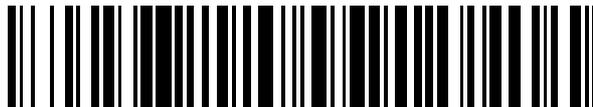


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 488 841**

51 Int. Cl.:

C08G 81/00 (2006.01)

A61K 31/4745 (2006.01)

A61K 47/48 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

C07D 491/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2003 E 03769949 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 1580216**

54 Título: **Derivados de alto peso molecular de camptotecinas**

30 Prioridad:

31.10.2002 JP 2002316942

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

29.08.2014

73 Titular/es:

**NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA (100.0%)
11-2, FUJIMI 1-CHOME, CHIYODA-KU
TOKYO 102-8172, JP**

72 Inventor/es:

**KITAGAWA, MASAYUKI y
OKAMOTO, KAZUYA**

74 Agente/Representante:

POLO FLORES, Carlos

ES 2 488 841 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

Derivados de alto peso molecular de camptotecinas

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a un derivado de alto peso molecular de camptotecinas, y un procedimiento de producción del mismo y un uso del mismo.

10 Tecnología de base

La camptotecina es un alcaloide antitumoral contenido en plantas tales como *Camptotheca acuminata* de origen chino y tiene una solubilidad extremadamente pequeña en agua, por tanto, se han estudiado derivados solubles en agua clínicamente utilizables de la misma. Además, se sabe que la introducción de un sustituyente tal como un grupo hidroxilo, grupo alcoxilo, grupo amino y similares sobre el anillo de benceno refuerza su efecto (bibliografía de no patente 1).

Por ejemplo, la bibliografía de patente 1 y la bibliografía de patente 2 se refieren a un derivado de alto peso molecular de camptotecina que lleva polietilenglicol unido como profármaco. Estas patentes informan de la optimización del peso molecular de la porción de polietilenglicol, y simultáneamente, también de la importancia de un separador que une la porción de polietilenglicol a camptotecina. Se desea que el separador esté establemente presente durante la residencia del derivado anteriormente mencionado en un organismo y se corte rápidamente solo en una región diana. Estas bibliografías determinan que un mero compuesto unido tipo éster de alcohol muestra una tasa de hidrólisis lenta en una región diana y no puede obtenerse suficiente concentración de fármaco, y desvelan separadores que son fácilmente hidrolizados en una región diana.

Como derivado soluble en agua de camptotecina se conoce la CPT-11 (7-etil-10-piperidinopiperidinocarboniloxicamptotecina) (bibliografía de no patente 1).

Además, la bibliografía de patente 3 describe un derivado de alto peso molecular de camptotecinas que lleva unido ácido poliglutámico.

Por otra parte, la bibliografía de patente 4 y la bibliografía de no patente 2 muestran que un agregado de moléculas obtenido uniendo un fármaco a un copolímero de bloques de polietilenglicol y ácido poliaspártico puede formar micela, potenciando así su solubilidad en agua y el aumento del contenido de fármaco por molécula de polímero, la bibliografía de patente 5 muestra un agente antineoplásico de polímero obtenido uniendo una sustancia antineoplásica a un ácido carboxílico de cadena lateral de un copolímero de bloques de polietilenglicol y ácido poliglutámico, y la bibliografía de patente 6 muestra un vehículo de fármaco de polímero obtenido uniendo una sustancia hidrófoba a un ácido carboxílico de cadena lateral de un copolímero de bloques de polietilenglicol y polímero de aminoácido ácido. Sin embargo, la bibliografía de patente 4, la bibliografía de patente 5 y la bibliografía de patente 6 no describen un compuesto unido de camptotecinas.

La bibliografía de patente 7 se refiere a transportadores de profármacos poliméricos que comprenden derivados de camptotecina, que están ligados a un polímero mediante un enlace éster de un grupo hidroxilo en el anillo de pirano.

45 Lista de bibliografías

- Bibliografía de patente 1: Solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público (KOHYO) nº 10-513187
- 50 Bibliografía de patente 2: Solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público (KOHYO) nº 2000-517304
- Bibliografía de patente 3: Publicación internacional nº WO01/70275 panfleto
- Bibliografía de patente 4: Publicación japonesa nº 2694923
- Bibliografía de patente 5: Solicitud de patente japonesa abierta a consulta por el público (KOKAI) nº 5-955
- 55 Bibliografía de patente 6: Patente japonesa nº 3268913
- Bibliografía de patente 7: WO 99/53951 A1

Bibliografía de no patente 1: S. Miyasaka y col., Anticancer Agent Irinotecan, Gendai Kagaku, publicación de octubre de 1999, Tokyo Kagaku Dozin, pág. 58 a 66

Bibliografía de no patente 2: T. Nakanishi y col., Development of the polymer micelle carrier system for doxorubicin, Journal of Controlled Release, 2001, 74, Elsevier, pág. 295 a 302

Los profármacos que llevan polietilenglicol unido descritos en la bibliografía de patente 1 y la bibliografía de patente 5 2 pueden unirse solo a 1 a 2 fármacos por molécula de polietilenglicol debido a su estructura, y por tanto, para la dosificación de la cantidad eficaz de fármacos debe administrarse una gran cantidad de polímeros.

CPT-11, que es un derivado soluble en agua de camptotecina, manifiesta graves efectos secundarios y no es un fármaco fácil de usar, por consiguiente, hay un deseo de novedosos derivados de camptotecina.

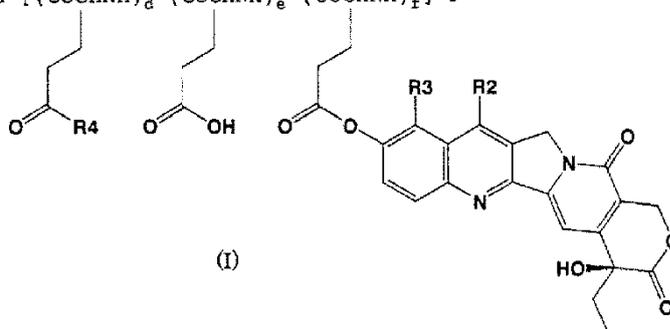
En los compuestos unidos a adriamicina descritos específicamente en la bibliografía de patente 4, la bibliografía de patente 5 y la bibliografía de no patente 2, un copolímero de bloques y un residuo de adriamicina se unen por un enlace amida que es un modo de unión químicamente estable y, en realidad, como se describe en la bibliografía de no patente 2, la adriamicina unida no tiene actividad antitumoral.

Divulgación de la invención

Los presentes inventores han hecho un gran esfuerzo por resolver los problemas que se han descrito anteriormente, y como resultado encontraron un derivado de alto peso molecular de camptotecinas obtenido uniendo un grupo ácido carboxílico de un copolímero de polietilenglicol y un polímero que tiene un grupo ácido carboxílico de cadena lateral, que es ácido poliglútamico, a camptotecinas fenólicas mediante una estructura de éster fenílico, que conduce a la presente invención.

Concretamente, la presente invención se refiere a

(1) Un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la fórmula general (I):



en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, t representa un número entero de 5 a 11500, A representa un grupo de unión, que es un grupo alquileo (C2 a C6), d+e+f representa un número entero de 3 a 200, R2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo sililo que tiene opcionalmente un sustituyente, R3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, R4 puede ser igual o diferente y representa un grupo alcoxilo (C1 a C20) que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo dialquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo alquil (C1 a C20)-aminocarbonilalquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente y P representa un átomo de hidrógeno, un grupo acilo (C1 a C6) o un grupo alcoxi (C1 a C6)-carbonilo;

(2) El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según (1), en el que R1 es un grupo alquilo (C1 a C4) que tiene opcionalmente un sustituyente, t es un número entero de 100 a 300, A es un grupo alquileo (C2 a C6), d+e+f es un número entero de 6 a 60, la relación de d es del 0 al 60 %, la relación de e es del 0 al 60 % y la relación de f es del 1 al 100 % basado en d+e+f, R2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C4) que tiene opcionalmente un sustituyente, R3 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C4) que no tiene sustituyente, R4 puede ser igual o diferente y es un grupo alcoxilo (C1 a C8) que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo alquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo dialquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo alquil

(C1 a C8)-aminocarbonilalquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente y P es un grupo acilo (C2 a C4);

5 (3) El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según (1), en el que R1 es un grupo metilo, A es un grupo trimetileno, R2 es un átomo de hidrógeno, R3 es un grupo dimetilaminometilo, R4 es un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino y P es un grupo acetilo.

10 (4) El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según (2), en el que R1 es un grupo metilo, A es un grupo trimetileno, R2 es un grupo etilo, R3 es un átomo de hidrógeno, R4 es un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino y P es un grupo acetilo.

15 (5) Un derivado de alto peso molecular de camptotecinas, obtenido haciendo reaccionar un copolímero de bloques de una porción de polietilenglicol y ácido poliaminoglutámico con una camptotecina fenólica que tiene un grupo hidroxilo en la posición 10 en un disolvente orgánico usando un agente de condensación.

20 (6) Un procedimiento de producción del derivado de alto peso molecular de camptotecinas según cualquiera de (1) a (4), que comprende combinar un grupo ácido carboxílico de un copolímero de polietilenglicol y ácido poliglutámico con un grupo hidroxilo fenólico en la posición 10 de camptotecinas fenólicas mediante un éster enlace, usando un agente de condensación.

(7) Un agente antineoplásico que comprende el derivado de alto peso molecular de camptotecinas según cualquiera de (1) a (4).

Breve descripción de los dibujos

25 La Fig. 1 es un diagrama de curvas que muestra la cantidad de liberación de fármacos en ausencia de una enzima hidrolítica en términos de relación basada en la cantidad de fármaco total en el Ejemplo 3. La abscisa representa el tiempo y la ordenada representa la cantidad de liberación.

30 La Fig. 2 es un diagrama de curva que muestra la cantidad de liberación de fármacos en presencia de plasma de ratón en términos de relación basada en la cantidad de fármaco total en el Ejemplo 4. La abscisa representa el tiempo y la ordenada representa la cantidad de liberación.

Mejor modo para llevar a cabo la invención

35 El derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención se caracteriza porque tiene una estructura en la que un grupo hidroxilo fenólico de camptotecinas fenólicas se combina con un grupo ácido carboxílico de un polímero que tiene un grupo ácido carboxílico en la cadena lateral, que es ácido poliglutámico, y porción de polietilenglicol mediante un enlace éster fenílico.

40 En la presente invención, camptotecinas fenólicas significa un derivado de camptotecina que tiene un grupo hidroxilo fenólico. El grupo hidroxilo fenólico anteriormente mencionado está unido al esqueleto de camptotecina en la posición 10 de la misma. Ejemplos específicos de las camptotecinas fenólicas anteriormente mencionadas incluyen 7-etil-10-hidroxycamptotecina, topotecan (9-dimetilaminometil-10-hidroxycamptotecina; fabricada por Glaxo Smith-
45 Kline K.K.) y similares.

El copolímero de polietilenglicol y un polímero que tiene un grupo ácido carboxílico en la cadena lateral, que es ácido poliglutámico, en la presente invención incluye polímeros de injerto, polímeros de bloques y similares.

50 Como polímeros de bloques se mencionan los polímeros obtenidos uniendo polietilenglicol que tiene un grupo funcional en el extremo y ácidos policarboxílicos, es decir, ácido poliglutámico que tiene un grupo funcional en el extremo, y los polímeros obtenidos por una reacción de polimerización de un compuesto activado con aminoácido que inicia la polimerización con polietilenglicol que tiene un grupo amino en el extremo descrito en la bibliografía de patente 5.

55 El polietilenglicol en la presente invención incluyen también polietilenglicol que tiene ambos extremos modificados o un extremo modificado, y grupos de modificación en ambos extremos pueden ser iguales o diferentes. El grupo de modificación en el extremo incluye grupos alquilo (C1 a C6) que tienen opcionalmente un sustituyente. El grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente incluye preferentemente grupos alquilo (C1 a C4) que

tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metilo, grupo etilo, grupo n-propilo, grupo i-propilo, grupo n-butilo, grupo s-butilo, grupo t-butilo, grupo bencilo, grupo dimetoxietilo, grupo dietoxietilo y similares.

- 5 El peso molecular de la porción de polietilenglicol es normalmente aproximadamente 300 a 500000, preferentemente aproximadamente 500 a 100000, adicionalmente preferentemente aproximadamente 1000 a 50000.

El número de grupos ácido carboxílico por molécula del copolímero de polietilenglicol y un ácido poliglutámico es preferentemente 3 a 200, más preferentemente 6 a 60. El número de grupos ácido carboxílico se determina por
10 valoración por neutralización con un álcali. En este procedimiento, cuando un sustituyente tal como camptotecinas y similares está unido a un grupo ácido carboxílico, el número puede medirse después de la hidrólisis.

El peso molecular del copolímero de polietilenglicol y ácido poliglutámico en la presente invención es normalmente aproximadamente 500 a 500000, preferentemente aproximadamente 600 a 100000, adicionalmente preferentemente
15 800 a 80000.

El peso molecular en esta memoria descriptiva significa el peso molecular promedio en peso medido por un procedimiento de GPC.

- 20 En la presente invención, la cantidad de unión de camptotecinas que van a unirse a un copolímero de polietilenglicol y ácido poliglutámico no está particularmente limitada, a condición de que sea una cantidad que muestra efecto de fármaco, y normalmente es del 1 al 100 %, preferentemente del 10 al 90 % del número de grupos ácido carboxílico totales del polímero.

- 25 El derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención incluye también derivados que muestran un efecto como profármaco.

Como copolímero de polietilenglicol y ácido poliglutámico en la presente invención se mencionan los copolímeros de bloques de ácido poliglutámico y polietilenglicol.

30 Ejemplos del copolímero de bloques de un ácido poliglutámico y polietilenglicol en la presente invención incluyen alcoxipolietilenglicol-ácido poliglutámico. Ejemplos preferibles del copolímero de bloques incluyen alcoxi (C1 a C4)-polietilenglicol-ácidos poliglutámicos y similares.

- 35 Además, como derivado de alto peso molecular de camptotecinas que se unen a un copolímero de bloques de polietilenglicol y ácido poliglutámico por camptotecinas fenólicas en la presente invención incluyen compuestos de la fórmula general (I) anteriormente mencionada [en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, t representa un número entero de 5 a 11500, A representa un grupo de unión, que es un grupo alquileo (C2 a C6), d+e+f representa un número entero de 3 a 200, R2 representa
40 un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo sililo que tiene opcionalmente un sustituyente, R3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, R4 puede ser igual o diferente y representa un grupo alcoxilo (C1 a C20) que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo alquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo dialquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo alquil (C1 a C20)-aminocarbonilalquil
45 (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente y P representa un átomo de hidrógeno, un grupo acilo (C1 a C6) o grupo alcoxi (C1 a C6)-carbonilo].

Como grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R1 en la fórmula general (I) se mencionan grupos alquilo (C1 a C6) de cadena lineal o ramificada que tienen opcionalmente un sustituyente, y
50 son preferibles grupos alquilo (C1 a C4) de cadena lineal o ramificada que tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metilo, grupo etilo, grupo n-propilo, grupo i-propilo, grupo n-butilo, grupo t-butilo, grupo bencilo, grupo 2,2-dimetoxietilo, grupo 2,2-dietoxietilo y similares, y el grupo metilo es particularmente preferible.

- 55 El grupo de unión representado por A en la fórmula general (I) es una porción de unión de polietilenglicol y un polímero de aminoácido ácido, y no está particularmente limitado, a condición de que no altere la actividad fisiológica, y son grupos alquileo (C2 a C6), y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo etileno, grupo trimetileno, grupo butileno y similares, y el grupo trimetileno es particularmente preferible.

Grupos alquilo del grupo alquilo (C1 a C6) que tienen opcionalmente un sustituyente representado por R2 en la fórmula general (I) incluyen grupos alquilo (C1 a C6) de cadena lineal o ramificada, y son preferibles grupos alquilo (C1 a C4) de cadena lineal o ramificada, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metilo, grupo etilo, grupo n-propilo, grupo i-propilo, grupo n-butilo, grupo t-butilo y similares. El sustituyente incluye un grupo amino, 5 grupos alquil (C1 a C3)-amino, grupos dialquil (C1 a C3)-amino y similares.

El grupo sililo que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R2 en la fórmula general (I) incluye, por ejemplo, grupo (1,1-dimetiletil) dimetilsililo y similares.

10 R2 en la fórmula general (I) incluye, específicamente, un átomo de hidrógeno, grupo metilo, grupo etilo, grupo dimetilaminometilo, grupo 2-[(1-metiletil)amino]etilo, grupo 2-(trimetilsilil)etilo, grupo (4-metil-1-piperidinil)metilo, grupo 2,3-didesoxi- α -D-eritrohexi-2-enopiranosil]oxi]metilo y similares. R2 es preferentemente un átomo de hidrógeno o grupo etilo.

15 Grupos alquilo del grupo alquilo (C1 a C6) que tienen opcionalmente un sustituyente representado por R3 en la fórmula general (I) incluyen los mismos grupos que para el grupo alquilo (C1 a C6) representado por R2 anteriormente mencionado. El sustituyente del mismo incluye los mismos sustituyentes que para el grupo alquilo (C1 a C6) que tienen opcionalmente un sustituyente representado por R2 anteriormente mencionado.

20 Como R3 en la fórmula general (I) se incluye, específicamente, un átomo de hidrógeno, grupo metilo, grupo etilo, grupo dimetilaminometilo, grupo 2-[(1-metiletil)amino]etilo y similares. R3 es preferentemente un átomo de hidrógeno o grupo dimetilaminometilo.

Como grupo alcoxilo (C1 a C20) que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R4 en la fórmula general (I) preferentemente se mencionan grupos alcoxilo (C1 a C8) que tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metoxi, grupo etoxi, grupo propoxi, grupo isopropoxi, grupo benciloxi, grupo fenetiloxi y similares.

Como grupo alquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R4 en la fórmula general (I) preferentemente se mencionan grupos alquil (C1 a C8)-amino que tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metilamino, grupo etilamino, grupo propilamino, grupo isopropilamino, grupo bencilamino, grupo acetilamino y similares. También pueden ser permisibles grupos aminoácido que tienen un grupo carboxilo protegido.

35 Como grupo dialquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R4 en la fórmula general (I) preferentemente se mencionan grupos dialquil (C1 a C8)-amino que tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo N,N-dimetilamino, grupo N,N-dietilamino, grupo N,N-dipropilamino, grupo N,N-diisopropilamino, grupo N,N-dibencilamino, grupo N-metil-N-bencilamino y similares.

40 El grupo alquil (C1 a C20)-aminocarbonilalquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente representado por R4 en la fórmula general (I) es N(R5)CONHR6 [R5 y R6 son grupos alquilo (C1 a C20) que pueden ser iguales o diferentes], y preferentemente se mencionan grupos alquil (C1 a C8)-aminocarbonilalquil (C1 a C8)-amino que tienen opcionalmente un sustituyente, y ejemplos específicos de los mismos incluyen grupo metilaminocarbonilmetilamino, grupo etilaminocarboniletilamino, grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino, grupo 45 ciclohexilaminocarbonilciclohexilamino y similares.

El grupo acilo (C1 a C6) representado por P en la fórmula general (I) no está particularmente limitado y, por ejemplo, se mencionan grupo formilo, grupo acetilo, grupo propionilo, grupo pivaloilo y similares, siendo el grupo acetilo preferible.

50

El grupo alcoxi (C1 a C6)-carbonilo representado por P en la fórmula general (I) no está particularmente limitado, y por ejemplo, se mencionan grupo metoxicarbonilo, grupo etoxicarbonilo, grupo t-butoxicarbonilo y similares.

d, e y f en la fórmula general (I) son cada uno un número entero, y d+e+f es un número entero de 3 a 200, 55 preferentemente 6 a 60, adicionalmente preferentemente 6 a 40. La relación de d es preferentemente del 0 al 60 %, más preferentemente del 5 al 50 %, adicionalmente preferentemente del 15 al 40 %, la relación de e es preferentemente del 0 al 60 %, más preferentemente del 0 al 40 %, y la relación de f es del 1 al 100 %, preferentemente del 10 al 90 %, más preferentemente del 30 al 70 %, basado en d+e+f. En un compuesto de la fórmula general (I), el ácido poliglutámico al que las camptotecinas y otros grupos están unidos y el ácido

- poliglutámico libre pueden ser de tipo polimerización en bloques o tipo polimerización al azar. $d+e+f$ es el número total de grupos ácido carboxílico en una molécula del polímero anteriormente mencionado, y se determina por la cantidad de carga de materiales de partida y la valoración por neutralización anteriormente mencionada. El número f de grupos ácido glutámico a los que las camptotecinas están unidos en el polímero puede determinarse, por ejemplo, por la intensidad del espectro de absorción ultravioleta. El número d de grupos ácido glutámico a los que R4 está unido puede determinarse, cuando un derivado de alto peso molecular de camptotecina forma micela, midiendo el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno en condiciones que descomponen la micela, y calculando a partir de la relación de intensidad de señales resultante.
- 10 t en la fórmula general (I) es un número entero normalmente de aproximadamente 5 a 11500, preferentemente aproximadamente 8 a 2300, adicionalmente preferentemente aproximadamente 16 a 1200, particularmente preferentemente aproximadamente 100 a 300. t anteriormente mencionado puede determinarse, por ejemplo, restando el peso molecular de un polímero parcial que tiene un grupo ácido carboxílico en la cadena lateral basado en el número total de los grupos ácido carboxílico del peso molecular de un polímero que tiene porción de
- 15 polietilenglicol y un grupo ácido carboxílico en la cadena lateral.

El copolímero de bloques anteriormente mencionado de polietilenglicol y ácido poliglutámico al que las camptotecinas están unidas puede formar micela que tiene una vaina hecha de polietilenglicol en agua.

- 20 La producción de un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención puede realizarse, por ejemplo, sometiendo un copolímero de bloques de polietilenglicol-ácido poliglutámico preparado sustancialmente según el procedimiento descrito en bibliografía de patente 5 y, las camptotecinas que tienen un grupo hidroxilo fenólico en la posición 10, en el que el grupo activo se protege cuando un grupo activo que posiblemente causa una reacción lateral está presente, a una reacción en un disolvente en el que ambos se disuelven, preferentemente en
- 25 un disolvente orgánico, más preferentemente en un disolvente polar soluble en agua tal como N,N-dimetilformamida (DMF), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMI), N-metilpirrolidona (NMP) y similares, a temperaturas normalmente de 0 a 180 °C, preferentemente 5 a 50 °C, usando un agente de condensación tal como dicitohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIPC), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (WSC), 1-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolinona (EEDQ), dicarbonato de di-terc-butilo ((BOC)₂O) y similares. En la reacción de
- 30 condensación anteriormente mencionada pueden usarse auxiliares de reacción tales como N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) y similares. Después de la reacción, la desprotección se realiza si fuera necesario y se efectúan operaciones usuales para la separación y similares, así puede obtenerse un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención.
- 35 Sin embargo, el procedimiento de producción de un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención no se limita al procedimiento anteriormente mencionado.

- La composición de monómeros en los derivados de alto peso molecular puede controlarse ajustando las condiciones de reacción. Por ejemplo, cambiando agentes de condensación, específicamente, por un procedimiento de
- 40 activación de éster usando EEDQ o (BOC)₂O y similares como agente de condensación, o por un procedimiento de formación de cloruro de ácido usando oxicloruro de fósforo y similares, el número d de ácidos poliglutámicos con los que un grupo distinto de camptotecinas está unido en un compuesto de la fórmula general (I) puede ajustarse a 0. Adicionalmente, un derivado de alto peso molecular de camptotecinas en el que R4 es un grupo alquilaminocarbonilalquilamino también se obtiene por una reacción usando las carbodiimidias anteriormente
- 45 mencionadas como agente de condensación.

- Como procedimiento de introducción de R4 en un compuesto de la fórmula general (I) se menciona un procedimiento en el que un grupo ácido carboxílico de un copolímero se activa mediante el procedimiento que se ha descrito anteriormente, entonces, alcohol, amina y similares en una cantidad que va a añadirse se hacen reaccionar
- 50 bajo una condición básica, un procedimiento en el que el alcohol y la amina se activan previamente, luego se hacen reaccionar con un polímero, y similares. Además, después de la purificación de un polímero, los grupos ácido carboxílico sin reaccionar en un polímero pueden reactivarse según la misma reacción, y según la cual, las camptotecinas que tienen un grupo hidroxilo fenólico pueden condensarse. Alternativamente, cuando otros alcoholes, aminas y similares se hacen reaccionar repetidamente, puede sintetizarse una mezcla de diversos
- 55 sustituyentes R4, por tanto, finalmente pueden condensarse camptotecinas que tienen un grupo hidroxilo fenólico.

El derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención puede usarse como agente antineoplásico. Se estima que el derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención libera camptotecinas en un cuerpo principalmente como profármaco y éste muestra actividad antitumoral. El derivado de

alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención puede formularse en una forma de dosificación normalmente usada tal como inyección, comprimido, polvo y similares, y usarse. En la formulación pueden usarse los vehículos farmacéuticamente aceptables normalmente usados, por ejemplo, aglutinantes, lubricantes, agentes de disgregación, disolventes, excipientes, solubilizantes, dispersantes, estabilizadores, agentes de suspensión, conservantes, agentes relajantes, colorantes, aromas y similares. En el caso de una inyección se usa normalmente un disolvente. Como disolvente se mencionan, por ejemplo, agua, solución salina fisiológica, glucosa al 5 % o manitol líquido, disolventes orgánicos solubles en agua, por ejemplo, glicerol, etanol, sulfóxido de dimetilo, N-metilpirrolidona, polietilenglicol, Cremophor y similares, mezclas de los mismos, y mezclas de agua y los disolventes orgánicos solubles en agua anteriormente mencionados, y similares.

La dosificación del derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención puede alterarse naturalmente dependiendo del sexo, edad, condiciones fisiológicas, condiciones patológicas y similares del paciente, y se administra parenteralmente, normalmente a una dosis de 0,01 a 500 mg/m² (área superficial del cuerpo), preferentemente 0,1 a 250 mg/m² como componente activo por día para un adulto. La administración mediante inyección se realiza intravenosamente, intra-arterialmente, localmente (parte de tumor) y similares.

Ejemplos

La presente invención se ilustrará adicionalmente específicamente por los siguientes ejemplos, pero no se limita a estos ejemplos.

Ejemplo 1

Síntesis del compuesto 1 (condensado de un copolímero de bloques de metoxipolietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 12000 y ácido poliglútamico que tiene un número de polimerización de aproximadamente 28, con 7-etil-10-hidroxicamptotecina: fórmula general (I) en la que R1 = Me, A = grupo trimetileno, d+e+f = aproximadamente 28, t = aproximadamente 273, R2 = Et, R3 = H, P = Ac)

Un copolímero de bloques de metoxipolietilenglicol-ácido poliglútamico (210 mg) descrito en el siguiente ejemplo de referencia 1 y la 7-etil-10-hidroxicamptotecina (80 mg) producida en un procedimiento descrito en la publicación de patente japonesa nº 62-47193 se disolvieron en DMF (14 ml), a ésta se añadió DMAP (13,5 mg) y DIPC (0,116 ml), y la mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. Al líquido de reacción se añadieron etanol (40 ml) y éter diisopropílico (160 ml) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, luego el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 150 ml). El precipitado resultante se disolvió en acetonitrilo/agua (1/3 (v/v), 40 ml), luego se pasó a través de una columna de una resina de intercambio iónico (Dowex 50 (H⁺), 5 ml) y se eluyó con acetonitrilo/agua (1/3 (v/v), 40 ml). De la fracción de elución resultante, el acetonitrilo se separó por destilación a presión reducida, luego se liofilizó obteniéndose el compuesto 1 (270 mg). A una porción de ácido poliglútamico del compuesto 1, camptotecinas y un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino están unidos. El contenido de camptotecinas en el compuesto se determinó basándose en la absorbancia a 330 nm en una disolución de DMF encontrándose una proporción del 25,4 % (peso/peso). Con respecto al contenido de un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino, el espectro de resonancia magnética nuclear de hidrógeno de un derivado de alto peso molecular de camptotecinas se midió en una disolución mixta de óxido de deuterio-acetonitrilo-d₃ que contiene deuteróxido de sodio, y a partir de la relación de intensidad de las señales y el contenido anteriormente mencionado de camptotecinas se calculó el contenido encontrándose el 3,0 % (peso/peso). Como resultado, la relación de d fue del 15,5 % y la relación de f fue del 48,4 % basado en d+e+f. El compuesto 1 obtenido anteriormente se analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y el contenido de camptotecinas libres fue del 0,3 % o menos.

Ejemplo 2

Síntesis del compuesto 2 (condensado de un copolímero de bloques de mono-metoxipolietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 12000 y ácido poliglútamico que tiene un número de polimerización de aproximadamente 7, con 7-etil-10-hidroxicamptotecina: fórmula general (I) en la que R1 = Me, A = grupo trimetileno, d+e+f = aproximadamente 7, t = aproximadamente 273, R2 = Et, R3 = H, P = Ac)

El metoxipolietilenglicol-ácido poliglútamico (797 mg) descrito en el siguiente ejemplo de referencia 2 y la 7-etil-10-hidroxicamptotecina (80 mg) producida en un procedimiento descrito en la publicación de patente japonesa nº 62-47193 se disolvieron en DMF (14 ml), a ésta se añadió DMAP (16,6 mg) y DIPC (0,142 ml), y la mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. Al líquido de reacción se añadieron etanol (40 ml) y éter diisopropílico

(160 ml) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente, luego el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 150 ml). El precipitado resultante se disolvió en acetonitrilo/agua (1/3 (v/v), 40 ml), luego se pasó a través de una columna de una resina de intercambio iónico (Dowex 50 (H⁺), 5 ml) y se eluyó con acetonitrilo/agua (1/3 (v/v), 40 ml). De la fracción de elución resultante, el acetonitrilo se separó por destilación a presión reducida, luego se liofilizó obteniéndose el compuesto 2 (818 mg). El contenido de camptotecinas en el compuesto se determinó basándose en la absorbancia a 330 nm en una disolución de DMF encontrándose una proporción del 9,6 % (peso/peso). El contenido de un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino se midió por el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1 encontrándose el 1,5% (peso/peso). Como resultado, la relación de d fue del 20,3 % y la relación de f fue del 47,2 % basado en d+e+f. El compuesto 2 obtenido anteriormente se analizó por HPLC y el contenido de camptotecinas libres fue del 0,2% o menos.

Ejemplo 3 (liberación de fármaco en ausencia de enzima hidrolítica)

El derivado de alto peso molecular de camptotecinas en los Ejemplos 1 y 2 se disolvió respectivamente en PBS (solución salina tamponada con fosfato; pH 7,1) y se incubó a 37 °C. La 7-etil-10-hidroxicamptotecina liberada de los derivados de alto peso molecular se separó y se midió por HPLC. En comparación con una curva patrón en este tratamiento, la cantidad de 7-etil-10-hidroxicamptotecina se calculó. Este valor se mostró en la Fig. 1 como una relación basada en la cantidad de fármaco total medido a partir del contenido de fármaco de un profármaco de alto peso molecular. La Fig. 1 muestra que un fármaco es de liberación sostenida del derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención sin depender de la enzima hidrolítica.

Ejemplo 4 (liberación de fármaco en presencia de plasma de ratón)

El derivado de alto peso molecular de camptotecinas en los Ejemplos 1 y 2 se disolvió respectivamente en disolución acuosa al 5 % de glucosa, luego se añadió plasma de ratón (macho) en cantidad de 4 veces (v/v) de la disolución acuosa al 5 % de glucosa y se incubó a 37 °C. Entonces, la disolución se eliminó con el paso del tiempo por 0,1 ml, y se añadió metanol/acetonitrilo (1/1 (v/v), 0,4 ml) para realizar el tratamiento de eliminación de proteínas, y la 7-etil-10-hidroxicamptotecina liberada de los derivados de alto peso molecular se separó y se midió por HPLC. En comparación con una curva patrón en este tratamiento, la cantidad de 7-etil-10-hidroxicamptotecina se calculó. Este valor se mostró en la Fig. 2 como una relación basada en la cantidad de fármaco total medido a partir del contenido de fármaco de un profármaco de alto peso molecular. La Fig. 2 muestra que un fármaco es de liberación sostenida del derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención también en plasma.

Ejemplo 5 (acción antitumoral)

Tumor de cáncer de colon de ratón Colon 26 bajo cultivo sucesivo bajo piel de ratón se cortó en bloques de aproximadamente 2 mm cuadrados y se trasplantó a ratón bajo la piel usando un trocar. 7 días después del trasplante del tumor, un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención y CPT-11 como fármaco de control se disolvieron respectivamente en disolución acuosa al 5 % de glucosa y se administraron intravenosamente una vez. Después de la administración, el eje mayor (L mm) y el eje menor (W mm) del tumor se midieron a un intervalo de 2 a 3 días usando un compás calibrador, y el volumen del tumor se calculó según $(L \times W^2) / 2$, y el volumen relativo del tumor se determinó a partir del volumen en el día de inicio de la administración (Tabla 1). Como indicación de toxicidad también se midió la variación en el peso corporal (Tabla 2). Como resultado, el derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención tuvo poca toxicidad (reducción de peso corporal) y mostró efecto antitumoral reforzado como se compara con CPT-11. El derivado de alto peso molecular de camptotecinas que tiene mayor contenido de fármaco (compuesto 1) dio un mayor efecto antitumoral con cantidad de administración más pequeña, en comparación con el derivado de alto peso molecular de camptotecinas que tiene contenido de fármaco más pequeño (compuesto 2).

50

Tabla 1

Dosis	Días después de la administración							
	0	2	5	7	9	12	14	
Grupo sin tratamiento	1,0	2,5	8,1	12,8	14,5	15,5	14,3	
Compuesto 1	45,0 mg/kg	1,0	0,9	0,4	0,3	0,5	0,9	2,6
	22,5 mg/kg	1,0	0,8	0,6	1,0	1,8	7,2	8,5
Compuesto 2	180,0 mg/kg	1,0	0,8	0,9	1,5	3,8	9,8	13,8
	90,0 mg/kg	1,0	1,0	1,4	3,5	8,8	16,5	17,7
CPT-11	26,1 mg/kg	1,0	1,8	8,4	10,3	12,8	33,2	34,1

Tabla 2

Dosis	Días después de la administración							
	0	2	5	7	9	12	14	
Grupo sin tratamiento	1,0	1,01	1,02	0,97	0,89	0,80	0,81	
Compuesto 1	45,0 mg/kg	1,0	0,94	0,91	0,97	1,01	1,03	
	22,5 mg/kg	1,0	0,98	1,02	1,01	1,06	1,03	
Compuesto 2	180,0 mg/kg	1,0	0,91	0,99	0,99	1,04	0,94	
	90,0 mg/kg	1,0	0,96	1,00	1,01	1,01	0,90	
CPT-11	26,1 mg/kg	1,0	1,00	1,01	0,90	0,79	0,88	

Ejemplo de referencia 1 (Síntesis de compuesto N-acetilado de un copolímero de bloques de monometoxipolietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 12000 y ácido poliglutámico que tiene un 5 número de polimerización de aproximadamente 28)

Polietilenglicol (SUNBRIGHT MEPA-12T, fabricado por NOF Corp., peso molecular promedio 12000, 1,0 g) que tiene un grupo metoxi en un extremo y un grupo 3-aminopropilo en el otro extremo se disolvió en DMSO (20 ml), luego se añadió γ -bencil-L-glutamato-N-carboxianhídrido (0,77 g) a ésta y la mezcla se agitó durante 20 horas a 35 °C. Al líquido de reacción se añadió etanol (80 ml) y éter diisopropílico (320 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente, entonces el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 100 ml). El precipitado resultante se disolvió en DMF (20 ml), a ésta se añadió anhídrido acético (0,4 ml) y la mezcla se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente. Al líquido de reacción se añadió etanol (80 ml) y éter diisopropílico (320 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente, entonces el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 100 ml) obteniéndose 1,56 g de polímero. El polímero resultante se disolvió en DMF (47 ml), luego se añadió 5 % de paladio-carbón (780 mg) y se realizó hidrogenólisis a 35 °C durante 3 horas. Al líquido de reacción se añadió metanol (90 ml) y Celite (8 g) y la mezcla se agitó durante 2 horas, luego se separó por filtración el 5 % de paladio-carbón. El metanol se separó por destilación a presión reducida, luego se añadieron etanol (90 ml) y éter diisopropílico (360 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente. El precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 100 ml), luego se disolvió en solución salina al 10 % (100 ml). El pH del líquido disuelto se controló a 10,0 con una disolución acuosa 1 N de hidróxido sódico, luego el líquido se purificó por cromatografía en columna de resina de adsorción de distribución, posteriormente cromatografía en columna de resina de intercambio iónico y la disolución eluida se concentró a presión reducida, luego se liofilizó obteniéndose un compuesto previsto (1,18 g). El número de polimerización de ácido glutámico en una molécula de este compuesto basado en el valor de valoración usando hidróxido sódico 0,02 N fue aproximadamente 28.

Ejemplo de referencia 2 (Síntesis de compuesto N-acetilado de copolímero de bloques de monometoxipolietilenglicol que tiene un peso molecular de aproximadamente 12000 y ácido poliglutámico que tiene un 30 número de polimerización de aproximadamente 7)

Polietilenglicol (SUNBRIGHT MEPA-12T, fabricado por NOF Corp., peso molecular promedio 12000, 2,0 g) que tiene un grupo metoxi en un extremo y un grupo 3-aminopropilo en el otro extremo se disolvió en DMSO (40 ml), luego se añadió γ -bencil-L-glutamato-N-carboxianhídrido (0,40 g) a ésta y la mezcla se agitó durante 20 horas a 35 °C. Al líquido de reacción se añadió etanol (160 ml) y éter diisopropílico (640 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente, entonces el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 150 ml). El precipitado resultante se disolvió en DMF (40 ml), a ésta se añadió anhídrido acético (0,8 ml) y la mezcla se agitó durante 15 horas a temperatura ambiente. Al líquido de reacción se añadió etanol (160 ml) y éter diisopropílico (640 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente, entonces el precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 150 ml) obteniéndose 2,12 g de polímero. El polímero resultante se disolvió en DMF (64 ml), luego se añadió 5 % de paladio-carbón (1,06 g) y se realizó hidrogenólisis a 35 °C durante 3 horas. Al líquido de reacción se añadió metanol (130 ml) y Celite (14 g) y la mezcla se agitó durante 2 horas, luego se separó por filtración el 5 % de paladio-carbón. El metanol se separó por destilación a presión reducida, luego se añadieron etanol (130 ml) y éter diisopropílico (520 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente. El precipitado se filtró y se lavó con etanol/éter diisopropílico (1/4 (v/v), 160 ml), luego se disolvió en solución salina al 10 % (160 ml). El pH del líquido disuelto se controló a 10,0 con una disolución acuosa 1 N de hidróxido sódico, luego el líquido se purificó por cromatografía en columna de resina de adsorción de distribución, posteriormente cromatografía en columna de resina de intercambio iónico y la disolución eluida se concentró a presión reducida, luego se liofilizó obteniéndose un compuesto previsto (1,56 g). El número de polimerización de ácido glutámico en una molécula de este compuesto basado en el valor de valoración usando hidróxido sódico 0,02 N fue

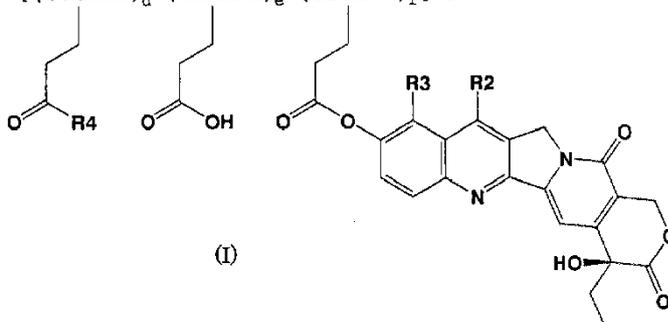
aproximadamente 7.

Aplicabilidad industrial

- 5 El derivado de alto peso molecular de camptotecinas de la presente invención es un derivado de alto peso molecular que muestra liberación sostenida incluso en un organismo y es excelente en el efecto de tratamiento debido a la unión de camptotecinas por un enlace éster fenílico que se descompone fácilmente químicamente. Además, se espera que un derivado de alto peso molecular que forma micela muestre un efecto de fármaco selectivamente en partes de enfermedad y proporcione poco efecto secundario. Además, como la liberación de sustancias
- 10 fisiológicamente activas sin depender de la enzima es posible, se espera poca influencia por las diferencias en los pacientes individuales con respecto al efecto de tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Un derivado de alto peso molecular de camptotecinas de fórmula general (I):



5

en la que R1 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, t representa un número entero de 5 a 11500, A representa un grupo de unión, que es un grupo alquileo (C2 a C6), d+e+f representa un número entero de 3 a 200, R2 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo sililo que tiene opcionalmente un sustituyente, R3 representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C6) que tiene opcionalmente un sustituyente, R4 puede ser igual o diferente y representa un grupo alcoxilo (C1 a C20) que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo alquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente, un grupo dialquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente o un grupo alquil (C1 a C20)-aminocarbonilalquil (C1 a C20)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente y P representa un átomo de hidrógeno, un grupo acilo (C1 a C6) o un grupo alcoxi (C1 a C6)-carbonilo.

2. El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según la reivindicación 1, en el que R1 es un grupo alquilo (C1 a C4) que tiene opcionalmente un sustituyente, t es un número entero de 100 a 300, A es un grupo alquileo (C2 a C6), d+e+f es un número entero de 6 a 60, la relación de d es del 0 al 60 %, la relación de e es del 0 al 60 % y la relación de f es del 1 a 100 % basado en d+e+f, R2 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C4) que tiene opcionalmente un sustituyente, R3 es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C1 a C4) que no tiene sustituyente, R4 puede ser igual o diferente y es un grupo alcoxilo (C1 a C8) que tiene opcionalmente un sustituyente, grupo alquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente, grupo dialquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente o grupo alquil (C1 a C8)-aminocarbonilalquil (C1 a C8)-amino que tiene opcionalmente un sustituyente y P es un grupo acilo (C2 a C4).

3. El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según la reivindicación 1, en el que R1 es un grupo metilo, A es un grupo trimetileno, R2 es un átomo de hidrógeno, R3 es un grupo dimetilaminometilo, R4 es un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino y P es un grupo acetilo.

4. El derivado de alto peso molecular de camptotecinas según la reivindicación 2, en el que R1 es un grupo metilo, A es un grupo trimetileno, R2 es un grupo etilo, R3 es un átomo de hidrógeno, R4 es un grupo isopropilaminocarbonilisopropilamino y P es un grupo acetilo.

5. Un derivado de alto peso molecular de camptotecinas según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, obtenido haciendo reaccionar un copolímero de bloques de una porción de polietilenglicol y ácido poliglútamico con camptotecinas fenólicas que tienen un grupo hidroxilo en la posición 10 en un disolvente orgánico usando un agente de condensación.

6. Un procedimiento de producción el derivado de alto peso molecular de camptotecinas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende combinar un grupo ácido carboxílico en la cadena lateral de un copolímero de bloques de polietilenglicol y ácido poliglútamico con un grupo hidroxilo fenólico en la posición 10 de camptotecinas fenólicas mediante un enlace éster, usando un agente de condensación.

7. Un agente antineoplásico que comprende el derivado de alto peso molecular de camptotecinas según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

FIGURA 1

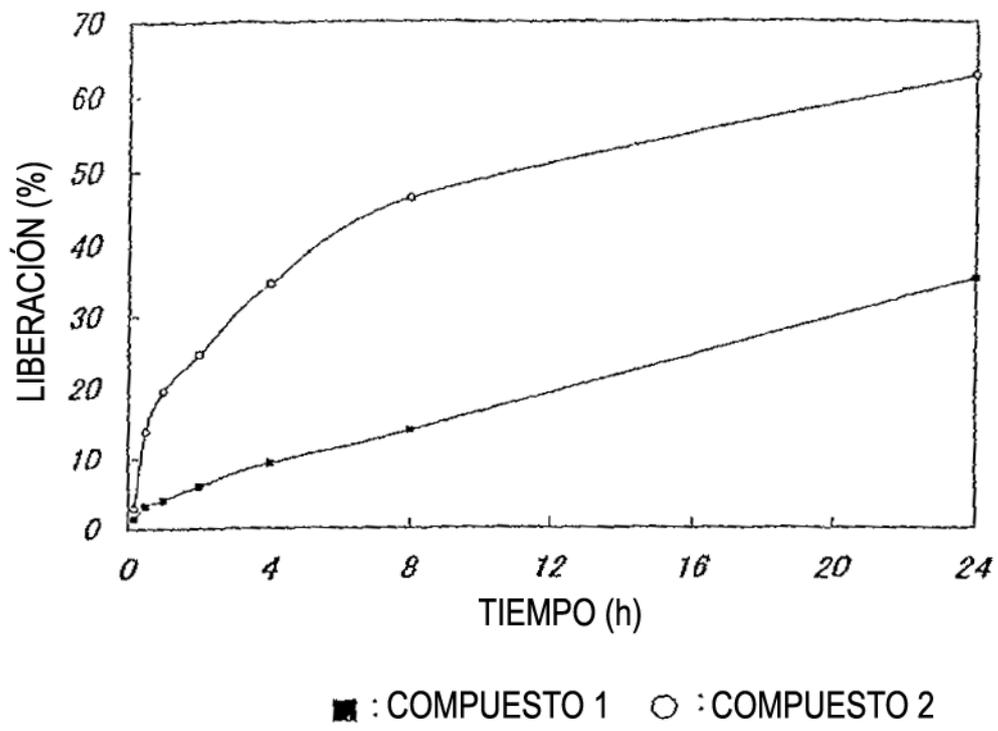


FIGURA 2

