término “anticuerpo” en la presente memoria se utiliza en el sentido más amplio y cubre específicamente anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) formados a partir de al menos dos anticuerpos intactos y fragmentos de anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada. Un anticuerpo es una proteína generada por el sistema inmunitario que es capaz de reconocer y unirse a un antígeno específico. Descrito en términos de su estructura, un anticuerpo es una proteína en forma de Y que consiste en cuatro cadenas de aminoácidos, dos pesadas y dos ligeras. En un modelo simplificado suficiente para esta solicitud, cada anticuerpo tiene principalmente dos regiones: una región variable y una región constante. La región variable, situada en los extremos de los brazos de la Y, se une e interactúa con el antígeno diana. Esta región variable incluye una región determinante de la complementariedad (CDR) que reconoce y se une a un sitio de unión específico en un antígeno particular. La región constante, que se encuentra en la cola de la Y, es reconocida por e interactúa con el sistema inmunitario (Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5ª ed., Garland Publishing, Nueva York). Un antígeno objetivo generalmente tiene numerosos sitios de unión, también llamados epítomos, reconocidos por las CDR en anticuerpos múltiples. Cada anticuerpo que se une específicamente a un epítomo diferente tiene una estructura diferente. Por lo tanto, un antígeno puede tener más de un anticuerpo correspondiente.

El término “anticuerpo monoclonal” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a un anticuerpo obtenido de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, estando dirigidos contra un único sitio antigénico. Además, en contraposición con las preparaciones de anticuerpos policlonales que incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante en el antígeno. Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales presentan ventajas en el sentido de que pueden sintetizarse sin contaminación por otros anticuerpos. El modificador “monoclonal” indica el carácter del anticuerpo, es decir, como el obtenido de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos y no debe interpretarse como que se requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier procedimiento en particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales a ser utilizados de acuerdo con la presente invención se pueden obtener mediante el procedimiento del hibridoma descrito por primera vez por Kohler et al (1975) *Nature* 256:495, o se pueden obtener por métodos de ADN recombinantes (ver, US-816567). Los “anticuerpos monoclonales” también pueden aislarse a partir de bibliotecas de anticuerpos de fagos utilizando, por ejemplo, las técnicas descritas en Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628 y Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597.

Los anticuerpos monoclonales de la presente memoria incluyen específicamente anticuerpos “quiméricos” en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de una especie particular o perteneciente a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que el resto de la cadena(s) es idéntica u homóloga a las secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de otras especies o pertenecientes a otra clase o subclase de anticuerpo, así como fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (US 4816567; y Morrison et al (1984) *Proc. Natl. Acad. Science. EE.UU.*, 81:6851-6855). Los anticuerpos quiméricos de interés en la presente memoria incluyen anticuerpos “primatizados” que comprenden secuencias de unión a antígeno de dominio variable derivadas de un primate no humano (por ej., monos del Viejo Mundo, simios, etc.) y las secuencias de la región constante humana.

Un “agente quimioterapéutico” es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes tales como tiotepa y CYTOXAN® ciclofosfamida; sulfonatos de alquilo tales como busulfán, improsulfán y piposulfán; aziridinas tales como benzodopa, carbocuaona, meturedopa y uredopa; etilniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilfosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapacol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escoplectina y 9-aminocamptotecina); briostatina; calistatina; CC-1065 (incluyendo sus análogos sintéticos adozelesina, carzelesina y bizelesina); podofilotoxina; ácido podofilínico; tenipósido; criptoficinas (particularmente criptoficina 1 y criptoficina 8); dolastatina; duocarmicina (incluyendo los análogos sintéticos, KW-2189 y CB1-TM1); eleuterobina; pancratistatina; una sarcodictina; espongiatrina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clornafazina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de

mecloretamina, melfalán, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosoureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma II y caliqueamicina omega II (véase, por ejemplo, Angew. Chem Intl. Ed. Engl. 33: 183-186 (1994)); dinemicina, incluyendo dinemicina A; una esperamicina, así como un cromóforo neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de cromoproteína enediina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, ADRIAMYCIN® doxorubicina (incluyendo morfolino doxorubicina, cianomorfolino doxorubicina, 2-pirrolinodoxorrubicina y desoxidoxorrubicina), epirubicina, esorrubicina, idarubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; anti-metabolitos tales como metotrexato y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos del ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de la purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, didesoxiuridina, doxiluridina, encicitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; anti-adrenales tales como aminoglucetimidina, mitotano, trilostano; relleno de ácido fólico tales como ácido frolínico; aceglatona; glucósido aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecolcina; diaziquona; elfornitina; acetato de eliptinio; una eptilona; etoglúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinán; ionidainina; maitansinoides tales como maitansina y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidrazida; procarbazona; PSK® complejo polisacárido (JHS Natural Products, Eugene, OR); razoxano; rizoxina; sizofirán; espirogermanio; ácido tenuazónico; triaziquona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente la toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazona; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, por ej., TAXOL® paclitaxel (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ), ABRAXANE™, Formulación de nanopartículas diseñadas con albúmina de paclitaxel (sin cromóforos) (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) y TAXOTERE® doxetaxel (Rhône-Poulenc Rorer, Antony, Francia); cloranbucilo; gemcitabina (GEMZAR®); 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); oxaliplatino; leucovovin; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilornitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; capecitabina (Xeloda®); sales, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores farmacéuticamente aceptables; así como combinaciones de dos o más de los anteriores, tales como CHOP, una abreviatura de una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona y FOLFOX, una abreviatura de un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovovina.

También se incluyen en esta definición los agentes anti-hormonales que actúan para regular, reducir, bloquear o inhibir los efectos de hormonas que pueden promover el crecimiento del cáncer y que a menudo están en la forma de tratamiento sistémico o de todo el cuerpo. Pueden ser las propias hormonas. Los ejemplos incluyen anti-estrógenos y los moduladores selectivos del receptor de estrógeno (SERM), incluyendo, por ejemplo, tamoxifeno (incluyendo NOLVADEX® tamoxifeno), EVISTA® raloxifeno, droloxifeno, 4-hidroxitamoxifeno, trioxifeno, keoxifeno, LY117018, onapristona y FARESTON® toremifeno; antiprogesteronas; reguladores a la baja del receptor de estrógenos (ERD); agentes que actúan inhibiendo o reduciendo la función ovárica, por ejemplo, la hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH), tales como LUPRON® y ELIGARD® acetato de leuprolida, acetato de goserelina, acetato de buserelina y triptorelina; otros anti-andrógenos tales como flutamida, nilutamida y bicalutamida e inhibidores de la aromatasa que inhiben la enzima aromatasa, la cual regula la producción de estrógenos en las glándulas suprarrenales, tales como, por ejemplo, 4(5)-imidazoles, aminoglucetimidina, MEGASE® acetato de megestrol, AROMASIN® exemestano, formestania, fadrozol, RIVISOR® vorozol, FEMARA® letrozol y ARIMIDEX® anastrozol. Además, dicha definición de los agentes quimioterápicos incluye bisfosfonatos como clodronato (por ejemplo, BONEFOS® u OSTAC®), DIDROCAL® etidronato, NE-58095, ZOMETA® ácido zoledrónico/zoledronato, FOSAMAX® alendronato, AREDIA® pamidronato, SKELID® tiludronato o ACTONEL® risedronato; así como troxacitabina (un análogo del nucleósido citosina 1,3-dioxolano); oligonucleótidos antisentido, particularmente aquellos que inhiben la expresión de genes en las vías de señalización implicadas en la proliferación celular aberrante, tales como, por ejemplo, PKC-alfa, Raf, H-Ras y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGF-R); vacunas tales como la THERATOPE® vacuna y vacunas para terapia génica, por ejemplo, ALLOVECTIN® vacuna, LEUVECTIN® vacuna y VAXID® vacuna; LURTOTECÁN® inhibidor de la topoisomerasa 1; ABARELIX® rmRH; ditosilato de lapatinib (un inhibidor doble de tipo molécula pequeña de la tirosina quinasa ErbB-2 y EGFR también conocido como GW572016); anticuerpos que tienen una acción anti-cáncer, particularmente aquellos que se unen a VEGF-1, VEGF-2, VEGF-3, EGF-R, HER-2, CD20 y similares, y sales, ácidos o derivados de cualquiera de los anteriores farmacéuticamente aceptables.

"Het" es un anillo heterocíclico saturado o insaturado de cuatro (4), cinco (5), seis (6) o siete (7) miembros que tiene 1, 2, 3, o 4 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en oxi, tio, sulfonilo, sulfonilo y nitrógeno, cuyo anillo está opcionalmente condensado con un anillo de benceno. Het incluye "heteroarilo", que abarca un radical unido mediante un carbono del anillo de un anillo aromático monocíclico que contiene cinco o seis átomos en el anillo que consisten en carbono y 1, 2, 3, o 4 heteroátomos, cada uno de ellos seleccionado de entre el grupo que consiste en

oxi no peróxido, tio, y N(X) en la que X está ausente o es H, O, alquilo C₁₋₄, fenilo o bencilo, así como un radical de un heterociclo bicíclico condensado en orto de aproximadamente ocho a diez átomos en el anillo derivados del mismo, particularmente un derivado benzo o un derivado por condensación de un dirradical propileno, trimetileno, tetrametileno al mismo.

5 “Tratar”, “tratamiento”, “para tratar” y términos similares se refieren, en realizaciones, a disminuir, eliminar, inhibir, mejorar, alterar, o prevenir una enfermedad o trastorno, por ejemplo, mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la presente divulgación, o mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de la divulgación en combinación con una cantidad eficaz de un agente quimioterapéutico adicional, un anticuerpo anti-angiogénico y se puede referir a terapia curativa, terapia profiláctica, y terapia preventiva.

10 “Modular”, “modulación”, “modulando”, “modulador” y términos similares se refieren a, en realizaciones, la capacidad de una cantidad eficaz de un compuesto de la presente divulgación para, selectivamente y a niveles de dosis relativamente bajas, ajustar o alterar la permeabilidad al ion multivalente (tales como los iones de calcio) de las células cancerosas, tales como las células que expresan Trp-p8, y en contraste con la insensibilidad relativa de otras células, por ejemplo, las células sanas o no cancerosas y las células que no expresan Trp-p8.

15 “Tratamiento del cáncer”, “tratar el cáncer” y términos similares, para los propósitos de esta divulgación se refieren, en realizaciones, a un método de tratamiento del cáncer, que incluye poner en contacto las células cancerosas con un compuesto de la divulgación con el fin de conseguir la inhibición del crecimiento de las células cancerosas, la destrucción de las células cancerosas, aumentar el tiempo de supervivencia del paciente, o una combinación de los mismos, o poner en contacto células cancerosas con un compuesto de la divulgación en combinación con un anticuerpo anti-angiogénico con el fin de conseguir la inhibición del crecimiento de las células cancerosas, la destrucción de las células cancerosas, aumentar el tiempo de supervivencia del paciente, un efecto anti-angiogénico o una combinación de los mismos. El tratamiento del cáncer, mediante el método de la divulgación, también incluye poner en contacto las células con un compuesto de la divulgación para activar los receptores Trp-p8 en las células cancerosas, tales como tumores, para inducir niveles de flujo elevados de iones multivalente en las células con el fin de provocar la estasis celular o la muerte celular. El cáncer puede incluir enfermedades en las que células anormales se dividen sin control. Las células cancerosas también pueden invadir los tejidos cercanos y pueden diseminarse a través del torrente sanguíneo y el sistema linfático a otras partes del cuerpo. Las principales categorías de los cánceres son carcinomas, sarcomas, leucemias y linfomas. Dentro de estas categorías principales existen numerosos subgrupos que generalmente describen el órgano en el cual se origina el cáncer, tales como adenocarcinoma del estómago o carcinoma de pulmón microcítico.

20 “Tumor” se refiere a, por ejemplo, una masa de tejido anormal benigna o maligna que puede no ser inflamatoria, que surge a partir de células de tejido pre-existente y que puede no poseer ninguna función fisiológica. Los tumores benignos, incluyen, por ejemplo, quistes, verrugas, lunares y pólipos y, en general, no se diseminan a otras partes del cuerpo. Los tumores malignos están generalmente compuestos de células que crecen rápidamente, tienen otras propiedades anormales que los distinguen de las células normales y con frecuencia invaden otros tejidos normales.

25 “Factor de crecimiento vascular endotelial” o “VEGF”, se refiere a un factor de crecimiento de mamífero tal como se define, por ejemplo, en la patente US-5.332.671. La actividad biológica del VEGF nativo es compartida por cualquier análogo o variante del mismo que promueve el crecimiento selectivo de las células endoteliales vasculares pero no de células endoteliales corneales bovinas, células epiteliales del cristalino, células de la corteza suprarrenal, fibroblastos BHK-21 o queratinocitos.

30 “Trastorno angiogénico” o “defecto angiogénico” se refiere a un trastorno anormal que requiere tratamiento con un agente que inhibe la angiogénesis, por ejemplo, un compuesto o composición angiostática tal como una combinación de un compuesto de la divulgación y un anticuerpo anti-angiogénico. Tales trastornos incluyen, por ejemplo, tipos de cáncer tales como tumores vasculares, por ejemplo, hemangioma (capilar y cavernoso), tumores glómicos, telangiectasia, angiomas bacilar, hemangioperitelioma, angiosarcoma, hemangiopericitoma, sarcoma de Kaposi, linfangioma y linfangiosarcoma y angiogénesis tumoral.

35 Administración “en combinación con” uno o más agentes terapéuticos adicionales incluye la administración simultánea (concurrente) y consecutiva en cualquier orden.

40 Los compuestos de fórmula II son adecuados para su uso en mamíferos. Como se usa en la presente memoria, “mamíferos”, significa toda clase de vertebrados superiores que alimentan a sus crías con leche secretada por las glándulas mamarias, que incluyen, por ejemplo, seres humanos, caballos, vacas, cerdos, ovejas, perros, conejos y monos.

45 “Muerte celular apoptótica”, “muerte celular programada”, “apoptosis” y términos similares se refieren a cualquier muerte celular que puede ser el resultado de la compleja cascada de acontecimientos celulares que ocurren en etapas específicas de la diferenciación celular y en respuesta a estímulos específicos. La muerte celular apoptótica se puede caracterizar por la condensación del citoplasma y el núcleo de las células que mueren. La apoptosis es un proceso activo que requiere nueva síntesis de proteínas. Generalmente, el proceso requiere ATP, implica nueva

síntesis de ARN y proteínas y culmina en la activación de endonucleasas endógenas que degradan el ADN de la célula, destruyendo así el molde genético requerido para la homeostasis celular. La apoptosis se observa en la eliminación controlada de células durante la metamorfosis, la diferenciación y la renovación de las células en general y normalmente parece estar regulada por los acontecimientos asociados a receptores. Por estas razones, la apoptosis se ha llamado “muerte celular programada” o “suicidio celular”. Aunque probablemente cada célula tiene un programa genético para suicidarse, este está por lo general inhibido. En circunstancias normales, sólo las células que ya no son requeridas por el organismo activan este programa de auto-destrucción.

“Cantidad terapéuticamente eficaz” significa, en realizaciones, una dosis de un compuesto de la divulgación, o una dosis de una combinación de un compuesto de la divulgación y otro agente quimioterapéutico, con o sin un excipiente, que inhibe, reduce o elimina el crecimiento del tumor, *in vivo*, *in vitro*, o ambos, por ejemplo, activando Trp-p8, estimulando la apoptosis o ambos. La dosis exacta dependerá de la finalidad del tratamiento y será determinable por un experto en la técnica usando técnicas conocidas.

En una realización de la presente divulgación, los compuestos de la divulgación se utilizan en terapia de combinación, por ejemplo, con otros agentes terapéuticos de tipo anticuerpo. En una realización, los compuestos de la presente divulgación se utilizan en combinación con anticuerpos para el tratamiento del cáncer. Véase, en general, por ejemplo: PCT/US02/19592; PCT/US01/20118; PCT/US01/25464; PCT/US01/26626; PCT/US02/28859; PCT/US02/41798; PCT/US02/12206; PCT/US03/11148; PCT/US02/12619 y PCT/US02/33050. En otra realización, los compuestos de la divulgación se utilizan en combinación con un anticuerpo anti-VEGF y como anticuerpos que incluyen formas quiméricas humanas, no humanas, murinas, híbridas y quiméricas. Véase, por ejemplo, la patente US-6.582.959 y la solicitud de Patente US-2002/0122797 A1.

En realizaciones de la presente divulgación, los compuestos de la divulgación pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos, tales como los anticuerpos mencionados anteriormente, para tratar enfermedades o trastornos inmunológicos, que afectan, por ejemplo, a células de la respuesta inmunitaria tales como células B (linfocitos B), células T (linfocitos T), células accesorias (macrófagos y otras células presentadoras de antígeno), células asesinas (NK y células K), mastocitos y células similares.

En una realización preferida, los compuestos útiles en la presente divulgación incluyen un compuesto no marcado radiactivamente para el tratamiento de células o enfermedades del sistema nervioso no central. En realizaciones, los compuestos de la presente divulgación no contienen marcaje radiactivo y no son radioactivos. Los compuestos no marcados de la presente divulgación se pueden utilizar para destruir las células cancerosas como se ilustra en la presente memoria, por ejemplo, células que expresan Trp-p8, tales como células cancerosas de próstata y células cancerosas de hígado.

Un “sujeto” para los fines de la presente divulgación incluye a los seres humanos y a otros animales, particularmente mamíferos. Por lo tanto, los métodos son aplicables tanto a la terapia humana como a aplicaciones veterinarias. En una realización preferida, el sujeto es un mamífero y en la realización más preferida el sujeto es humano.

“Resultado terapéutico mejorado” o “disminución en el número de células tumorales” o “disminución del tamaño del tumor” significa una disminución del 50 %, preferiblemente una disminución del 80 %, más preferiblemente una disminución de 90 % y aún más preferiblemente un 100 % de disminución en el tamaño o volumen del tumor, una disminución en el número de células cancerosas circulantes detectables en la sangre, tejido afectado u órgano tal como se determina mediante el examen de un paciente, muestras tomadas de un paciente antes y después del tratamiento, o ambos.

“Compuesto”, “molécula”, “polipéptido” y términos similares incluyen compuestos preparados sintéticamente, compuestos obtenidos por ingeniería genética (por ejemplo, proteínas expresadas de ADN recombinante), compuestos de origen natural y los producidos *in vivo* después de la administración de un compuesto diferente. Los efectos *in vivo* de los compuestos administrados descritos en la presente memoria pueden no ser ejercidos por aquellos compuestos como tal, sino por uno o más productos de degradación, tales como un metabolito, conjugado, clatrato, complejo iónico, quelato, hidrato, solvato, o como transformaciones o combinaciones biológicas del compuesto(s) o molécula(s) administrados. “Sales farmacéuticamente aceptables” también pueden incluir, además de las ilustradas en la presente memoria, una subclase de sales presentes o formadas *in vivo*.

La presente divulgación proporciona compuestos que se unen a ciertos receptores de la familia de canales iónicos TRP (receptor de potencial transitorio). Más particularmente, la presente divulgación proporciona compuestos que se unen específicamente al subgrupo de canales de TRP grande (o de TRPM) y más particularmente a compuestos que se unen específicamente al canal TRP llamado “Trp-p8” (o TRP-M8). Los receptores Trp-p8 están generalmente presentes en niveles elevados en cánceres, como el cáncer de próstata. Los compuestos de la divulgación están dotados de actividad de activación del receptor Trp-p8. La activación del receptor Trp-p8 produce un aumento del flujo de iones de calcio en las células cancerosas y en última instancia la muerte celular. Los compuestos de la presente divulgación son útiles para, pero sin limitarse, al tratamiento de enfermedades o trastornos de la proliferación celular y la estimulación de la apoptosis. También es bien conocido en la técnica y como se ilustra en la presente memoria cómo determinar la actividad del receptor Trp-p8, por ejemplo, usando los ensayos

convencionales descritos en la presente memoria o usando otros ensayos similares.

Los expertos en la técnica apreciarán que los compuestos de la divulgación que tienen un centro quiral pueden existir y aislarse en formas ópticamente activas y racémicas. Algunos compuestos pueden presentar polimorfismo. Hay que entender que la presente divulgación abarca cualquier forma racémica, ópticamente activa, polimórfica, tautómera o estereoisómera o mezcla de las mismas de un compuesto de la divulgación, que posee las propiedades útiles descritas en la presente memoria y será bien conocido en la técnica cómo preparar formas ópticamente activas (por ejemplo, por resolución de la forma racémica por técnicas de recristalización, por síntesis de materiales de partida ópticamente activos, por síntesis quiral o por separación cromatográfica usando una fase estacionaria quiral). En particular, se entiende que los compuestos de la divulgación pueden contener centros quirales. También se entiende que los compuestos de la divulgación pueden existir en la forma "enol" o en la correspondiente forma tautómera "ceto" y que dichos tautómeros están incluidos como compuestos dentro del alcance de la presente divulgación.

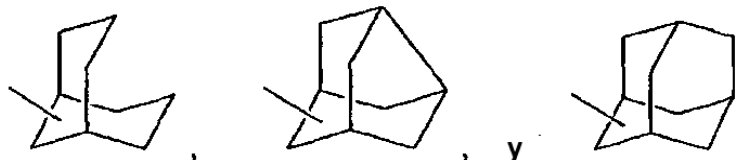
El contenido de átomos de carbono de los diversos restos de hidrocarburo se indica por un prefijo que designa un número inferior y superior de los átomos de carbono en el resto, es decir, el prefijo C_{i-j} indica un resto de número entero "i" a número entero "j" de átomos de carbono, inclusive. Por lo tanto, por ejemplo, alquilo C₁₋₆ o alquilo (C₁₋₆) se refiere a alquilo de uno a seis átomos de carbono, inclusive.

Los compuestos de la presente divulgación se designan generalmente de acuerdo con el sistema de nomenclatura IUPAC. Se pueden usar las abreviaturas que son bien conocidas para un experto en la técnica (por ej., "Fe" por fenilo, "Me" para metilo, "Et" para etilo, "h" para hora o horas y "ta" temperatura ambiente).

Los valores especificados y preferidos citados más abajo para los radicales, sustituyentes e intervalos son sólo con fines ilustrativos; estos no excluyen otros valores definidos u otros valores dentro de intervalos definidos para los radicales y los sustituyentes. Los compuestos de la divulgación incluyen compuestos de fórmula II que tienen cualquier combinación de los valores, valores específicos, más valores específicos y valores preferidos descritos en la presente memoria.

Específicamente, arilo puede ser fenilo, naftilo, antraceniilo, fenantrenilo, fluorofenilo, tetrahidronaftilo o indanilo.

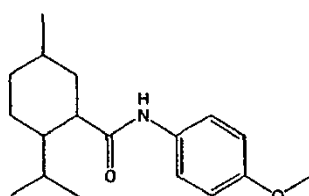
Específicamente, alquilo tal como (C₁₋₆) puede ser metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, iso-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 3-pentilo, hexilo o heptilo; alquilo (C₂₋₆), puede ser etilo, propilo, isopropilo, butilo, iso-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 3-pentilo o hexilo; cicloalquilo (C₃₋₁₂) puede ser ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, sustituyentes bicíclicos o multicíclicos, tales como los de las fórmulas



Alcoxi C₁₋₆ puede ser metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, pentoxi, 3-pentoxi o hexiloxi; -C(=O)alquilo o alcanóilo (C₂₋₇) puede ser acetilo, propanoílo, butanoílo, pentanoílo, 4-metilpentanoílo, hexanoílo o heptanoílo; arilo puede ser fenilo, indenilo o naftilo; Het puede ser pirrolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo o heteroarilo y heteroarilo puede ser furilo, imidazolilo, triazolilo, triazinilo, oxazoílo, isoxazoílo, tiazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, pirrolilo, pirazinilo, tetrazolilo, piridilo (o su N-óxido), tienilo, pirimidinilo (o su N-óxido), indolilo, isoquinolilo (o su N-óxido) o quinolilo (o su N-óxido).

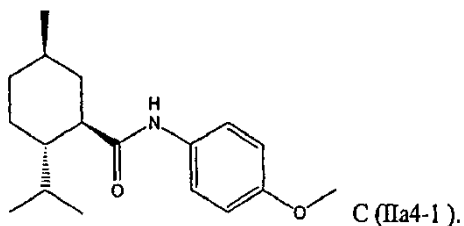
Un valor específico para Het es un anillo saturado o insaturado de cinco (5), seis (6) o siete (7) miembros que contiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos, por ejemplo, oxi no peróxido, tio, sulfinilo, sulfonilo y nitrógeno; así como un radical heterociclo bicíclico condensado en orto de aproximadamente ocho a doce átomos en el anillo derivados del mismo, particularmente un derivado benzo o un derivado por fusión de un propileno, trimetileno, tetrametileno u otro dirradical Het monocíclico al mismo.

Un compuesto específico de fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (B)

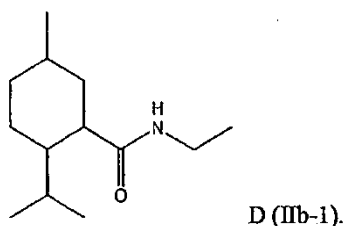


B (IIa3-1).

Otro compuesto específico de fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (C) que muestra estereoquímica preferida:



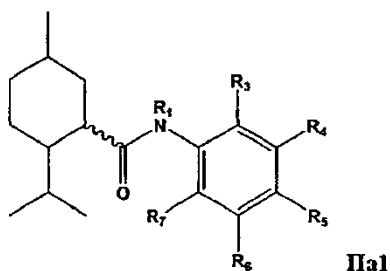
5 Otro compuesto específico de fórmula (II) es un compuesto de la Fórmula (D):



10 Se entiende que los compuestos específicos anteriormente mencionados y el resto de los compuestos de la divulgación, pueden ser o incluir una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Un compuesto específico es 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico (4-metoxi-fenil)-amida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

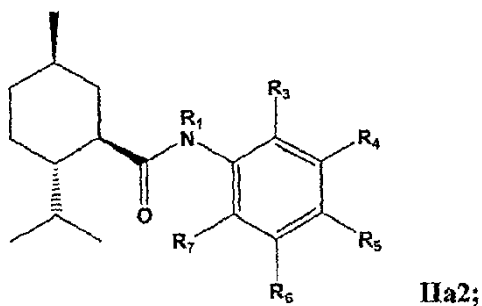
15 Un compuesto específico de fórmula IIa es un compuesto de la fórmula IIa1:

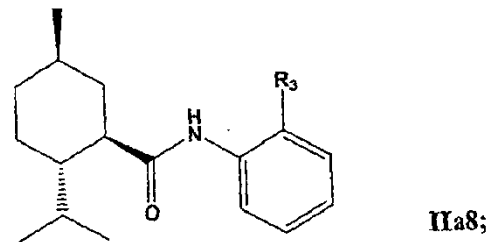
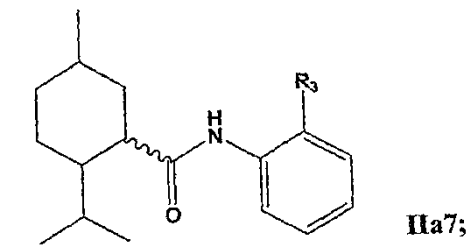
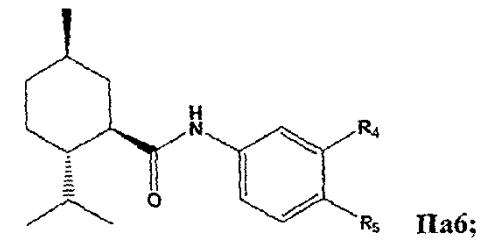
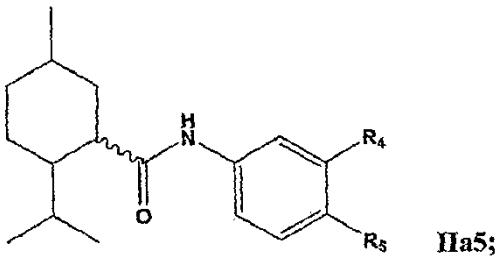
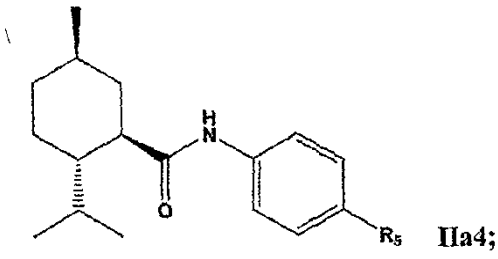
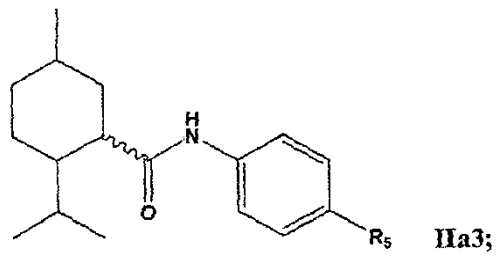


20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en la que R₁, R₃, R₄, R₅, R₆ y R₇ son como se ha definido en la presente memoria.

Otros compuestos específicos de fórmula IIa son compuestos individuales de las fórmulas IIa2-IIa12 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en el que los sustituyentes R son como se ha definido en la presente memoria:

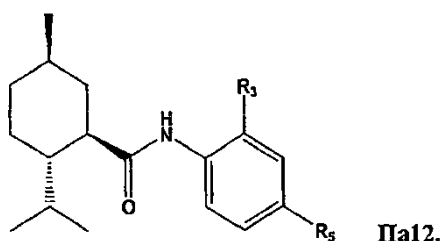
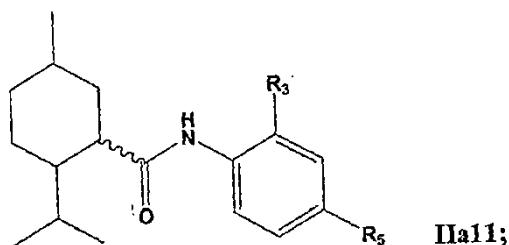
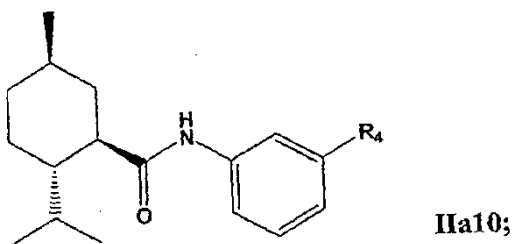
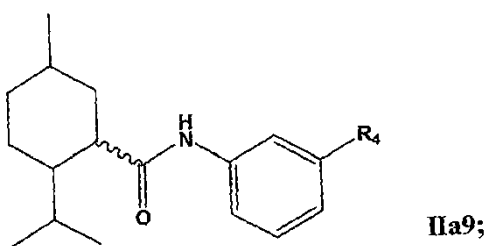
25





5

10



5

y

10

Los compuestos específicos de fórmula IIa incluyen

- (4-morfolin-4-il-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (3-cloro-4-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (4-sec-butil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- indan-5-ilamida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (4-terc-butil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- (4-propil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y
- (4-isopropil-3-metil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico,

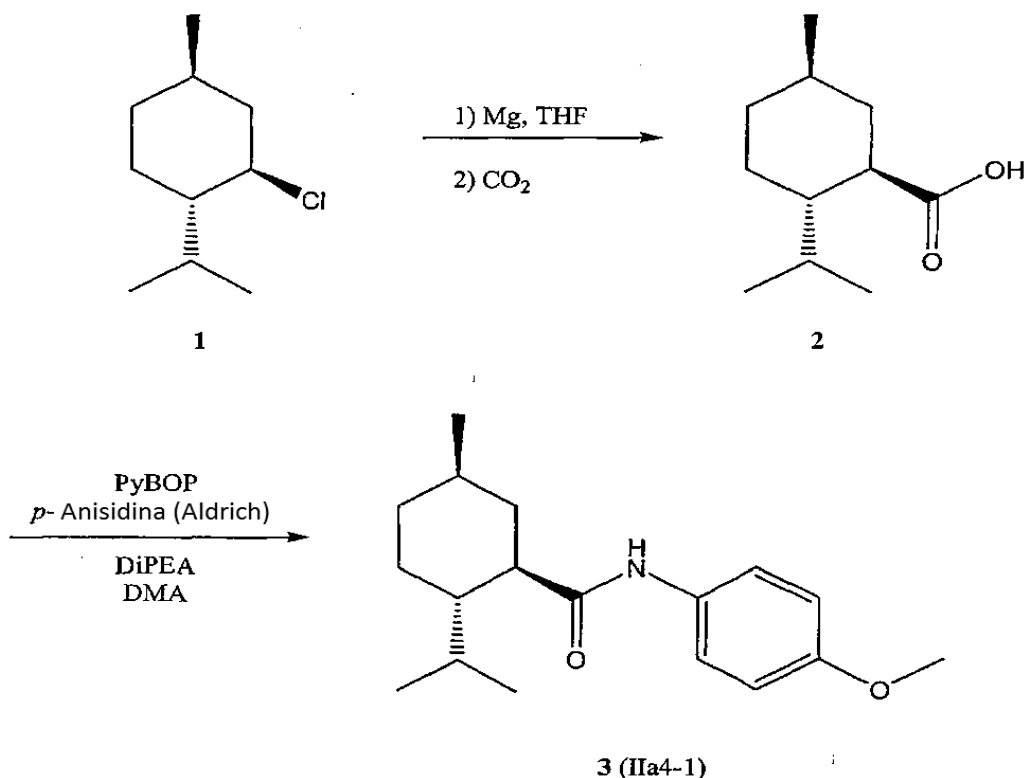
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los procedimientos preparativos, caracterización, propiedades frío-génicas, propiedades olorosas, relaciones estructura-actividad frío-génica, reglas de diseño y formación similar para los compuestos de las fórmulas II y para los compuestos específicos anteriormente mencionados se describen en las correspondientes publicaciones o patentes anteriormente mencionadas.

Los compuestos de la divulgación, tales como los compuestos de fórmulas B, C o D se pueden preparar como se ilustra, por ejemplo, en el esquema siguiente, mediante procedimientos análogos a estos, mediante procedimientos

5 en las publicaciones o patentes anteriormente mencionadas o mediante procedimientos que se conocen o serían evidentes para un experto con conocimientos comunes en la técnica. Todas las variables usadas en los esquemas son como se define a continuación o en cualquier otro lugar de la presente memoria. El Esquema 1 ilustra la preparación de compuestos representativos de la divulgación, tal como el compuesto amida 3 (IIa4-1). El compuesto de cloro 1 se carboxiló mediante un intermedio de Grignard para dar el ácido carboxílico 2 y el ácido 2 se convirtió en la amida 3 y como se describe en el Ejemplo 1 de la presente memoria.

Esquema 1



10 Un procedimiento preparativo alternativo para preparar el compuesto 3 (IIa4-1) y compuestos amida relacionados usa el correspondiente cloruro de ácido del compuesto ácido carboxílico 2 anteriormente mencionado. El cloruro ácido del compuesto ácido carboxílico 2 (fácilmente preparado por reacción con SOCl_2 y reactivos similares) se puede hacer reaccionar con diversos compuestos de amina primaria o secundaria para formar las correspondientes amidas análogas a la amida 3. Otros compuestos relacionados con la amida 3 o fórmula II, se prepararon de forma similar y como se ilustra y se describe en la presente memoria.

20 Para un procedimiento sintético para la preparación del compuesto ácido mentanocarboxílico 2 (un material de partida para IIa4-1), véase D.G. Rowsell, Wilkinson Sword Ltd., Patente del RU (1975) en la lista mencionada más abajo. Para otro procedimiento sintético para la preparación del ácido mentanocarboxílico, véase D. Cunningham, et. al., J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 2002, 2692-2698.

Para detalles preparativos adicionales para preparar compuestos frío-génicos mencionados en J. Soc. Cosmet. Chem., 1978, 29, 185-200, véase la página 199, referencia 1, lista de 17 patentes del RU.

25 Otras condiciones adecuadas para la formación de los compuestos de la divulgación de varios intermedios como se ilustran en la presente memoria son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, véase Feiser and Feiser, "Reagents for Organic Synthesis," Vol. 1, 1967; March, J. "Advanced Organic Chemistry," 4ª ed., John Wiley & Sons, 1992; House, H. O., "Modern Synthetic Reactions", 2ª ed., W. A. Benjamin, New York, 1972 y Larock, R.C., "Comprehensive Organic Transformations," 2ª ed., Wiley-VCH Publishers, New York, 1999.

30 Los materiales de partida empleados en los métodos sintéticos descritos en la presente memoria están comercializados, se han descrito en la literatura científica o se pueden preparar a partir de materiales de partida ya disponibles usando procedimientos conocidos en el campo. Podría ser deseable usar opcionalmente un grupo protector durante todas o partes de los procedimientos descritos anteriormente o sintéticos alternativos. Dichos grupos protectores y métodos para su introducción y eliminación son bien conocidos en la técnica. Véase Greene, T.W.; Wutz, P.G.M. "Protecting Groups In Organic Synthesis" 2ª ed., New York, John Wiley & Sons, Inc., 1991.

En casos en los que los compuestos son suficientemente básicos o ácidos para formar sales de ácido o base no tóxicas estables, podría ser apropiado la administración del compuesto de la divulgación como una sal. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácidos orgánicas formadas con ácidos, las cuales forman un anión fisiológicamente aceptable, por ejemplo, tosilato, metanosulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, α -cetoglutarato y α -glicerofosfato. También se pueden formar sales inorgánicas adecuadas, incluyendo sales clorhidrato, bromhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato.

Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden obtener usando procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto suficientemente básico, tal como una amina con un ácido adecuado dando un anión fisiológicamente aceptable. También se pueden preparar sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio, potasio o litio o sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, calcio, de ácidos carboxílicos.

Los compuestos de la presente divulgación se pueden administrar convenientemente en una composición farmacéutica que contiene el compuesto en combinación con un excipiente adecuado, siendo la composición útil en el tratamiento de tumores. Las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto apropiado para uso anti-tumoral se preparan por métodos y contienen excipientes bien conocidos en la técnica. Un compendio generalmente reconocido de tales métodos e componentes es Remington's Pharmaceutical Sciences por EW Martin (MarK Publ. Co., ed. 15, 1975). Los compuestos y composiciones de la presente divulgación pueden administrarse por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, intraperitoneal o intramuscular, por vía oral, o por vía rectal, dependiendo de, por ejemplo, la disposición o la diseminación de las células tumorales.

En realizaciones, los anticuerpos incluidos dentro del alcance de la divulgación incluyen anticuerpos híbridos y recombinantes (por ejemplo, anticuerpos "humanizados" y "humanos") independientemente de la especie de origen o de la denominación de la clase o subclase de inmunoglobulina, así como fragmentos de anticuerpos (por ejemplo, Fab, F(ab')₂ y Fv). Ver Patente US-4.816.567; Mage y Lamoyi, en Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 79-97, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, (1987).

Por lo tanto, el modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo como obtenido como tal de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos y no debe interpretarse que se requiere la producción del anticuerpo mediante cualquier método particular. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales de la divulgación se pueden producir utilizando el método del hibridoma descrito por primera vez por Kohler y Milstein, Nature, 256:495 (1975) o se pueden producir mediante métodos de ADN recombinante. Ver Patente US-4.816.567. Otros métodos conocidos de producción de anticuerpos se describen, por ejemplo, en Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 59-103, Academic Press (1986); Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984). Brodeur, et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, 51-63, Marcel Dekker, Inc., Nueva York (1987).

Para producir anticuerpos monoclonales (Acm) se han utilizado diversos métodos. La tecnología de hibridoma, que se refiere a una línea celular clonada que produce un único tipo de anticuerpo, utiliza las células de varias especies, incluyendo ratones (murinos), hámsters, ratas y seres humanos. Otro método para preparar Acm utiliza la ingeniería genética incluyendo técnicas de ADN recombinante. Los anticuerpos monoclonales producidos mediante estas técnicas incluyen, entre otros, anticuerpos quiméricos y anticuerpos humanizados. Un anticuerpo quimérico combina las regiones de codificación de ADN de más de un tipo de especie. Por ejemplo, un anticuerpo quimérico puede derivar de la región variable de un ratón y la región constante de un ser humano. Un anticuerpo humanizado procede predominantemente de un ser humano, aunque contiene porciones no humanas. Al igual que un anticuerpo quimérico, un anticuerpo humanizado puede contener una región constante completamente humana. Pero a diferencia de un anticuerpo quimérico, la región variable puede derivar parcialmente de un ser humano. Las porciones no humanas, sintéticas de un anticuerpo humanizado a menudo provienen de las CDR de anticuerpos murinos. En cualquier caso, estas regiones son cruciales para permitir que el anticuerpo reconozca y se una a un antígeno específico.

Como se ha señalado, los anticuerpos murinos juegan un papel importante en estas tecnologías. Si bien son útiles para el diagnóstico y los tratamientos a corto plazo, los anticuerpos murinos no pueden ser administrados a personas a largo plazo sin aumentar el riesgo de una respuesta inmunogénica perjudicial. Esta respuesta, llamada anticuerpo humano anti-ratón (HAMA), se produce cuando el sistema inmunitario humano reconoce el anticuerpo murino como extraño y lo ataca. Una respuesta HAMA puede causar un choque tóxico o incluso la muerte.

Los anticuerpos quiméricos y humanizados reducen la probabilidad de una respuesta HAMA, reduciendo al mínimo las porciones no humanas de los anticuerpos administrados. Además, los anticuerpos quiméricos y humanizados tienen la ventaja adicional de activar respuestas inmunitarias humanas secundarias, tales como la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo.

Los "Fragmentos de anticuerpos" comprenden una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferiblemente la región de unión al antígeno o región del mismo. Ejemplos de fragmentos de anticuerpos incluyen Fab, Fab', F(ab')₂ y fragmentos Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo de cadena única y anticuerpos multispecíficos formados a partir de fragmento(s) de anticuerpo.

Un anticuerpo "intacto" es aquel que comprende una región variable de unión al antígeno, así como un dominio constante de cadena ligera (CL) y dominios constantes de cadena pesada, CH1, CH2 y CH3. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia nativa (por ejemplo, dominios constantes de secuencia nativa humana) o variantes de secuencias de aminoácidos de los mismos.

El anticuerpo intacto puede tener una o más "funciones efectoras" que se refieren a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (una región Fc de secuencia nativa o una región Fc con una secuencia de aminoácidos variante) de un anticuerpo. Ejemplos de funciones efectoras de anticuerpo incluyen la unión a C1q; citotoxicidad dependiente de complemento; unión al receptor Fc; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC); fagocitosis; regulación a la baja de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B; BCR), etc.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, los anticuerpos intactos pueden asignarse a diferentes "clases". "Existen cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, y varias de estas pueden dividirse a su vez en "subclases" (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA e IgA2. Los dominios constantes de cadena pesada que corresponden a las diferentes clases de anticuerpos se denominan α , δ , ϵ , γ y μ , respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

Cuando se usan *in vivo* para el tratamiento de combinación, los anticuerpos se pueden administrar al paciente en cantidades terapéuticamente eficaces (es decir cantidades que eliminan o reducen la carga tumoral del paciente). La combinación de un compuesto de la divulgación y los anticuerpos se puede administrar al mismo tiempo o secuencialmente. Por lo general se administran por vía parenteral, cuando sea posible, en el lugar de la célula diana, o por vía intravenosa. La dosis y la posología dependerá de, por ejemplo, la naturaleza del cáncer (primario o metastásico), su población, el sitio al que se dirigen los anticuerpos, las características de la inmunotoxina en particular (cuando se usa), por ejemplo, su índice terapéutico, el paciente y los antecedentes del paciente. La cantidad de anticuerpo administrado normalmente estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg de peso del paciente. La cantidad de un compuesto de la divulgación administrado en combinación con un anticuerpo puede estar generalmente, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 5 a 1000 mg, o aproximadamente de 0,1 a 300 mg/kg de peso corporal del paciente, y puede depender de muchos de los factores y consideraciones anteriormente mencionados.

La presente divulgación también contempla el uso de combinaciones de un compuesto de la divulgación con un anticuerpo anti-TRP-P8 en aplicaciones diagnósticas. Para las aplicaciones diagnósticas, los anticuerpos de la divulgación generalmente estarán marcados con un resto detectable. El resto detectable puede ser cualquiera capaz de producir, directa o indirectamente, una señal detectable. Por ejemplo, el resto detectable puede ser un radioisótopo, tal como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , o ^{125}I , un compuesto fluorescente o quimioluminiscente, tal como isotiocianato de fluoresceína, rodamina o luciferina; o una enzima, tal como fosfatasa alcalina, beta-galactosidasa o peroxidasa de rábano picante.

Puede emplearse cualquier método conocido en la técnica para conjugar separadamente el anticuerpo a la fracción detectable, incluyendo aquellos métodos descritos por Hunter, et al., *Nature*, 144:945 (1962); David, et al., *Biochemistry*, 13:1014 (1974); Pain et al., *J. Immunol. Meth*, 40:219 (1981); y Nygren, *J. Histochem. and Cytochem*, 30:407 (1982).

Para aplicaciones terapéuticas, los anticuerpos se pueden administrar a un mamífero, preferiblemente un ser humano, en una forma de administración farmacéuticamente aceptable, incluyendo las que se pueden administrar a un ser humano por vía intravenosa como un bolo o mediante infusión continua durante un período de tiempo, por vía intramuscular, subcutánea, intra-articular o por inhalación. Un anticuerpo también se administra adecuadamente por vía intratumoral, peritumoral, intralesional o perilesional, para ejercer efectos terapéuticos locales, así como sistémicos.

Tales formas farmacéuticas abarcan portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables conocidos que son inherentemente no tóxicos y no terapéuticos. Por lo general, un anticuerpo se formulará en tales vehículos a una concentración de aproximadamente 0,1 mg/ml a 100 mg/ml.

Para la prevención o tratamiento de la enfermedad, la dosis apropiada de una combinación de un compuesto de la divulgación dependerá del tipo de enfermedad a tratar, como se ha definido anteriormente, la gravedad y la evolución de la enfermedad, independientemente de si el compuesto se administra para el tratamiento preventivo o con fines terapéuticos, el tratamiento anterior, la historia clínica del paciente y la respuesta al compuesto y a discreción del médico responsable del paciente. El compuesto se administra convenientemente al paciente de una vez o durante una serie de tratamientos.

Dependiendo del tipo y gravedad de la enfermedad, aproximadamente 0,015 a 15 mg/kg del compuesto es una dosis candidata inicial para la administración al paciente, sea, por ejemplo, mediante una o más administraciones separadas o mediante infusión continua. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo

del trastorno, el tratamiento se repite hasta que se produce una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, pueden ser útiles otros regímenes de administración.

5 Para la administración terapéutica oral, el compuesto activo de la divulgación se puede combinar con uno o más excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Tales composiciones y preparaciones contienen generalmente al menos 0,1 % de compuesto activo. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede, por supuesto, variarse y puede estar convenientemente entre 2 a 60 % del peso de una forma farmacéutica unitaria dada. La cantidad de compuesto activo en tales composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá un nivel de dosificación eficaz.

10 Los comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener lo siguiente: aglutinantes tales como goma tragacanto, goma de acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente disgregante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio y se puede añadir un agente edulcorante tal como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo o un agente aromatizante tal como menta, aceite de gaulteria o aroma de cereza. Cuando la forma farmacéutica unitaria es una cápsula, esta puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un vehículo líquido, tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Pueden estar presentes otros materiales como recubrimientos o para modificar de otro modo la forma física de la forma farmacéutica unitaria sólida. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas pueden recubrirse con gelatina, cera, goma laca o azúcar y similares. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa o fructosa como agente edulcorante, metil y propil parabenos como conservantes, un colorante y un aromatizante tal como aroma de cereza o de naranja. Por supuesto, cualquier material utilizado en la preparación de cualquier forma farmacéutica unitaria debe ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, el compuesto activo puede incorporarse en preparaciones y dispositivos de liberación sostenida.

15 Los compuestos o composiciones de la divulgación también se pueden administrar por vía intravenosa o intraperitoneal por infusión o inyección. Las soluciones del compuesto activo o sus sales pueden prepararse en agua, opcionalmente mezclada con un tensioactivo no tóxico. Las dispersiones también pueden prepararse en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para prevenir el crecimiento de microorganismos.

20 Formas farmacéuticas adecuadas para inyección o infusión pueden incluir soluciones o dispersiones acuosas estériles o polvos estériles que comprenden el principio activo, las cuales están adaptadas para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables o infusibles estériles, opcionalmente encapsuladas en liposomas o semillas o gránulos implantables. En todos los casos, la forma farmacéutica final debe ser estéril, fluida y estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento. El portador o vehículo líquido puede ser un disolvente o medio de dispersión líquido que comprende, por ejemplo, agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos y similares), aceites vegetales, ésteres de glicerilo no tóxicos y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante la formación de liposomas, mediante el mantenimiento del tamaño de las partículas requerido en el caso de dispersiones o mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de microorganismos puede conseguirse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, tampones o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables se puede conseguir mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

25 Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros componentes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son las técnicas de secado al vacío y secado por congelación, las cuales producen un polvo del principio activo más cualquier componente adicional deseado presente en las soluciones previamente esterilizadas por filtración.

30 Los vehículos sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos tales como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Los vehículos líquidos útiles incluyen agua, alcoholes o glicoles o mezclas de agua-alcohol/glicol, en los que los presentes compuestos se pueden disolver o dispersar a niveles eficaces, opcionalmente con la ayuda de tensioactivos no tóxicos. Se pueden añadir adyuvantes tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales para optimizar las propiedades para un uso dado. Las dosis útiles de los compuestos de la divulgación pueden determinarse mediante la comparación de su actividad *in vitro* y actividad *in vivo* en modelos animales. Los métodos para la extrapolación de las dosis eficaces en ratones, y otros animales, a los seres humanos son conocidos en la técnica; por ejemplo, véase la patente US-4.938.949.

35 El compuesto se administra convenientemente en una forma farmacéutica unitaria; por ejemplo, conteniendo de 5 a 1000 mg, convenientemente de 10 a 750 mg, lo más convenientemente, de 50 a 500 mg de principio activo por

forma farmacéutica unitaria. La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una dosis única o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más sub-dosis por día. La propia subdosis puede dividirse adicionalmente, por ejemplo, en un número de administraciones discretas libremente espaciadas; tales como inhalaciones múltiples de un insuflador.

5 Para la administración interna, las composiciones se pueden administrar por vía oral o parenteral a niveles de dosis, calculados como la base libre, de 0,1 a 300 mg/kg, preferiblemente de 1,0 a 30 mg/kg de peso corporal del mamífero y se pueden usar en el hombre en una forma farmacéutica unitaria, administrada de una a cuatro veces al día en la cantidad de 1 a 1000 mg por dosis unitaria.

10 Para la administración parenteral o para la administración en forma de gotas, como para tratamientos oculares, los compuestos se presentan en solución acuosa en una concentración de 0,1 a 10 %, más preferiblemente de 0,1 a 7 %. La solución puede contener otros componentes, tales como emulsionantes, antioxidantes o tampones.

15 En general, la concentración del compuesto(s) de fórmula (I a XIII) en una composición líquida, tal como una IV (intravenosa), será de 0,1 a 25, preferiblemente de 0,5 a 10, por ciento en peso. La concentración en una composición semisólida o sólida tal como un gel o un polvo será de 0,1 a 5 por ciento en peso, preferiblemente de 0,5 a 2,5 por ciento en peso.

20 El régimen exacto para la administración de los compuestos y composiciones divulgadas en la presente memoria dependerá necesariamente de las necesidades del sujeto individual que está siendo tratado, del tipo de tratamiento y, por supuesto, será a juicio del médico responsable del paciente.

25 La actividad de unión y la selectividad de la unión de los compuestos de la presente divulgación son excelentes predictores de la actividad anti-tumoral de los compuestos de la divulgación. La actividad de unión y la selectividad de la unión se puede determinar utilizando modelos farmacológicos bien conocidos en la técnica, o usando los ensayos descritos a continuación. En la Tabla 1 siguiente se resumen resultados ilustrativos de ensayos biológicos.

30 **Evaluación de la actividad biológica**

Los métodos generales y los materiales divulgados en R. Skyrzma, et al., J. Physiology, 2000, 527.1, 71-83 para evaluar y medir el flujo de iones de calcio o la captación celular y la inducción de la apoptosis se han adaptado para su uso en la presente divulgación y como se ilustra en la presente memoria. Otros métodos de ensayo y procedimientos tales como los descritos a continuación, incluyendo el cultivo de la línea celular, la transfección y la inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* e *in vitro*, son fácilmente evidentes para un experto normal en la técnica tras la comprensión de la divulgación.

35 **Ensayos de actividad**

40 Para el cáncer se pueden usar varios modelos animales bien conocidos para comprender mejor el papel de los genes en el desarrollo y patogénesis de los tumores y para probar la eficacia de los agentes terapéuticos candidatos, incluyendo combinaciones de compuestos de la divulgación y anticuerpos angiogénicos. La naturaleza *in vivo* de tales modelos los hace particularmente predictivos de las respuestas en pacientes humanos. Los modelos animales de tumores y cánceres (por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, etc.) incluyen animales tanto no recombinantes como recombinantes (transgénicos). Los modelos animales no recombinantes incluyen, por ejemplo, roedores, por ejemplo, modelos murinos. Tales modelos se pueden generar introduciendo células tumorales en ratones singénicos usando técnicas convencionales, por ejemplo, inyección subcutánea, inyección en la vena de la cola, implantación en el bazo, implantación intraperitoneal, implantación bajo la cápsula renal o la implantación de ortopina, por ejemplo, células cancerosas de colon implantadas en tejido colónico. Véase, por ejemplo, la publicación de patente PCT WO 97/33551, publicada el 18 de septiembre de 1997.

Probablemente la especie animal utilizada más frecuentemente en estudios oncológicos son los ratones inmunodeficientes y en particular los ratones desnudos. La observación de que el ratón desnudo con hipoaplasia del timo podía actuar con éxito como huésped de xenoinjertos de tumor humano ha llevado a su utilización generalizada para este fin. El gen *nu* recesivo autosómico ha sido introducido en un gran número de cepas congénicas diferentes de ratones desnudos, incluyendo por ejemplo ASW, A/He, AKR, BALB/c, B10.LP, C17, C3H, C57BL, C57, CBA, DBA, DDD, I/st, NC, NFR, NFS NFS/N, NZB, NZC, NZW, P, R III, y SJL. Además, se han criado y utilizado como receptores de xenoinjertos tumorales una amplia diversidad de otros animales con defectos inmunológicos heredados que no son el ratón desnudo. Para detalles adicionales ver, por ejemplo, *The Nude Mouse in Oncology Research*, E. Boven y B. Winograd, editores (CRC Press, Inc., 1991).

Las células introducidas en dichos animales pueden derivarse de líneas celulares conocidas de tumor/cáncer, tales como cualquiera de las líneas celulares tumorales anteriormente indicadas y, por ejemplo, la línea celular B104-1-1 (línea celular NIH-3T3 estable transfectada con el protooncogén *neu*); células NIH-3T3 transfectadas con *ras*; Caco-2 (ATCC nº HTB-37) o una línea celular de adenocarcinoma de colon humano de grado II bien diferenciada, HT-29 (ATCC nº HTB-38) o de tumores y cánceres. Pueden obtenerse muestras de células tumorales o de cáncer de

pacientes sometidos a cirugía, utilizando condiciones convencionales que implican la congelación y el almacenamiento en nitrógeno líquido (Karmali et al., Br. J. Cancer 48:689-696, 1983). Las células tumorales pueden introducirse en animales tales como ratones desnudos mediante diversos procedimientos. El espacio subcutáneo (S.C.) en ratones resulta muy adecuado para la implantación de tumores. Los tumores pueden transplantarse s.c. en forma de bloques sólidos, de biopsias de aguja mediante la utilización de un trócar, o en forma de suspensiones celulares. Para la implantación en bloque sólido o mediante trócar, se introducen en el espacio s.c. fragmentos de tejido tumoral de tamaño adecuado. Las suspensiones celulares se preparan frescas a partir de tumores primarios o de líneas celulares tumorales estables y se inyectan subcutáneamente. Las células tumorales también pueden inyectarse en forma de implantes subdérmicos. En esta localización, el inóculo se deposita entre la parte inferior del tejido conectivo dérmico y el tejido s.c.

Pueden generarse modelos animales de cáncer de mama, por ejemplo, mediante la implantación de células de neuroblastoma de rata (a partir del que se aisló inicialmente el oncogén neu) o células NIH-3T3 transformadas por neu en ratones desnudos, esencialmente tal como describen Drebin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:91299133, 1986).

De manera similar, los modelos animales de cáncer de colon pueden generarse mediante pasaje de células de cáncer de colon en animales, por ejemplo ratones desnudos, conduciendo a la aparición de tumores en estos animales. Se ha descrito un modelo de trasplante ortotópico de cáncer de colon humano en ratones desnudos por ejemplo en Wang et al., Cancer Research 54:4726-4728 (1994), y en Too et al., Cancer Research 55:681-684 (1995). Este modelo se basa en el denominado "METAMOUSE"TM comercializado por AntiCancer Inc. (San Diego, California).

Los tumores que aparecen en animales pueden extraerse y cultivarse in vitro. Las células de los cultivos in vitro seguidamente pueden subcultivarse en animales. Estos tumores pueden servir como dianas para el ensayo posterior o para el cribado de fármacos. Alternativamente, los tumores resultantes del pase pueden aislarse y el ARN de células antes del pase y células aisladas después de una o más rondas del pase se analizan para la expresión diferencial de los genes de interés. Estas técnicas de pase pueden llevarse a cabo con cualquier tumor o con cualquier línea celular de cáncer conocida. Los siguientes ejemplos sirven para describir más completamente la manera de utilizar la divulgación anteriormente descrita, así como para exponer los mejores modos contemplados para llevar a cabo diversos aspectos de la divulgación.

EJEMPLO 1

Preparación del Compuesto Ila4-1 a partir de (-)cloruro de mentilo. Se añadieron 1,39 gramos de Mg metálico (57 mmoles) a un matraz de 100 ml y se añadieron 4 ml de THF seco para cubrir el Mg metálico. Se añadió un cristal de yodo a la mezcla de metal-THF y se agitó durante varios minutos, seguido por la adición de una porción de aproximadamente 1/3 de 10 gramos (57 mmoles) de (-)cloruro de mentilo (Aldrich). La mezcla se calentó para inducir la formación de Grignard y se añadió el cloruro de mentilo restante (porción de 2/3) en 50 ml de THF seco y se agitó hasta que la reacción se completó. La solución de Grignard se canuló a continuación en atmósfera de nitrógeno en un recipiente que contenía el exceso de hielo seco. Esta mezcla de hielo seco inactivada se movió con movimientos circulares y se vertió sobre 300 ml de hielo que contenían 2 ml de HCl concentrado. Se añadió éter dietílico y la mezcla se separó. Las capas orgánicas separadas se combinaron y se lavaron con agua y después se extrajo con una solución acuosa de NaOH. La solución acuosa (y el aceite) se acidificó con HCl hasta que se formó un sólido, se añadió éter dietílico y el ácido se extrajo en la fase orgánica, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar 4,18 gramos (40 %) en forma de agujas blancas.

El ácido (0,57 gramos, 3,1 mmoles) se disolvió en 1,5 ml de dimetilacetamida (DMA). Se añadió PyBOP (2,1 gramos, 4,0 mmoles), p-anisidina (0,58 gramos, 4,7 mmoles, Aldrich) y DiPEA (2,7 ml, 15,5 mmol). Se añadieron otros 0,25 gramos de p-anisidina después de 2 horas y de nuevo después de 5 horas. La reacción se diluyó con acetato de etilo (EtOAc) después de 7 horas, se lavó dos veces con HCl 1 N, dos veces con bicarbonato de sodio acuoso y después con salmuera. Las capas orgánicas separadas se combinaron y se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para dar un sólido de color marrón. Este sólido se pasó a través de un tapón de gel de sílice con 30 % de EtOAc/hexanos para eliminar el color. El producto comenzó a cristalizar tras la concentración, por lo que se dejó cristalizar, el disolvente se eliminó mediante una pipeta y las agujas de color blanco se lavaron con EtOAc frío y se secaron en vacío para dar 0,365 gramos (1,26 mmoles, rendimiento del 40 %) de una primera cosecha. La recristalización de las aguas madre dio otros 0,346 gramos más (1,2 mmol, rendimiento 39 %) en forma de agujas blancas.

La CLEM mostró que el producto tenía un peso molecular de 289, correspondiente al peso molecular deseado y los espectros de RMN mostraron que tenía la estructura deseada.

EJEMPLO 2

Demostración de la actividad de un canal iónico en respuesta a compuestos frío-génicos seleccionados – Evaluación de la captación del ion calcio. Los experimentos de captación de iones de calcio se llevaron a cabo de

la siguiente manera. La absorción de calcio se midió para las células que expresan el antígeno tumoral Trp-p8 y para las células que no expresan antígeno tumoral Trp-p8 después de poner cada línea celular en contacto con compuestos frío-génicos de la presente divulgación. Los resultados mostraron que las células que expresan el antígeno tumoral Trp-p8 habían aumentado progresivamente la captación de calcio a medida que se aumentaba gradualmente la concentración del compuesto frío-génico hasta más de aproximadamente cinco veces la concentración de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 10 microM. El compuesto (IIa4-1) tuvo inesperadamente una captación particularmente alta de calcio en todas las concentraciones de compuestos frío-génicos. Las células que no expresan el antígeno tumoral no tenían esencialmente ninguna absorción de calcio observable en la totalidad de las concentraciones del compuesto frío-génico. Se usó sulfóxido de dimetilo (DMSO), un compuesto no frío-génico como compuesto de control tanto en líneas celulares que expresan como en las que no expresan y las células expuestas a DMSO no mostraban captación de calcio apreciable en ninguna concentración. Las líneas celulares incluían líneas que no expresan: 293, PC3 y PC3/neo y líneas que expresan el antígeno tumoral: 293, PC3 y PC3/neo.

15 EJEMPLO 3

Destrucción de células humanas *in vitro* por compuestos que activan Trp-p8. Haciendo referencia a las figuras, en la FIG. 1 se evaluó la eficacia de los compuestos frío-génicos seleccionados en la destrucción de células humanas. El orden y la potencia de los compuestos frío-génicos se compararon en dos líneas celulares humanas relacionadas, una era de 293 células que expresan Trp-p8 y una segunda constituida por 293 células emparejadas que no tienen (que no expresan) Trp-p8 que se utilizó como control. Había alrededor de 50.000 células por pocillo en la placa. Los compuestos frío-génicos se añadieron a la placa. Las células fueron tratadas por exposición de las células a los compuestos individuales en diferentes concentraciones durante aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 microM durante 72 horas. El eje x muestra incrementos de concentración y el eje y muestra el número (en unidades arbitrarias) de las células viables restantes al final de 72 horas. Las Figs.1A y 1C muestran la respuesta de las células que expresan Trp-p8 y tratadas con los compuestos frío-génicos numerados o nombrados indicados. La Fig. 1B y 1D muestran la respuesta de las células sin (que no expresan) Trp-p8 y también tratadas con los compuestos frío-génicos indicados. Los resultados en las Figs.1A y 1C muestran que las células con Trp-p8 tenían un intervalo de respuestas o potencias de destrucción con respecto a los compuestos frío-génicos. El compuesto IIa4-1 tenía la mejor actividad destructora ($Cl_{50} < 1$ microM) para las células que expresan Trp-p8. Los resultados comparativos de las Figs.1B y 1D muestran que las células sin Trp-p8 tenían una respuesta menor o esencialmente no destructora a los mismos compuestos frío-génicos, particularmente en las concentraciones más bajas de los compuestos frío-génicos, por ejemplo, por debajo de 100 micromolar.

35 EJEMPLO 4

Procedimiento para la inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* por compuestos que activan Trp-p8. Los métodos para preparar las células cancerosas transfectadas, tales como las que expresan Trp-p8, son fácilmente evidentes para un experto normal en la técnica, véase, por ejemplo J. M. Schallhorn, et al, Nucleic Acids Res., 1996, Feb 15;24(4):596-601. Haciendo referencia a la FIG. 2, se ilustra el crecimiento de células del clon PC3 transfectadas para expresar antígeno tumoral, (PC3/Trp-p8.c8 y .c9) y células del clon PC3 que no expresan el antígeno tumoral (PC3-Neo) en ratones desnudos atímicos (5 millones células/ratón). La línea celular de cáncer de próstata humano formadora de tumores que no expresan Trp-p8, PC3-Neo **200** (-●-) muestra tasas de crecimiento de células tumorales exponencial esperadas. Por el contrario, las líneas celulares de cáncer de próstata humano formadoras de tumores que expresan (es decir, "sobrescriben" Trp-p8), PC3/Trp-p8: .c8 (clon 8) **220** (-■-) y .c9 (clon 9) **230** (-▲-) mostraron un crecimiento sustancialmente más lento y tasas de crecimiento estáticas, respectivamente.

Se inoculan ratones atímicos (8 por grupo) en el flanco con aproximadamente 5×10^6 células del clon PC3 que expresan establemente Trp-p8 (cl.8) o una línea celular control vector (PC3-neo). Los tumores se establecen para un tamaño de aproximadamente 200 mg de cada uno en el que los compuestos frío-génicos se administran una vez o dos veces al día IV o P.O. en dosis que varían de aproximadamente 1-30 mg/kg de peso corporal. Los volúmenes tumorales se miden con calibrador cada tercer día y se calculan los volúmenes promedio.

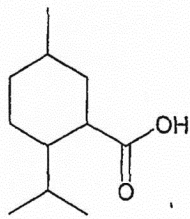
La puesta en contacto, *in vivo*, de las células cancerosas que expresan Trp-p8, tales como las ilustradas anteriormente, con ciertos compuestos frío-génicos de potencia moderada a alta de la presente divulgación y como se ilustra en la presente memoria, se espera que tenga como resultado un alto grado de destrucción de células para las células cancerosas que expresan Trp-p8 y ninguna destrucción celular o un grado bajo de destrucción celular para las células sanas o para las células que no expresan Trp-p8. Esta expectativa coincide con los resultados de destrucción de células humanas *in vitro* presentados anteriormente en el EJEMPLO 3.

La Tabla 1 resume de forma ilustrativa la actividad del canal de iones y la respuesta de destrucción celular a compuestos frío-génicos seleccionados, mencionados anteriormente o ilustrados a continuación y proporciona una clasificación de la actividad comparativa o relativa para estos compuestos.

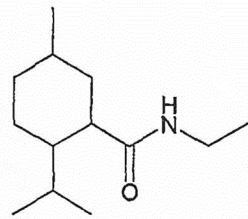
Tabla 1. Actividad del canal iónico y destrucción celular en respuesta a compuestos frío-génicos seleccionados

<u>Puntuación de la actividad</u>	<u>N° ID Compuesto</u>	<u>Pico (FLIPR)¹</u>	<u>Destrucción de células 293/Trp-p8</u>	<u>Destrucción de células PC3/Trp-p8</u>
1	Ila4-1	31.000	Sí	Sí
2	IV-1	31.000	Sí	
3	XIII-1	29.000	Sí	Sí
4	IV-2	29.000		
5	Ilb-2	25.100	Sí	Sí
6	Ilb-3	25.100	Sí	Sí
7	Ilb-4	25.100	Sí	
8	Ilb-1	25.000		
9	XIII-2	25.000		
10	Ilb-5	23.300		
11	IV-3	22.000		
12	Icilina	20.000		
13	V-4	17.500		
14	V-2	17.000		
15	V-1	9.600		
16	III-1	5.000		
17	DMSO control	1.400		

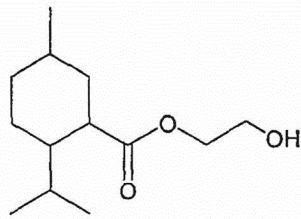
1. Pico (FLIPR) es una medida del flujo de iones de calcio máximo a 10 microM. FLIPR se refiere a lector de placa de imagen fluorométrica, comercializado, por ejemplo, por Molecular Devices Corp.



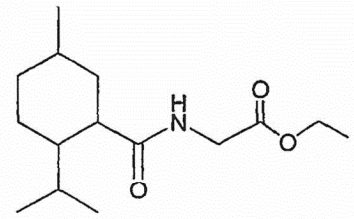
V-1
C₁₁H₂₀O₂
PM: 184,28



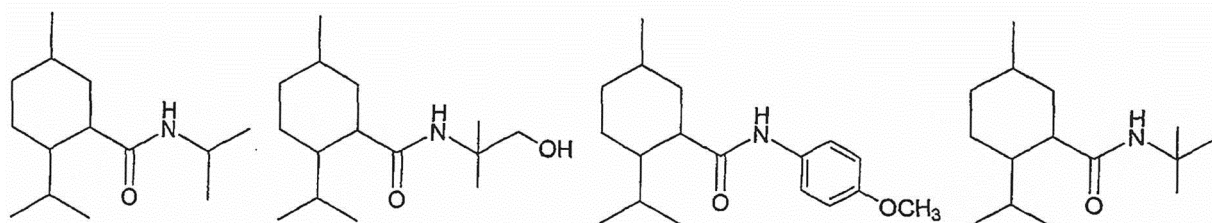
Ilb-1
C₁₃H₂₅NO
PM: 211,34



V-2
C₁₃H₂₄O₃
PM: 228,33



XIII-1
C₁₅H₂₇NO₃
PM: 269,38



IIb-2

$C_{14}H_{27}NO$
PM: 225,37

IIb-3

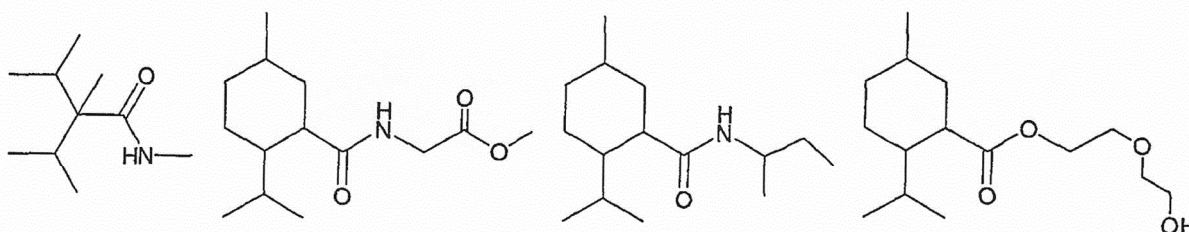
$C_{15}H_{29}NO_2$
PM: 255,40

IIa3-1

$C_{18}H_{27}NO_2$
PM: 289,41

IIb-4

$C_{15}H_{29}NO$
PM: 239,40



III-1

$C_{10}H_{21}NO$
PM: 171,28

XIII-2

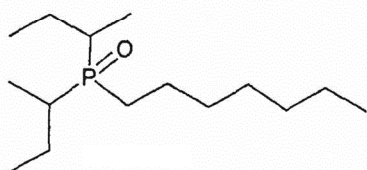
$C_{14}H_{25}NO_3$
PM: 255,35

IIb-5

$C_{15}H_{29}NO$
PM: 239,40

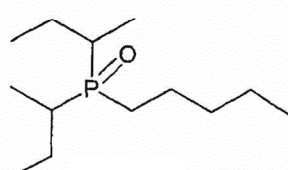
V-4

$C_{15}H_{28}O_4$
PM: 272,38



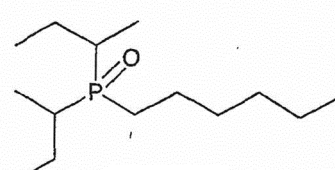
IV-1

$C_{15}H_{33}OP$
PM: 260,40



IV-2

$C_{13}H_{29}OP$
PM: 232,34

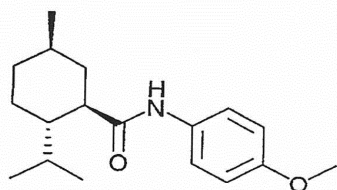


IV-3

$C_{14}H_{31}OP$
PM: 246,37

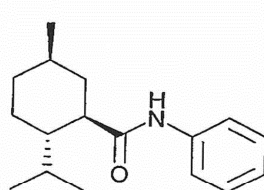
EJEMPLO 5

- 5 **Preparación de otros compuestos seleccionados de Fórmula IIa.** El ejemplo I se repitió en general para cada uno de los siguientes ejemplos de compuestos de preparación con la excepción de que el correactante amina (p-anisidina) del Ejemplo 1 se sustituyó con la correspondiente amina para producir un compuesto que tiene la estructura indicada como el principal producto tras la purificación. El principal producto para cada uno de los siguientes ejemplos se caracterizó, por ejemplo, por unos espectros de masas que tienen un pico original a
- 10 aproximadamente el peso molecular indicado.



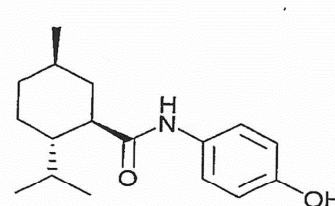
IIa4-1

$C_{18}H_{27}NO_2$
PM: 289,41



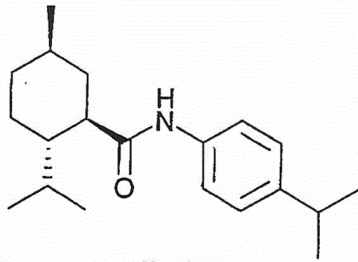
IIa4-2

$C_{17}H_{25}NO$
PM: 259,39



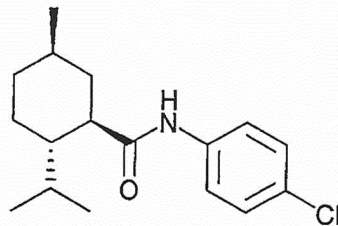
IIa4-3

$C_{17}H_{25}NO_2$
PM: 275,39



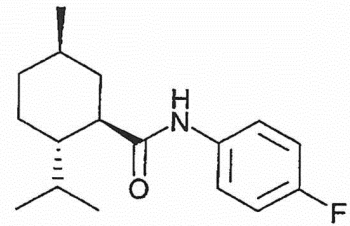
Ila4-4

$C_{20}H_{31}NO$
PM: 301,47



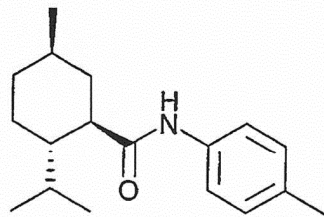
Ila4-5

$C_{17}H_{24}ClNO$
PM: 293,83



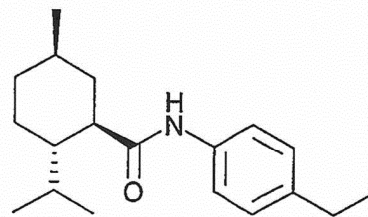
Ila4-6

$C_{17}H_{24}FNO$
PM: 277,38



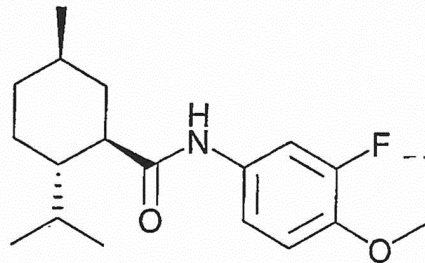
Ila4-7

$C_{18}H_{27}NO$
PM: 273,41



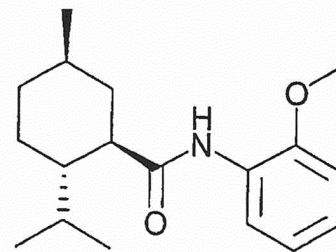
Ila4-8

$C_{19}H_{29}NO$
PM: 287,44



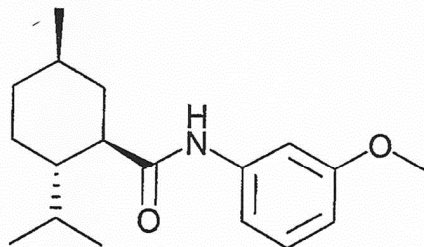
Ila6-1

$C_{18}H_{26}FNO_2$
PM: 307,40



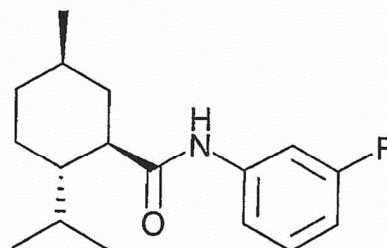
Ila8-1

$C_{18}H_{27}NO_2$
PM: 289,41



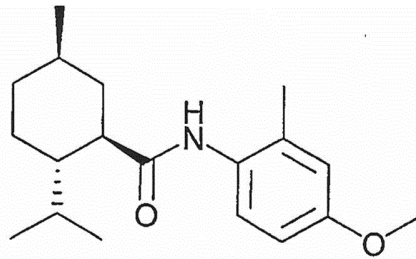
Ila10-1

$C_{18}H_{27}NO_2$
PM: 289,41



Ila10-2

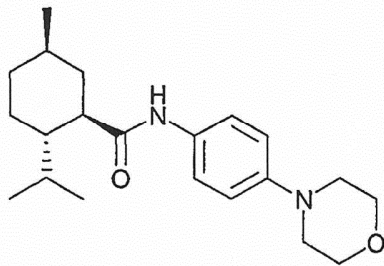
$C_{17}H_{24}FNO$
PM: 277,38



Ila12-1

$C_{19}H_{29}NO_2$

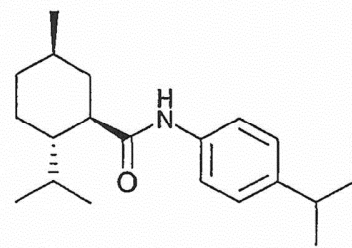
PM: 303,44



Ila4-9

$C_{21}H_{32}N_2O_2$

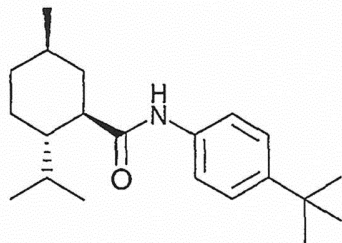
PM: 344,49



Ila4-10

$C_{21}H_{33}NO$

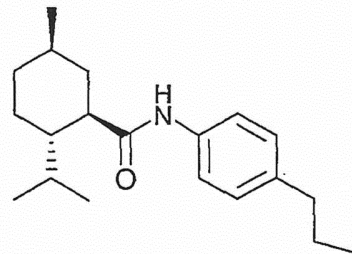
PM: 315,49



Ila4-11

$C_{21}H_{33}NO$

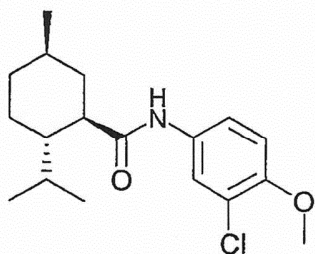
PM: 315,49



Ila4-12

$C_{20}H_{31}NO$

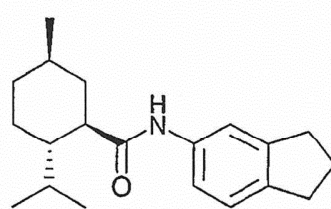
PM: 301,47



Ila6-2

$C_{18}H_{26}ClNO_2$

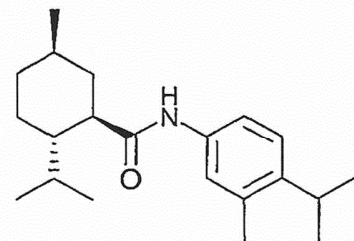
PM: 323,86



Ila6-3

$C_{20}H_{29}NO$

PM: 299,45



Ila6-4

$C_{21}H_{33}NO$

PM: 315,49

La Tabla 2 resume los resultados de CI_{50} para los compuestos mentano carboxamida indicados en 293/Trp-p8.clon 18 y 293/Trp-p8.clon 10.

Tabla 2. Datos CI_{50} para las mentano carboxamidas en el 293/Trp-p8.clon 18 y 293/Trp-p8.clon 10.

Compuesto Ila2 donde $R_1=H$ y $R_2=$ <u>-PhR₃R₄R₅R₆R₇ es</u>	Nº ID del compuesto	293/Trp-p8.c18	293/Trp-p8.c10
4-MeO-Ph-	Ila4-1	0,58/0,45	0,42
Ph-	Ila4-2	3,38	3,21
4-HO-Ph-	Ila4-3	1,05	1,23
3-MeO-Ph-	Ila10-1	3,69	3,80
4-iPr-Ph-	Ila4-4	0,98	0,76
2-MeO-Ph-	Ila8-1	17,57	16,74
4-Cl-Ph-	Ila4-5	17,57	1,99
4-F-Ph-	Ila4-6	3,78	3,58
3-F,4-MeO-Ph-	Ila6-1	0,60	0,79
4-Me-Ph-	Ila4-7	1,14	1,21
4-Et-Ph-	Ila4-8	0,68	0,73
2-Me, 4-MeO-Ph-	Ila12-1	0,93	1,14
3-F-Ph-	Ila10-2	2,91	6,31
4-morfolino-Ph-	Ila4-9	1,45	1,28
3-Cl, 4-Me-Ph-	Ila6-2	2,57	3,10
4-secBu-Ph-	Ila4-10	1,08	3,59
3,4-propileneil-Ph- (esto es, indanilo)	Ila6-3	1,71	1,35
4-tBuPh-	Ila4-11	1,41	1,23
4-nPrPh-	Ila4-12	4,93	5,65
3-Me, 4-iPrPh-	Ila6-4	4,37	5,05
Icilina (referencia)	--	--	79,24

5

EJEMPLO 6

La Tabla 3 resume los resultados duplicados de la CI_{50} para los compuestos mentano carboxamida indicados en 293/Trp-p8.clon 21.

10

Tabla 3. Datos CI_{50} para las mentano carboxamidas en PCR/Trp-p8.clon 21 (por duplicado)

Compuesto Ila4 donde R5- es	Nº ID del Compuesto	CI_{50}
4-MeO-Ph-	Ila4-1	1,642
4-HO-Ph-	Ila4-3	4,2696
4-iPr-Ph-	Ila4-4	3,2082
4-secBu-Ph-	Ila4-10	8,4937
4-nPr-Ph-	Ila4-12	12,857
Compuesto Ila4 donde R5 es	Nº ID del Compuesto	CI_{50}
4-MeO-Ph-	Ila4-1	1,5938
4-HO-Ph-	Ila4-3	3,7606
4-iPr-Ph-	Ila4-4	3,1039
4-secBu-Ph-	Ila4-10	48,613
4-nPr-Ph-	Ila4-12	16,473

EJEMPLO 7

15 Artículos vehículo, tales como semillas o gránulos implantables comercializados o fabricados a medida, se pueden formular e impregnar con uno o más compuestos de la presente divulgación, solos o en combinación, con otro agente quimioterapéutico u otros medicamentos o excipientes. Una formulación preferida puede tener, por ejemplo, características de liberación controladas en el tiempo seleccionables para el compuesto frío-génico u otros

componentes, por ejemplo, para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata. Para un ejemplo de implantes de liberación sostenida no radiactivos en el tratamiento terapéutico del cáncer, como el cáncer de próstata, véase la patente US-5.633.274.

5 EJEMPLO 8

Lo siguiente ilustra formas farmacéuticas representativas ilustrativas que contienen un compuesto de la divulgación ('Compuesto x'), tal como un compuesto de Fórmula I o II, para uso terapéutico o profiláctico en seres humanos.

	(i) Comprimido 1	mg/comprimido
	'Compuesto x'	100,00
	Lactosa	77,5
	Povidona	15,0
	Croscarmelosa sódica	12,0
	Celulosa microcristalina	92,5
	Estearato de magnesio	3,0
		300,0
10	(ii) Comprimido 2	mg/comprimido
	'Compuesto x'	20,0
	Celulosa microcristalina	410,0
	Almidón	50,0
	Almidón glicolato sódico	15,0
	Estearato de magnesio	5,0
		500,0
	(iii) Cápsula	mg/cápsula
	'Compuesto x'	10,0
	Dióxido de silicio coloidal	1,5
	Lactosa	465,5
	Almidón pregelatinizado	120,0
	Estearato de magnesio	3,0
		600,0
	(iv) Inyección 1 (1 mg/ml)	mg/ml
	'Compuesto x' 1,0 Fosfato sódico dibásico	12,0
	Fosfato sódico monobásico	0,7
	Cloruro sódico	4,5
	Solución de hidróxido sódico 1,0 N (ajuste del pH hasta 7,0-7,5)	c.s.
	Agua para inyectables	c.s. para 1 ml
	(v) Inyección 2 (10 mg/ml)	mg/ml
	'Compuesto x' 10,0 Fosfato sódico monobásico	0,3
	Fosfato sódico dibásico	1,1
	Polietilenglicol 400	200,0
	Solución de hidróxido sódico 1,0 N (ajuste del pH hasta 7,0-7,5)	c.s.
	Agua para inyectables	c.s. para 1 ml
	(vi) Aerosol	mg/envase
	'Compuesto x'	20,0
	Ácido oleico	10,0
	Tricloromonofluorometano	5.000,0
	Dicloromonofluorometano	10.000,0
	Diclorotetrafluoroetano	5.000,0

15 Las formulaciones anteriores se pueden obtener mediante procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica.

20 EJEMPLO 9

Coadministración de la terapia de combinación. Lo siguiente ilustra formas farmacéuticas representativas que contienen un compuesto de la divulgación en combinación directa (mezclado) con un anticuerpo (colectivamente 'Composición y') para el uso terapéutico o profiláctico en seres humanos. Por lo tanto, por ejemplo, un compuesto de

la divulgación, tal como un compuesto de fórmula II, se combina con un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-VEGF. La combinación resultante 'Composición y' está sustituida en lugar del 'Compuesto x' en una o más de las formulaciones para inyección anteriormente mencionadas del EJEMPLO 8. Las formulaciones anteriores se pueden obtener mediante procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica.

5

EJEMPLO 10

Administración en serie del tratamiento de combinación. Lo siguiente ilustra formas farmacéuticas representativas que contienen un compuesto de la divulgación ('Compuesto x') en combinación en serie con un anticuerpo ('anticuerpo z'), para el uso terapéutico o profiláctico en seres humanos. Por lo tanto, un compuesto de la divulgación, tal como un compuesto de fórmula II, se administra en serie con un anticuerpo, tal como un anticuerpo anti-VEGF. Por ejemplo, la combinación administrada en serie puede incluir primero la administración de un compuesto de la divulgación ('Compuesto x') en cualquiera de las formulaciones anteriormente mencionadas del EJEMPLO 7 o 8 seguido de una segunda administración mediante inyección de un anticuerpo ('anticuerpo z'). En otra alternativa, el 'anticuerpo z' se administra mediante la administración de un 'Compuesto x'. Las formulaciones anteriores se pueden obtener mediante procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica.

10

15

EJEMPLO 11

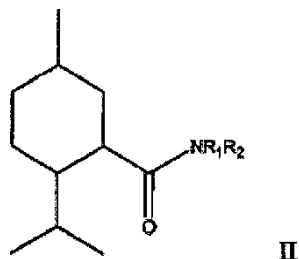
En la patente US-6.582.959 se describen métodos, ejemplos y bibliografía adicional para la preparación de anticuerpos y la caracterización de anticuerpos, incluyendo especificidad de antígenos, cartografía de epítomos, isotipado y afinidad de la unión.

20

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto para la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer o para provocar apoptosis en células cancerosas, en el que el compuesto es un compuesto de fórmula (II).

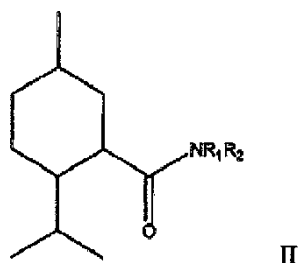
5



en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo o arilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

2. Un compuesto de fórmula II



15 en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo o arilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del cáncer o como un medicamento que provoca apoptosis en células cancerosas.

20 3. El uso de la reivindicación 1 o el compuesto para su uso de la reivindicación 2, en el que el cáncer implica células prostáticas humanas formadoras de tumor que expresan antígeno tumoral.

4. El uso de la reivindicación 1 o el compuesto para su uso de la reivindicación 2, en el que el compuesto se emplea en combinación con un anticuerpo, donde el anticuerpo provoca apoptosis, inhibe la angiogénesis, o ambas cosas.

25 5. El uso o el compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para estimular la captación de calcio mediada por el receptor Trp-p-8 en las células cancerosas.

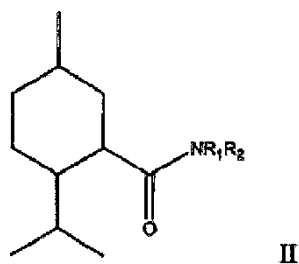
6. El uso o el compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto es para uso en combinación con una cantidad efectiva de al menos un agente quimioterapéutico adicional.

30

7. El uso o el compuesto para su uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto está en combinación con una cantidad efectiva de al menos un agente quimioterapéutico adicional.

35 8. El uso o el compuesto para su uso de la reivindicación 6 o de la reivindicación 7, en el que el agente quimioterapéutico es un anticuerpo anti-VEGF.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula II



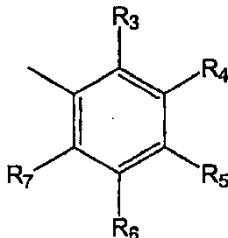
40

en la que

R₁ es H o alquilo (C₁-C₆);

R₂ es un fenilo sustituido de fórmula (-PhR₃R₄R₅R₆R₇)

5

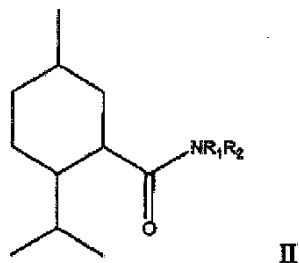


donde

- 10 R₃, R₄, R₆ y R₇ son cada uno independientemente -H, alquilo (C₁-C₆), alcoxilo (C₁-C₆) o halo;
 R₅ es halo, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo (C₃-C₁₂), alcoxilo (C₁-C₆), -C(=O)alquilo (C₁-C₆) o alcanóilo (C₁-C₇);
 o R₅ es -NR₈R₉, donde R₈ y R₉ son cada uno independientemente -H, alquilo (C₁-C₆), o R₈ y R₉ junto con el
 nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino, pirrolidino, piperidino, piperzino, indolino,
 benzimidazolino, azetidino, aziridino, azepino, 1,4-oxazino o tiomorfolino;
 15 o R₄ y R₅ junto con el fenilo al que están unidos, forman un anillo que tiene de 4 a 7 átomos y el anillo tiene de 1
 a 3 insaturaciones;
 y formas estereoisoméricas, mezclas de formas estereoisoméricas;
 a condición de que cuando R₃, R₄, R₆ y R₇ de -PhR₃R₄R₅R₆R₇ sean -H, R₅ sea distinto de -CH₃, -OCH₃, -OH, -F
 o -NO₂; y
 a condición de que R₂ sea distinto de 3-hidroxi-4-metil-fenilo; y además
 20 a condición de que R₂ sea distinto de 2-hidroxi-naftilo o piridilo

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 25 10. Un método *ex vivo* o *in vitro* para desencadenar la apoptosis en células cancerosas, que comprende administrar
 una cantidad efectiva de un compuesto de la fórmula II

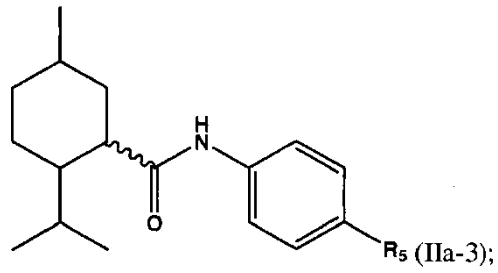


- 30 en la que R₁ y R₂ son cada uno independientemente H, alquilo o arilo,
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para provocar apoptosis en las células.

11. El uso, compuesto para su uso, o composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicación 1 a 9 o
 método de la reivindicación 10, en el que el compuesto de fórmula II se selecciona de:
 35 a) (4-metoxi-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 b) (4-morfolin-4-il-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 c) (3-cloro-4-metoxifenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 d) (4-sec-butil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 e) indan-5-ilamida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 40 f) (4-terc-butil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico;
 g) (4-propil-fenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico y
 h) (4-isopropil-3-metilfenil)-amida del ácido 2-isopropil-5-metil-ciclohexanocarboxílico,

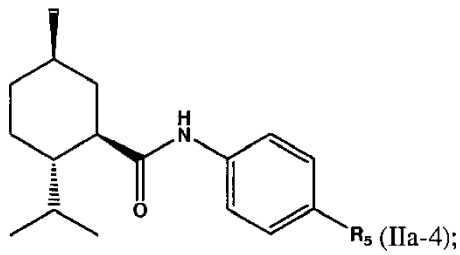
45 o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de a-h.

12. El uso, el compuesto para su uso, o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9,
 o el método de la reivindicación 10, en el que el compuesto de fórmula II se selecciona entre el grupo que consiste
 en



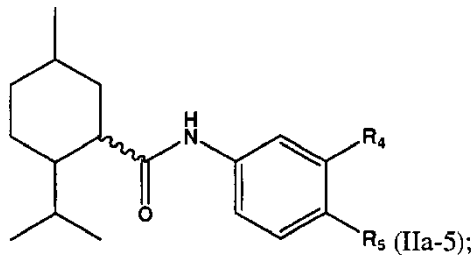
en la que R₅ es halo o R₅ es -NR₈R₉, donde R₈ y R₉ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino;

5

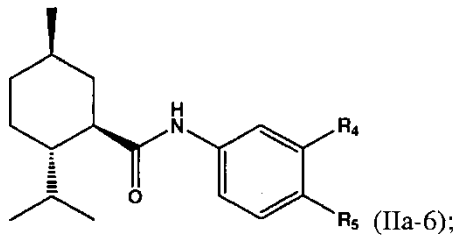


en la que R₅ es halo o R₅ es -NR₈R₉, donde R₈ y R₉ junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo morfolino;

10

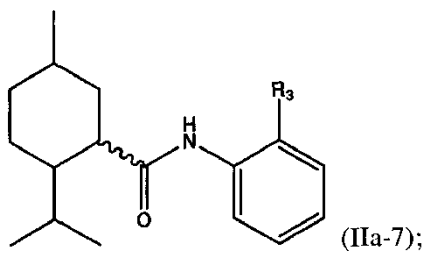


en la que R₄ es halo y R₅ es alcoxilo (C₁-C₆);



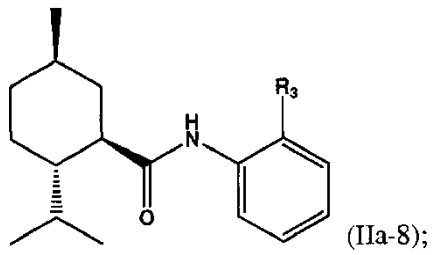
15

en la que R₄ es halo y R₅ es alcoxilo (C₁-C₆);



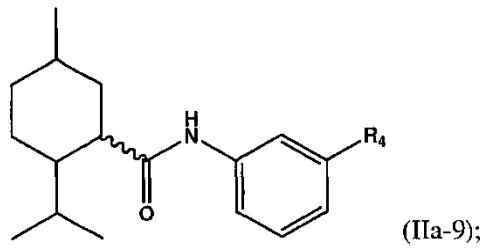
20

en la que R₃ es alcoxilo (C₁-C₆);



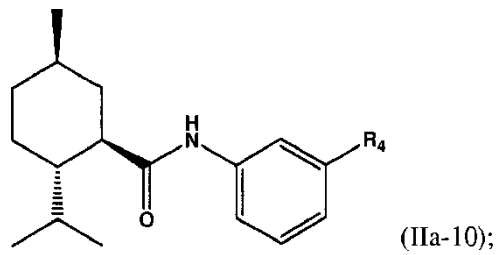
en la que R₃ es alcoxilo (C₁-C₆);

5



en la que R₄ es halo;

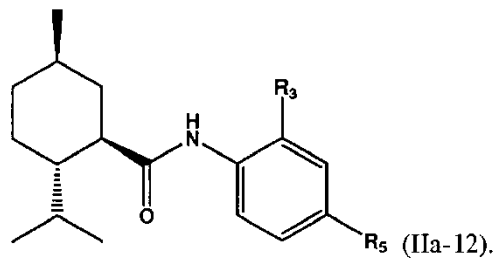
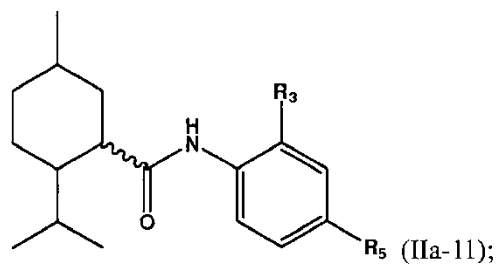
10



en la que R₄ es halo;

15

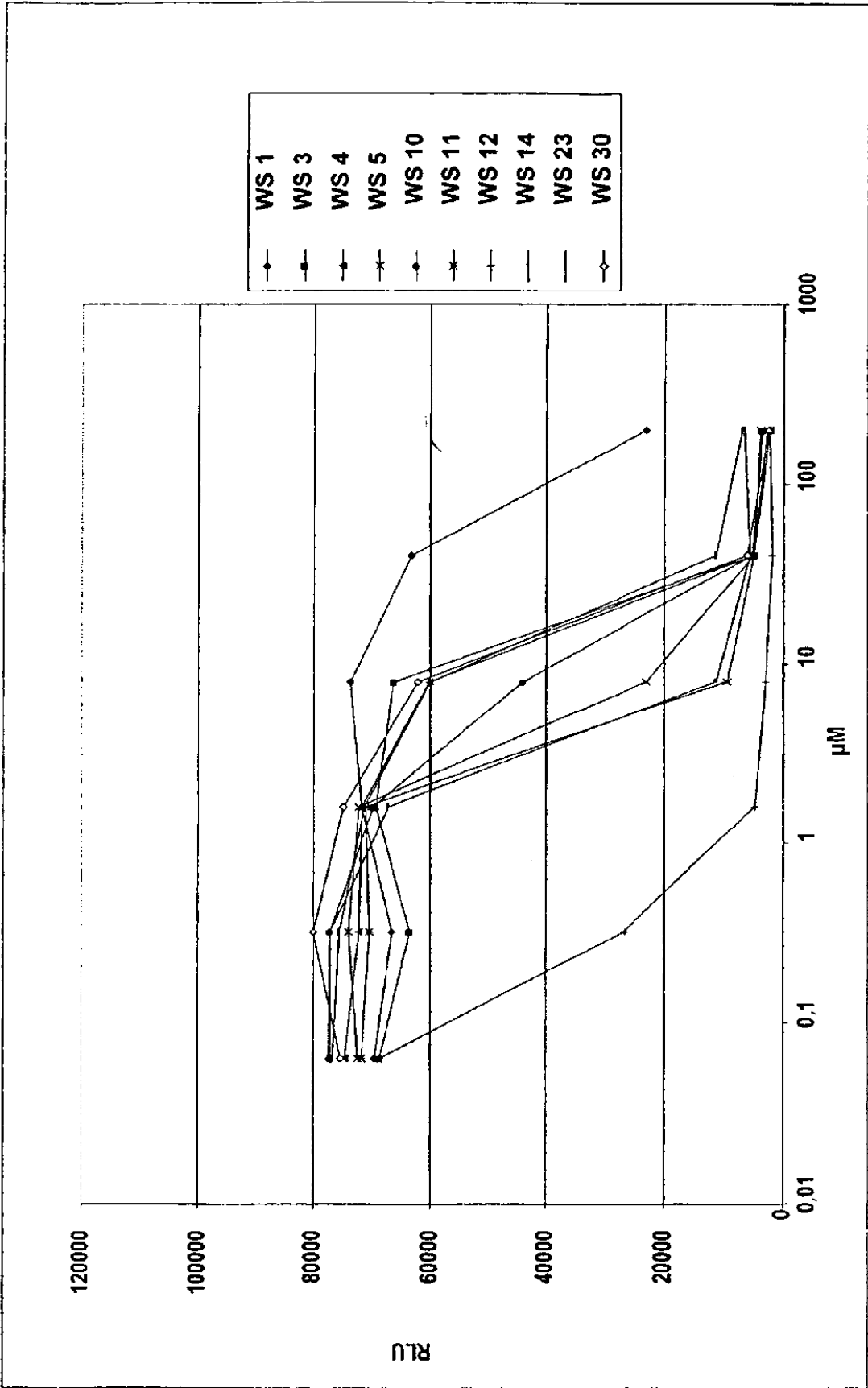
en la que R₃ es alquilo (C₁-C₆) y R₅ es alcoxilo (C₁-C₆) y



en la que R₃ es alquilo (C₁-C₆) y R₅ es alcoxilo (C₁-C₆).

20

Fig. 1A



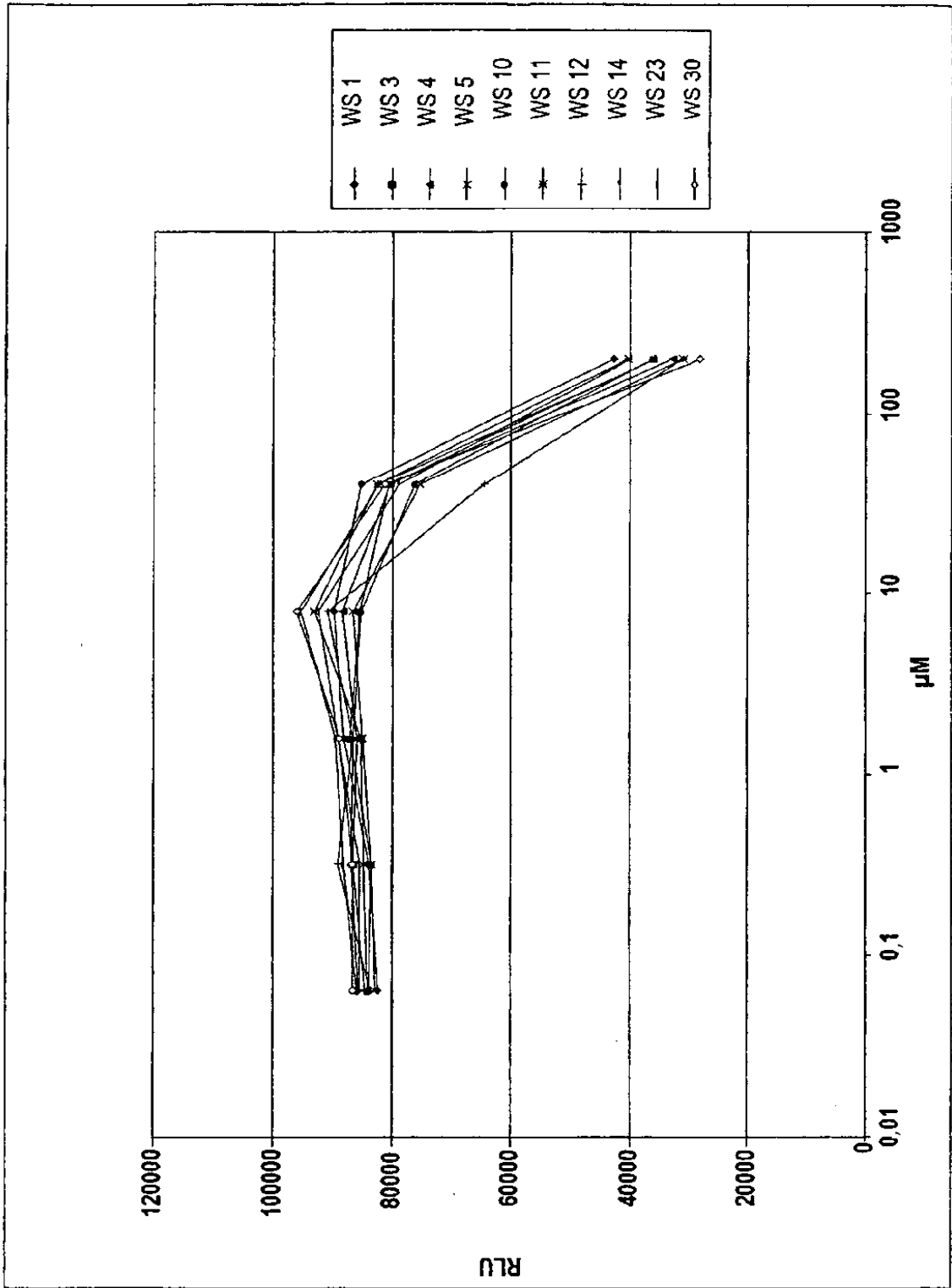


Fig. 1B

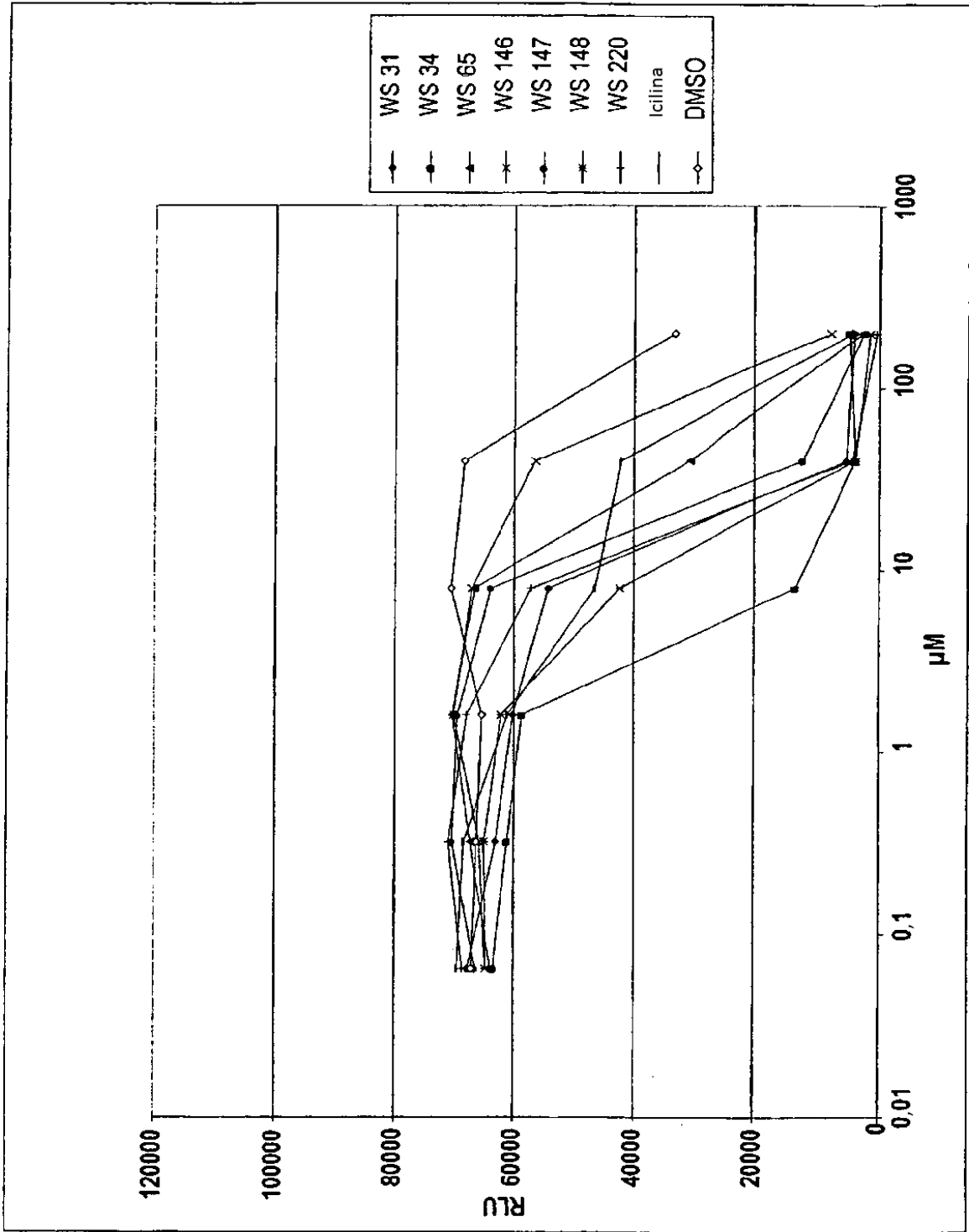


Fig. 1C

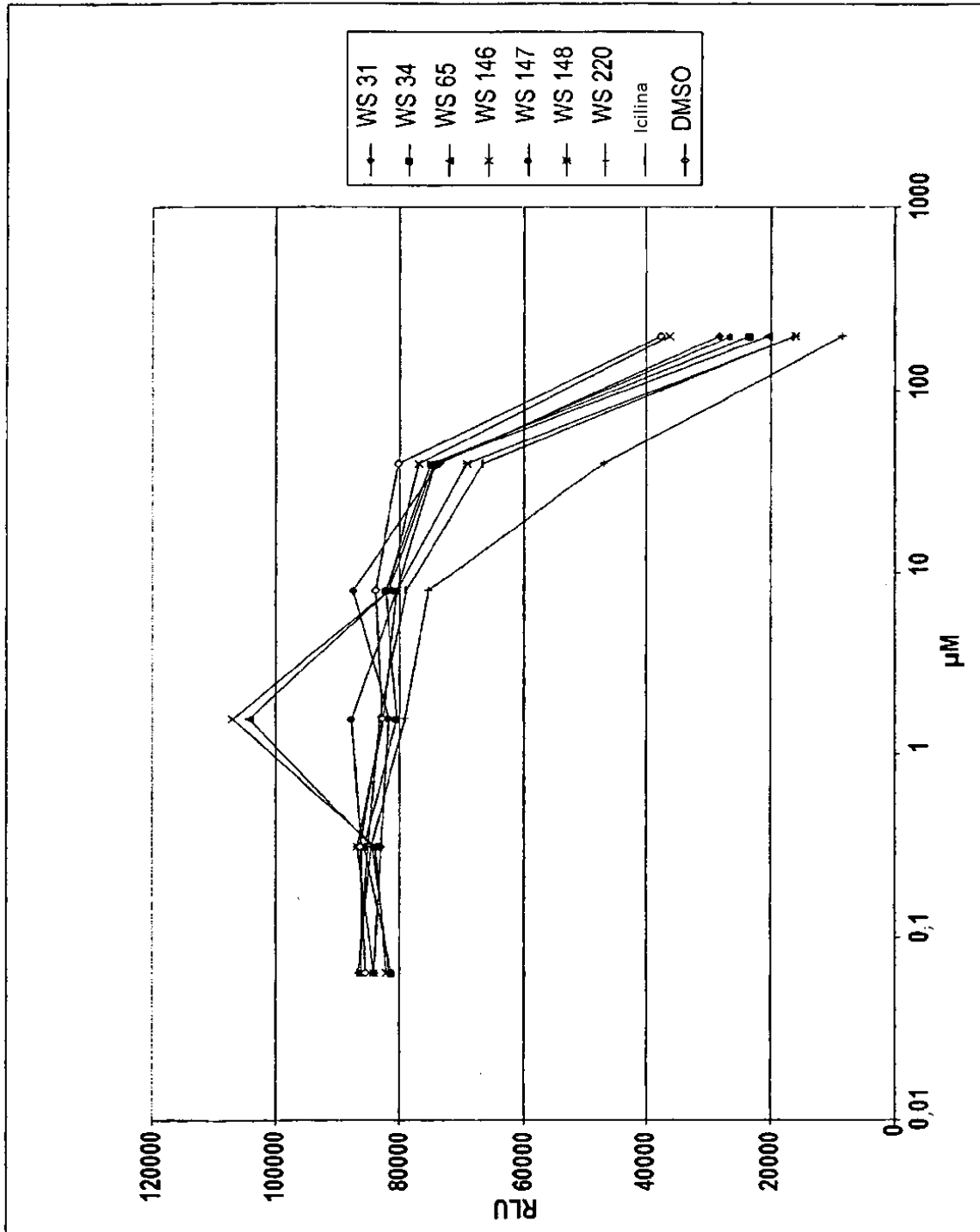


Fig. 1D

Fig. 2

