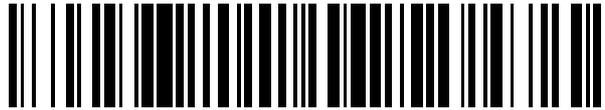


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 434**

51 Int. Cl.:

A61K 31/6615 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.11.2008 E 08851754 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014 EP 2219451**

54 Título: **Método para tratar neoplasias hematopoyéticas**

30 Prioridad:

21.11.2007 US 989786 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
20.02.2015

73 Titular/es:

**OXIGENE, INC. (100.0%)
701 GATEWAY BLVD., SUITE 210
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**CHAPLIN, DAVID y
SIIM, BRONWYN G.**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 529 434 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

Método para tratar neoplasias hematopoyéticas

5 **I. Introducción**

10 El cáncer es una causa principal de muerte en el mundo industrializado y, a pesar de años de investigación, muchos tipos de cáncer carecen de un tratamiento terapéutico eficaz. Aunque la quimioterapia induce la remisión en la mayoría de los pacientes adultos con leucemia mieloide aguda (AML), solo un pequeño porcentaje se cura con la quimioterapia convencional. La recaída de las leucemias se debe en parte a la persistencia de las leucemias residuales mínimas que se mantienen viables dentro de nichos especializados, como nichos vasculares. Por lo tanto, se necesitan con urgencia nuevas estrategias de tratamiento para bloquear la interacción de las neoplasias hematopoyéticas con células vasculares activadas, lo que interfiere con el establecimiento de nichos proleucémicos en diversos órganos y para erradicar la enfermedad resistente.

15 Se ha demostrado que la adhesión de células leucémicas a células del estroma confiere una mayor resistencia a los agentes quimioterapéuticos y disminuye el índice de apoptosis de las células leucémicas. Este proceso, denominado resistencia a fármacos mediada por la adhesión celular (CAM-DR), depende de la interacción de las integrinas con sus ligandos. La adhesión de VLA4 (antígeno 4 muy tardío, $\alpha 4\beta 1$) células mieloides positivas para integrina, a las células del estroma VCAM-1+ es un mediador importante de CAM-DR. De hecho, la expresión de VLA4 por las células leucémicas augura un mal pronóstico y una disminución del índice de supervivencia a cinco años. Por lo tanto, la identificación de nuevos agentes antileucémicos que inhiben la interacción de las células leucémicas con células vasculares proporciona nuevas estrategias para leucemias dependientes de la angiogénesis, que infiltran órganos diana.

20 La combretastatina A-1, un nuevo agente desestabilizante de tubulina, se aisló del árbol *Combretum cafrum* sudafricano. La combretastatina A-1 se une a la tubulina en el mismo sitio que la colchicina, pero con mayor afinidad. Su profármaco de fosfato, el fosfato de combretastatina A-1 (CA1dP) induce una rápida despolimerización de microtúbulos y cierre vascular en los tumores sólidos subcutáneos que causan necrosis tumoral en concentraciones muy por debajo de la dosis máxima tolerada. La combretastatina A-1 comprende un solo resto de orto-catecol y se sabe que es capaz de generar un aumento de la respuesta antitumoral mediante la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la localidad del tumor además de reducir selectivamente el flujo de sangre a al menos una porción de un tumor. Esto da como resultado tanto la inhibición directa de la proliferación de células tumorales, como la inducción selectiva del tumor de hipoxia y necrosis posterior en una parte del tejido tumoral sin necrosis sustancial del tejido no tumoral adyacente. Se ha mostrado que otros agentes de interrupción vascular que contienen catecol y quinona tienen una mayor actividad terapéutica, en relación con agentes de interrupción vascular que actúan únicamente a través de la interacción con la tubulina, en particular frente a tumores sólidos (véase el documento en trámite junto con la presente N° USSN 10/790.662, la Publicación de Patente de Estados Unidos N° 2004-024696, que se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad).

25 En este informe, los inventores muestran que los compuestos de combretastatina que comprenden un resto de catecol o quinona inducen la muerte celular rápida de células leucémicas no adherentes, a dosis bajas, no tóxicas. Los inventores también demuestran que el tratamiento de un solo agente con un compuesto de combretastatina que contiene catecol o quinona es eficaz para erradicar células leucémicas tanto en circulación como vasculares adherentes en modelos subcutáneos de ratón de AML, sin afectar a la hematopoyesis normal. Los ratones tratados con CA1dP presentaban una supervivencia significativamente prolongada y carga tumoral significativamente reducida. La coadministración de un agente quimioterapéutico adicional, por ejemplo AraC, disminuye la carga tumoral incluso adicionalmente. Por lo tanto, los compuestos de combretastatina que contienen catecol o quinona administrados solos o en combinación con agentes quimioterapéuticos representan un nuevo enfoque terapéutico prometedor para erradicar neoplasias hematopoyéticas.

30 El documento de patente WO2004/078126 y el documento de patente US2006/0035868 informan de diversos compuestos de combretastatina y su uso en el tratamiento de tumores sólidos.

35 **II. Sumario de la invención**

La presente invención se define con las reivindicaciones.

40 Un aspecto de la invención proporciona un compuesto de combretastatina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para usar métodos para el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia mieloide, en el que la combretastatina es el difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45 La invención también contempla el uso de una combretastatina capaz de formar una especie reactiva de oxígeno *in vivo* que es el difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP) en la preparación de un medicamento para uso en el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia

mieloide.

En el presente documento también se describen métodos para tratar un tumor no sólido que comprende administrar, a un sujeto que padece un tumor no sólido, una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto de combretastatina o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en los que el compuesto de combretastatina comprende un resto de catecol o quinona y es capaz de formar una especie reactiva de oxígeno *in vivo*.

III. Breve descripción de las figuras

La Figura 1 ilustra el volumen tumoral medio (\pm DT) como una función del tiempo para tumores HL60 subcutáneos tratados con CA4P, CA1dP y/o AraC.

Las Figuras 2 y 3 proporcionan volúmenes tumorales individuales para experimentos seleccionados que se resumen en la Figura 1.

La Figura 4 ilustra la actividad de respuesta a la dosis de CA1dP (\pm AraC) frente a células de leucemia.

IV. Descripción detallada

A. Definiciones

Tal como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de fosfato de combretastatina A-4 (CA4P), o una sal terapéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con la presente invención pretende indicar la cantidad del CA4P que inhibirá el crecimiento de, o retrasará el cáncer, o eliminará células malignas, y causará la regresión y una paliación del cáncer, es decir, reducirá el índice de proliferación y/o el número de células malignas dentro del organismo. Otros efectos antitumorales deseados incluyen, sin limitación, la modulación de índices de crecimiento de neoplasias, el aumento de necrosis o hipoxia en células malignas, retención reducida de las CEP y otras células proangiogénicas, mejora o minimización de la alteración o los síntomas clínicos de neoplasias hematopoyéticas, aumento de la supervivencia del sujeto más allá de lo que se esperaría de otro modo en ausencia de al tratamiento, and la prevención del crecimiento neoplásico en un animal que carece de cualquier formación de neoplasia antes que la administración, es decir, 6administración profiláctica.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "modular", "que modula" o "modulación" se refieren al cambio de la velocidad a la que se produce un proceso en particular, inhibición de un proceso en particular, reversión de un proceso en particular, y/o prevención del inicio de un proceso en particular. Por consiguiente, si el proceso en particular es crecimiento neoplásico o metástasis, el término "modulación" incluye, sin limitación, disminución de la velocidad a la que se produce el crecimiento neoplásico y/o metástasis; inhibición del crecimiento neoplásico y/o metástasis, incluyendo recrecimiento del tumor después del tratamiento con un agente anticáncer; reversión del crecimiento neoplásico y/o metástasis (incluyendo disminución y/o erradicación del tumor) y/o prevención del crecimiento neoplásico y/o metástasis.

"Catecol" es cualquier grupo de compuestos opcionalmente sustituidos con grupo funcional arilo y que contienen al menos dos grupos OH en las posiciones orto o para en el anillo de arilo, en el que se forma un sistema conjugado con al menos un enlace C=C. El catecol preferente de la presente invención es un orto-benzocatecol. El término "catecol" también incluye catecoles en forma de profármaco, en los que uno o ambos grupos hidroxilo están sustituidos con un resto que se convierte en hidroxilo de forma metabólica *in vivo*.

"Quinona" es cualquier grupo de compuestos de policetona aromática opcionalmente sustituidos derivados de un compuesto con un resto de arilo. Al menos dos grupos C=O están en la posición orto o para en el anillo de arilo, y forman un sistema conjugado con al menos un enlace C=C. La quinona preferente de la presente invención es una orto-benzoquinona. Las quinonas se pueden sintetizar mediante un número de formas por oxidación de un precursor fenólico tal como orto-catecol. Los reactivos oxidantes usados en la reacción pueden incluir reactivo de Jones (Sales de cromato), sal de Fremy ((KSO₃)₂NO), y similares. Tal oxidación también se puede producir oxidación *in vivo* en virtud de la actividad química o enzimática. El oxidante preferente es el ácido o-yodoxidobenzoico.

"Alquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo alifático saturado monovalente que tienen de 1 a 10 átomos de carbono y preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono. Este término incluye, a modo de ejemplo, grupos hidrocarbilo lineal y ramificado tales como metilo (CH₃-), etilo (CH₃CH₂-), n-propilo (CH₃CH₂CH₂-), isopropilo ((CH₃)₂CH-), n-butilo (CH₃CH₂CH₂CH₂-), isobutilo ((CH₃)₂CHCH₂-), sec-butilo ((CH₃)(CH₃CH₂)CH-), t-butilo ((CH₃)₃C-), n-pentilo (CH₃CH₂CH₂CH₂CH₂-), y neopentilo ((CH₃)₃CCH₂-).

"Alcoxi" se refiere al grupo -O-alquilo, en el que alquilo es tal como se define en el presente documento. Alcoxi incluye, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, t-butoxi, sec-butoxi, n-pentoxi, y similares.

"Arilo" se refiere a un grupo carbocíclico aromático monovalente de 6 a 14 átomos de carbono tiene un solo anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo o antrilo) cuyos anillos condensados

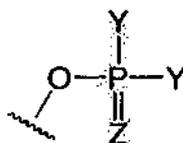
pueden ser aromáticos o no serlo (por ejemplo, 2-benzoxazolinona, 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona-7-ilo, y similares), con la condición de que el punto de unión sea a través de un átomo del grupo arilo aromático. Los grupos arilo preferentes incluyen fenilo y naftilo.

5 "Halo" o "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo, e yodo y son preferentemente fluoro o cloro.

"Hidroxi" o "hidroxilo" se refiere al grupo -OH.

10 Tal como se usa en el presente documento, el término "profármaco" se refiere a una forma precursora del fármaco que se convierte metabólicamente *in vivo* para producir el fármaco activo. Por lo tanto, por ejemplo, las sales profármaco del fosfato de combretastatina administradas a un animal de acuerdo con la presente invención experimentan activación metabólica y regeneran la combretastatina A-1 *in vivo*, por ejemplo, después de la disociación y exposición a fosfatasas no específicas endógenas en el organismo, fármaco que se convierte metabólicamente *in vivo* para producir el fármaco activo. Los profármacos incluyen los grupos fosfato, fosforamidato, o aminoácido acilo tal como se define en el presente documento. El resto de sal de éster de fosfato también puede incluir (-OP(O)(O-alquilo)₂ o (-OP(O)(O-NH₄⁺)₂). Un profármaco puede comprender una sustitución de un resto fenólico o resto de amina del fármaco activo con un grupo fosfato, fosforamidato, o aminoácido acilo. Los expertos en la materia conocen una amplia diversidad de métodos para la preparación de profármacos (véase, por ejemplo, Pettit y Lippert, *Anti-Cancer Drug Design*, (2000), 15, 203-216).

20 Los profármacos de catecol son formas precursoras de los catecoles que se convierten metabólicamente *in vivo* para producir los catecoles correspondientes. El profármaco de catecol puede comprender al menos un fosfato sustituyendo un resto de hidroxilo del catecol, por lo general el resto de fosfato tiene la fórmula general:



25 en la que cada Y es independientemente OR o NHR, S⁻, NH⁻ u O⁻, en los que cada R se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, un catión de metal mono o divalente, un catión de amonio; y Z es O o S.

30 "Neoplasia hematopoyética" se refiere a un trastorno proliferativo celular que surge de células del linaje hematopoyético. Generalmente, la hematopoyesis es el proceso fisiológico a través del cual las células o células madre sin diferenciar se desarrollan en diversas células encontradas en la sangre periférica. En la fase inicial de desarrollo, las células madre hematopoyéticas, por lo general encontradas en la médula ósea, experimentan una serie de divisiones celulares para formar células progenitoras multipotentes del linaje que se comprometen con dos rutas principales de desarrollo: el linaje linfóide y linaje mielóide. Las células progenitoras comprometidas del linaje mielóide se diferencian en tres subramas principales formadas por las rutas de desarrollo de eritroides, megacariocitos, y granulocitos/monocitos. Una ruta adicional conduce a la formación de células dendríticas, que están implicadas en la presentación de antígenos. El linaje eritroide da lugar a los glóbulos rojos de la sangre mientras que el linaje megacariocítico da lugar a las plaquetas de la sangre. Las células comprometidas del linaje de granulocitos/monocitos se dividen en rutas de desarrollo de granulocitos o monocitos, la ruta anterior que conduce a la formación de neutrófilos, eosinófilos, y basófilos y la última ruta que da lugar a los monocitos y los macrófagos de la sangre.

45 Las neoplasias de células hematopoyéticas pueden implicar células en cualquier fase de la hematopoyesis, incluyendo las células madre hematopoyéticas, células progenitoras multipotentes, células progenitoras comprometidas oligopotentes, células precursoras, y células maduras diferenciadas. Las categorías de neoplasias hematopoyéticas por lo general pueden seguir las descripciones y los criterios de diagnóstico usados por los expertos en la materia (véase, *por ejemplo*, la Clasificación Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud (ICD 10), Organización Mundial de la Salud (2003)). Las neoplasias hematopoyéticas también se pueden caracterizar en base a las características moleculares, tales como marcadores de superficie celular y perfiles de expresión de genes, fenotipo celular presentado por las células anómalas, y/o anomalías cromosómicas (*por ejemplo*, supresiones, translocaciones, inserciones, etc.) características de determinadas neoplasias hematopoyéticas, tales como el cromosoma Filadelfia encontrado en la leucemia mielógena crónica. Otras clasificaciones incluyen Formulación de Trabajo del Instituto Nacional del Cáncer (Cancer, 1982, 49: 2112-2135) y Clasificación Europea Americana Revisada de Linfomas (REAL).

La expresión "neoplasia hematopoyética" incluye, pero no se limita a, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia de células pilosas, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, y síndrome mieloplásico.

5 "Neoplasia Mieloide" se refiere a trastorno proliferativo de células del linaje mielóide de hematopoyesis. Las neoplasias pueden surgir de células madre hematopoyéticas, células progenitoras comprometidas mieloides, células precursoras, y células terminalmente diferenciadas. Las neoplasias mieloides se pueden subdividir en base a los atributos fenotípicos de las células anómalas o el estado diferenciado a partir del que surgen las células anómalas. Las subdivisiones incluyen, entre otras, enfermedades mieloproliferativas, enfermedades
10 mielodisplásicas/mieloproliferativas, síndromes mielodisplásicos, leucemia mielóide aguda, y leucemia bifenotípica aguda.

15 "Neoplasia linfoide" se refiere a un trastorno proliferativo que implica células del linaje linfoide de hematopoyesis. Las neoplasias linfoides pueden surgir de células madre hematopoyéticas así como de células progenitoras comprometidas linfoides, células precursoras, y células terminalmente diferenciadas. Estas neoplasias se pueden subdividir en base a los atributos fenotípicos de las células anómalas o el estado diferenciado a partir del que surgen las células anómalas. Las subdivisiones incluyen, entre otras, neoplasias de linfocitos B, neoplasias de linfocitos T, neoplasias de linfocitos NK, y linfoma de Hodgkin. Las células progenitoras comprometidas del linaje linfoide se desarrollan en la ruta de los linfocitos B, ruta de los linfocitos T, o la ruta de linfocitos no T/B. de modo similar al linaje
20 mielóide, aparece una ruta linfoide adicional para dar lugar a células dendríticas implicadas en la presentación de antígenos. La célula progenitora de linfocitos B se desarrolla en un linfocito B precursor (pre-B), que se diferencian en linfocitos B cells responsables de la producción de inmunoglobulinas. Las células progenitoras del linaje de los linfocitos T se diferencian en células T precursoras (pre-T) que, en base a la influencia de determinadas citoquinas, se desarrollan en linfocitos T citotóxicos o auxiliares/supresores implicados en la inmunidad mediada por células. La
25 ruta de linfocitos no T/B conduce a la generación de linfocitos citolíticos naturales (NK).

La expresión "neoplasia hematopoyética" incluye, pero no se limita a, leucemia linfoblástica aguda (ALL), leucemia mielógena aguda (AML), leucemia mielógena crónica (CML), leucemia linfocítica crónica (CLL), leucemia de células pilosas, enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, mieloma múltiple, y síndrome mieloplásico.

30 Tal como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye sales que un sujeto tolera fisiológicamente. Por lo general tales sales se preparan a partir de un ácido inorgánico y/u orgánico. Los ejemplos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, sulfúrico, y fosfórico. Los ácidos orgánicos pueden ser ácidos alifáticos, aromáticos, carboxílicos, y/o sulfónicos. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, fórmico, acético, propiónico, succínico, alcanforsulfónico, cítrico, fumárico, glucónico, láctico, málico, mucico, tartárico, para-toluenosulfónico, glicólico, glucurónico, maleico, furoico, glutámico, benzoico, antranílico, salicílico, fenilacético, mandélico, pamoico, metanosulfónico, etanosulfónico, pantoténico, bencenosulfónico (besilato), esteárico, sulfanílico, algínico, galacturónico, y similares. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen cationes de metales alcalinos tales como Na, K, Li; sales de metales alcalinotérreos tales como Mg o Ca; o sales de amina orgánica tales como las que se desvelan en la Solicitud Internacional de PCT Internacional N^o WO02/22626 o N^o WO00/48606 y en las Patentes de Estados Unidos N^o 6.855.702 y N^o 6.670.344, que se incorporan en el presente documento por referencia en sus totalidades. Las sales particularmente preferentes incluyen sales de amina orgánicas tales como trometamina (TRIS) y sales de aminoácidos tales como histidina. Otras sales a modo de ejemplo que se pueden sintetizar usando los
40 métodos de la invención incluyen las que se describen en la Patente de Estados Unidos N^o 7.018.987, que se incorpora por referencia en el presente documento.

B. Métodos para Tratar Neoplasias Hematopoyéticas

50 La adhesión de células leucémicas a células vasculares puede conferir resistencia a los agentes quimioterapéuticos. Por lo tanto, la alteración de la estabilidad del citoesqueleto celular leucémico y la interferencia con las interacciones de células vasculares debería estimular la muerte de las células leucémicas. De hecho, tal como se desvela con mayor detalle a continuación, dosis bajas y no tóxicas del compuesto de catecol difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP) inhiben la proliferación de células leucémicas *in vitro* e inducen la detención mitótica y la muerte celular.
55 Además, CA1dP aumenta rápidamente las especies reactivas de oxígeno intracelulares (ROS), y el tratamiento antioxidante proporciona una protección parcial de la muerte celular. Como tal, los compuestos de combretastatina que comprenden un resto de catecol o quinona, tal como CA1dP, proporcionan un medio eficaz para tratar leucemias refractarias que infiltran órganos.

60 Por consiguiente, en el presente documento se describe un método para tratar una neoplasia hematopoyética, método que comprende la administración, a un mamífero que padece una neoplasia hematopoyética, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de combretastatina que comprende un resto de catecol o quinona. Preferentemente el compuesto de combretastatina es combretastatina A1, un pro fármaco de la combretastatina A-1 (tal como difosfato de combretastatina A-1), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

65

Derivadas del árbol *Combretum caffrum* sudafricano, las combretastatinas tales como la combretastatina A-4 (CA-4) se identificaron inicialmente en la década de 1980 como inhibidores potentes de la polimerización de tubulina. Se ha mostrado que la CA-4, y otras combretastatinas (por ejemplo, CA-1) se unen al o cerca del sitio de unión de la colchicina en tubulinas con afinidad elevada. Los estudios *in vitro* demostraron claramente que las combretastatinas son agentes citotóxicos potentes frente a un espectro diverso de tipos de células tumorales en cultivo. CA4P y CA1P, respectivos profármacos de fosfato de CA-4 y CA-1, se desarrollaron posteriormente para combatir problemas de insolubilidad acuosa. De forma sorprendente, también se ha mostrado que CA1P causa un cierre rápido y agudo del flujo de sangre al tejido tumoral que es separado y distinto de los efectos antiproliferativos de los agentes sobre en las células tumorales por sí mismas. Una serie de estudios han mostrado que las combretastatinas causan un amplio cierre de flujo de sangre dentro de la microvasculatura tumoral, lo que conduce a la muerte celular del tumor secundario (Dark *et al.*, Cancer Res., 57: 1829-34, (1997); Chaplin *et al.*, Anticancer Res., 19: 189-96, (1999); Hill *et al.*, Anticancer Res., 22(3):1453-8 (2002); Holwell *et al.*, Anticancer Res., 22 (2A): 707-11, (2002). El flujo de sangre a los tejidos normales por lo general se ve mucho menos afectado por CA1P que el flujo de sangre a los tumores, aunque flujo de sangre a algunos órganos, tales como el bazo, piel, músculo esquelético y cerebro, se puede inhibir de forma transitoria.

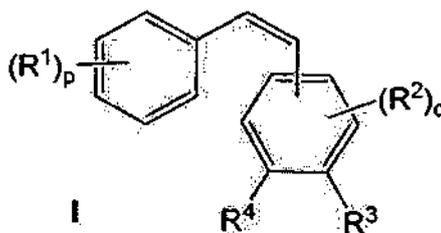
Tal como se usa en el presente documento, el término "combretastatina" o "compuesto de combretastatina" representa al menos uno de la familia de combretastatina de compuestos, derivados o análogos de los mismos, sus profármacos (preferentemente profármacos de fosfato) y derivados de los mismos, y las sales de estos compuestos. Las combretastatinas incluyen aquellos compuestos anticáncer aislados del árbol *Combretum caffrum* sudafricano, incluyendo sin limitación, las Combretastatinas A-1, A-2, A-3, A-4, B-1, B-2, B-3, B-4, D-1, y D-2, y diversos profármacos de los mismos, ejemplificados por compuestos de fosfato de Combretastatina A-4 (CA4P), compuestos de difosfato de Combretastatina A-1 (CA1dP) y sales de los mismos (véase por ejemplo Pettit *et al.*, Can. J. Chem., (1982); Pettit *et al.*, J. Org. Chem., 1985; Pettit *et al.*, J. Nat. Prod., 1987; Lin *et al.*, Biochemistry, (1989); Pettit *et al.*, J. Med. Chem., 1995; Pettit *et al.*, Anticancer Drug Design, (2000); Pettit *et al.*, Anticancer Drug Design, 16 (4-5): 185-93 (2001)).

La combretastatina y las sales de combretastatina contempladas para uso en los métodos de la invención se describen en el documento de patente WO 99/35150; documento de patente WO 01/81355; documento de patente WO 02/022626; Patentes de Estados Unidos N° 4.996.237; N° 5.409.953; N° 5.561.122; N° 5.569.786; N° 6.538.038; N° 6.670.344; N° 6.855.702; N° 7.018.987; N° 7.078.552; y N° 7.279.466. Derivados o análogos de las combretastatinas también se describen en Singh *et al.*, J. Org. Chem., 1989; Cushman *et al.*, J. Med. Chem., 1991; Getahun *et al.*, J. Med. Chem., 1992; Andres *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1993; Manilla, *et al.*, Liebigs. Ann. Chem., 1993; Shirai *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1994; Medarde *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1995; Wood *et al.*, Br. J. Cancer, 1995; Bedford *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996; Dorr *et al.*, Invest. New Drugs, 1996; Jonnalagadda *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996; Shirai *et al.*, Heterocycles, 1997; Aleksandrak, *et al.*, Anticancer Drugs, 1998; Chen *et al.*, Biochem. Pharmacol., 1998; Ducki *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998; Hatanaka *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998; Medarde *et al.*, Eur. J. Med. Chem., 1998; Medina *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998; Ohsumi *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998; Ohsumi *et al.*, J. Med. Chem., 1998; Pettit, *et al.*, J. Med. Chem., 1998; Shirai *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998; Banwell *et al.*, Aust. J. Chem., 1999; Medarde *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1999; Shan *et al.*, PNAS, 1999; Combeau *et al.*, Mol. Pharmacol., 2000; Pettit *et al.*, J. Med. Chem., 2000; Pinney *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000; Flynn *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; Gwaltney *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; Lawrence *et al.*, 2001; Nguyen-Hai *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2001; Xia *et al.*, J. Med. Chem., 2001; Tahir *et al.*, Cancer Res., 2001; Wu-Wong *et al.*, Cancer Res., 2001; Janik *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002; Kim *et al.*, Bioorg Med Chem Lett., 2002; Li *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002; Nam *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002; Wang *et al.*, J. Med. Chem. 2002; Hsieh *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2003; Hadimani *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2003; Mu *et al.*, J. Med. Chem., 2003; Nam *et al.*, Curr. Med. Chem., 2003; Pettit *et al.*, J. Med. Chem., 2003; Gaukroger *et al.*, Org Biomol Chem. 2003; Bailly *et al.*, J Med Chem. 2003; Sun *et al.*, Anticancer Res. 2004; Sun *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2004; Liou *et al.*, J Med Chem. 2004; Perez-Melero *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2004; Liou *et al.*, J Med Chem. 2004; Mamane *et al.*, Chemistry. 2004; De Martini *et al.*, J Med Chem. 2004; Ducki *et al.*, J Med Chem. 2005; Maya *et al.*, J Med Chem. 2005; Medarde *et al.*, J Enzyme Inhib Med Chem. 2004; Simoni *et al.*, J Med Chem. 2005; Sanchez *et al.*, Bioorg Med Chem. 2005; Vongvanich *et al.*, Planta Med. 2005; Tron *et al.*, J Med Chem. 2005; Borrel *et al.*, Bioorg Med Chem. 2005; Hsieh *et al.*, Curr Pharm Des. 2005; Lawrence *et al.*, Curr Pharm Des. 2005; Hadfield *et al.*, Eur J Med Chem. 2005; Pettit *et al.*, J Med Chem. 2005; Coggiola *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2005; Kaffy *et al.*, Org Biomol Chem. 2005; Mateo *et al.*, J Org Chem. 2005; LeBlanc *et al.*, Bioorg Med Chem. 2005; Srivistava *et al.*, Bioorg Med Chem. 2005; Nguyen *et al.*, J Med Chem. 2005; Kong *et al.*, Chem Biol. 2005; Li *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2005; Pettit *et al.*, J Nat Prod. 2005; Nicholson *et al.*, Anticancer Drugs. 2006; Monk *et al.*, Bioorg Med Chem. 2006; De Martino *et al.*, J Med Chem. 2006; Peifer *et al.*, J Med Chem. 2006; Kaffy *et al.*, Bioorg Med Chem. 2006; Banwell *et al.*, Bioorg Med Chem. 2006; Dupeyre *et al.*, Bioorg Med Chem. 2006; Simoni *et al.*, J Med Chem. 2006; Tron *et al.*, J Med Chem. 2006; Romagnoli *et al.*, J Med Chem. 2006; Pandit *et al.*, Bioorg Med Chem. 2006; Nakamura *et al.*, Chem Med Chem. 2006; Pirali *et al.*, J Med Chem. 2006; Bellina *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2006; Hu *et al.*, J Med Chem. 2006; Chang *et al.*, J Med Chem. 2006; Thomson *et al.*, Mol Cancer Ther. 2006; Fortin *et al.*, Bioorg Med Chem Lett., 2007; Duan *et al.*, J Med Chem., 2007; Zhang *et al.*, J Med Chem. 2007; Wu *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2007; Sun *et al.*, Bioorg Med Chem Lett. 2007, documento de patente WO 06/138427; documento de patente WO 036743; documento de patente WO 05/007635, documento de patente WO 03/040077, documento de patente

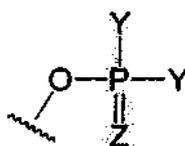
WO 03/035008, documento de patente WO 02/50007, documento de patente WO 02/14329; , documento de patente WO 01/12579, documento de patente WO 01/09103, documento de patente WO 01/81288, documento de patente WO 01/84929, documento de patente WO 00/48590, documento de patente WO 00/73264, documento de patente WO 00/06556, documento de patente WO 00/35865, documento de patente WO 99/34788, documento de patente WO 99/48495, documento de patente WO 92/16486, Patentes de Estados Unidos N° 7.125.906; N° 7.105.695; N° 7.105.501; N° 7.087.627; N° 7.030.123; N° 7.078.552; N° 7.030.123; N° 7.018.987; N° 6.992.106; N° 6.919.324; N° 6.846.192, N° 6.855.702; N° 6.849.656; N° 6.794.384; N° 6.787.672, N° 6.777.578, N° 6.723.858, N° 6.720.323, N° 6.433.012, N° 6.423.753, N° 6.201.001, N° 6.150.407, N° 6.169.104, N° 5.731.353, N° 5.674.906, N° 5.430.062, N° 5.525.632, N° 4.996.237 y N° 4.940.726.

Tal como se describe en el presente documento, la combretastatina comprende una quinona o catecol, preferentemente una ortoquinona u orto-catecol. La oxidación de un orto-catecol, tal como CA1, a una ortoquinona puede dar como resultado daño oxidativo a las células neoplásicas a través de ciclación redox. Este es un proceso en el que la quinona se reduce a un radical (es decir, semiquinona), que a su vez reduce el oxígeno a radicales superóxido con la quinona siendo reformada o ciclada. La generación de un derivado de quinona a partir de CA1 se ha demostrado *in vivo* y se encontró que la quinona reaccionaba rápidamente con los agentes reductores glutatión y ascorbato. Además, el consumo rápido de oxígeno en presencia de ascorbato confirmaba la formación de CA1 quinona. Además, se observó ciclado redox, que confirma la formación de CA1 semiquinona, con CA1.

En el presente documento se describe un compuesto de combretastatina de Fórmula I:

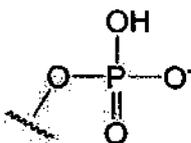


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que
 cada R¹ se selecciona independientemente entre alcoxi C₁₋₆, halógeno y alquilo C₁₋₆ sustituido con halo;
 cada R² se selecciona independientemente entre alcoxi C₁₋₆, halógeno y alquilo C₁₋₆ sustituido con halo;
 p es 1, 2, 3 o 4;
 q es 0, 1 o 2;
 cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre hidroxilo o



en la que
 cada Y es independientemente OR⁵ o NHR⁵, u O⁻, en los que cada R⁵ se selecciona independientemente entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
 Z es O o S.

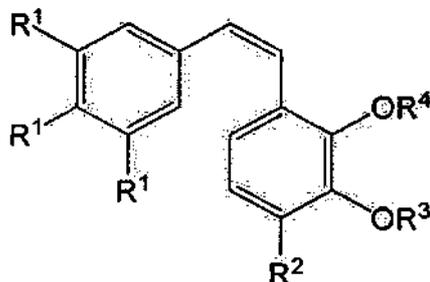
También descrito en el presente documento, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de Fórmula I, en la que cada uno de R³ y R⁴ es un fosfato:



en la que el catión de la sal puede ser un catión divalente o dos cationes monovalentes. Preferentemente, el catión divalente es un catión de metal divalente. En algunas puestas en práctica, el catión monovalente es un metal alcalino, una amina alifática o un amonio. En otras puestas en práctica, el catión monovalente se selecciona entre el grupo que consiste en sodio, TRIS, histidina, etanolamina, dietanolamina, etilendiamina, dietilamina, trietanolamina,

glucamina, N-metilglucamina, etilendiamina, 2-(4-imidazolil)-etilamina, colina, e hidrabamina.

También descrito en el presente documento, la Fórmula I se representa mediante un compuesto de Fórmula II:



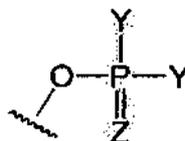
5

en la que

cada R¹ se selecciona independientemente entre alcoxi C₁₋₆, halógeno y alquilo C₁₋₆ sustituido con halo;

R² se selecciona entre alcoxi C₁₋₆, halógeno y alquilo C₁₋₆ sustituido con halo;

10 cada uno de R³ y R⁴ se selecciona independientemente entre hidroxilo o

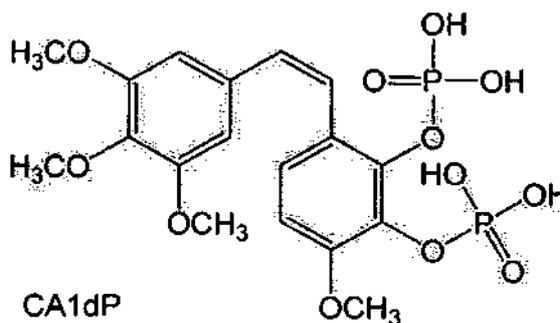


en la que

15 cada Y es independientemente OR⁵ o NHR⁵, u O, en los que cada R⁵ se selecciona independientemente entre hidrógeno y alquilo C₁₋₆;
Z es O o S.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto es el difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP):

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 El método que se describe en el presente documento puede comprender adicionalmente la coadministración de un agente quimioterapéutico, tal como un arabinósido de citosina (Ara-C), al sujeto. La "coadministración" o "que se coadministra" puede ser en forma de una sola formulación (combinando, por ejemplo, CA1dP y Ara-C con excipientes farmacéuticamente aceptables, opcionalmente segregando los dos principios activos en diferentes mezclas de excipientes diseñadas para controlar independientemente sus respectivas tasas de liberación y duraciones) o mediante la administración independiente de formulaciones separadas que contienen los agentes activos. "Coadministración" incluye adicionalmente administración simultánea (por ejemplo, administración de CA1dP y un Ara-C al mismo tiempo) y administración que varía con el tiempo (administración de CA1dP en un momento diferente del de la de Ara-C), siempre y cuando tanto el difosfato de combretastatina A-1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como el agente quimioterapéutico, por ejemplo, Ara-C, estén presentes en el organismo en concentraciones terapéuticamente eficaces durante al menos momentos en que se solapan parcialmente. Encuestas en práctica preferentes, el agente quimioterapéutico es Ara-C, etopósido, tioguanina o ciclofosfamida.

Un "agente quimioterapéutico" es un compuesto químico útil en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes de alquilación tales como tiotepa y CYTOXAN® (ciclofosfamida); sulfonatos de alquilo tales como busulfano, improsulfano y piposulfano; aziridinas tales como benzodopa, carboquona, meturedopa, y uredopa; etileniminas y metilamelaminas incluyendo altretamina, trietilenmelamina, trietilenfosforamida, trietilentiofosforamida y trimetilolomelamina; acetogeninas (especialmente bullatacina y bullatacinona); delta-9-tetrahidrocannabinol (dronabinol, MARINOL®); beta-lapachona; lapachol; colchicinas; ácido betulínico; una camptotecina (incluyendo el análogo sintético topotecán (HYCAMTIN®), CPT-11 (irinotecán, CAMPTOSAR®), acetilcamptotecina, escopolectina, y 9-aminocamptotecina); briostatina; callistatina; 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; espongiastatina; mostazas de nitrógeno tales como clorambucilo, clomafacina, colofosfamida, estramustina, ifosfamida, mecloretamina, clorhidrato de óxido de mecloretamina, melfalán, novembiquina, fenesterina, prednimustina, trofosfamida, mostaza de uracilo; nitrosureas tales como carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, y ranimustina; antibióticos tales como los antibióticos de enedina (por ejemplo, caliqueamicina, especialmente caliqueamicina gamma1 y caliqueamicina omegal1 (véase, por ejemplo, Agnew, Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994))); dinemicina, incluyendo dinemicina A; una esperamicina; así como cromóforo de neocarzinostatina y cromóforos antibióticos de cromoproteína enedina relacionados), aclacinomisinas, actinomicina, autramicina, azaserina, bleomicinas, cactinomicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, cromomicinas, dactinomicina, daunorubicina, detorrubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina (incluyendo ADRIAMYCIN®, morfolino-doxorubicina, cianomorfolino-doxorubicina, 2-pirrolino-doxorubicina, inyección de liposomas de HCl de doxorubicina (DOXIL®) y desoxidoxorubicina), epirubicina, esorubicina, idarrubicina, marcelomicina, mitomicinas tales como mitomicina C, ácido micofenólico, nogalamicina, olivomicinas, peplomicina, potfiromicina, puromicina, quelamicina, rodorubicina, estreptonigrina, estreptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorrubicina; antimetabolitos tales como metotrexato, gemcitabina (GEMZAR®), tegafur (UFTORAL®), capecitabina (XELODA®), una epotilona, y 5-fluorouracilo (5-FU); análogos de ácido fólico tales como denopterina, metotrexato, pteropterina, trimetrexato; análogos de purina tales como fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; análogos de pirimidina tales como ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina (Ara-C), didesoxiuridina, doxiluridina, encitabina, floxuridina; andrógenos tales como calusterona, propionato de dromostanolona, epitioestanol, mepitioestano, testolactona; antiadrenales tales como aminoglucetimidina, mitotano, trilostano; reforzador de ácido fólico tal como ácido frolínico; aceglatona; glicósido de aldofosfamida; ácido aminolevulínico; eniluracilo; amsacrina; bestrabucilo; bisantreno; edatraxato; defofamina; demecoicina; diaziquna; elfornitina; acetato de eliptinio; etolúcido; nitrato de galio; hidroxurea; lentinano; lonidainina; maitansinoides tales como maitansina, y ansamitocinas; mitoguazona; mitoxantrona; mopidanmol; nitraerina; pentostatina; fenamet; pirarrubicina; losoxantrona; 2-etilhidrazida; procarbazona; complejo de polisacáridos PSK® (JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); razoxano; rizoxina; sizofirano; espirogeranio; ácido tenuazónico; triaciuona; 2,2',2"-trichlorotrietilamina; tricotecenos (especialmente toxina T-2, verracurina A, roridina A y anguidina); uretano; vindesina (ELDISINE®, FILDESIN®); dacarbazina; manomustina; mitobronitol; mitolactol; pipobromano; gacitosina; arabinósido ("Ara-C"); tiotepa; taxoides, por ejemplo, paclitaxel (TAXOL®), formulación de nanopartículas obtenidas por ingeniería de albúmina de paclitaxel (ABRAXANE™), y de doxetaxel (TAXOTERE®); clorambucilo; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotrexato; análogos de platino tales como cisplatino y carboplatino; vinblastina (VELBAN®); platino; etopósido (VP-16); ifosfamida; mitoxantrona; vincristina (ONCOVIN®); oxaliplatino; leucovovina; vinorelbina (NAVELBINE®); novantrona; edatrexato; daunomicina; aminopterina; ibandronato; inhibidor de la topoisomerasa RFS 2000; difluorometilmitina (DMFO); retinoides tales como ácido retinoico; sales, ácidos o derivados farmacéuticamente aceptables de cualquiera de los anteriores; así como combinaciones de dos o más de los anteriores tales como CHOP, una abreviatura para una terapia combinada de ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, y prednisolona, y FOLFOX, una abreviatura para un régimen de tratamiento con oxaliplatino (ELOXATIN™) combinado con 5-FU y leucovovina.

Tal como se conoce bien en la técnica, los tumores sólidos son bastante distintos de los tumores no sólidos, tales como los encontrados en los cánceres relacionados hematopoyéticos. Los ejemplos de tumores no sólidos incluyen leucemias, tales como leucemias mieloides y leucemias linfoides, mielomas, y linfomas. En algunas puestas en práctica, el tumor no sólido es una neoplasia hematopoyética, que es el crecimiento anómalo de células del sistema hematopoyético. Las neoplasias hematopoyéticas pueden tener sus orígenes en células madre pluripotentes, células progenitoras multipotentes, células progenitoras comprometidas oligopotentes, células precursoras, y células terminalmente diferenciadas implicadas en la hematopoyesis. Se cree que algunas neoplasias hematológicas surgen a partir de las células madre hematopoyéticas, que tiene la capacidad de autorrenovación. Por ejemplo, las células capaces de desarrollar subtipos específicos de leucemia mieloide aguda (AML) después del trasplante presentan los marcadores de superficie celular las células madre hematopoyéticas, lo que implica a las células madre hematopoyéticas como la fuente de las células leucémicas. Aunque las neoplasias hematopoyéticas a menudo se originan a partir de las células madre, las células progenitoras comprometidas o células diferenciadas de forma más terminal de un linaje de desarrollo también pueden ser la fuente de algunas leucemias. Por ejemplo, la expresión forzada de la proteína de fusión Bcr/Abl (asociada con la leucemia mielógena crónica) en las células progenitoras mieloides o progenitoras de granulocitos/macrófagos comunes produce una afección similar a la leucemia.

Las neoplasias hematopoyética se diferencian de los tumores sólidos en que son capaces de circular y tener acceso a diversos órganos a través de la interacción con células vasculares activadas. De hecho, algunas células

neoplásicas hematopoyéticas se pueden adherir a células vasculares, estableciendo infiltrados perivasculares, y como tal pueden estar dotadas con un mecanismo único de resistencia a la quimioterapia. Las neoplasias hematopoyéticas tanto circulantes como vasculares adherentes requieren la estabilidad del citoesqueleto para mantener la función mitocondrial y celular y evitar la muerte celular. Las dosis bajas y no tóxicas de combretastatinas y compuestos de combretastatina que comprenden un resto de catecol o quinona, pueden inducir de forma selectiva la apoptosis de las células leucémicas de circulación y vasculares unidas, lo que conduce a la muerte celular. Esta inducción de la apoptosis se produce mediante un mecanismo dependiente de caspasas, así como daño mitocondrial mediado por ROS. Por lo tanto, los compuestos de combretastatina que comprenden un resto de catecol o quinona son eficaces en el tratamiento de neoplasias hematopoyéticas, tal como se demuestra mediante su capacidad para dirigir las neoplasias hematopoyéticas *in vitro* e *in vivo* y para erradicar neoplasias hematopoyéticas circulantes, que residen en médula y órganos vasculares adherentes.

También descrito en el presente documento, la neoplasia hematopoyética tratada es una neoplasia linfoide, en la que las células anómalas se derivan de y/o presentan el fenotipo característico de las células del linaje linfoide. Las neoplasias linfoides se pueden subdividir en neoplasias de linfocitos B, neoplasias de linfocitos T y NK, y linfoma de Hodgkin. Las neoplasias de linfocitos B se pueden subdividir adicionalmente en neoplasia de linfocitos B precursores y neoplasia de linfocitos B maduros/periféricos. Las neoplasias de linfocitos B a modo de ejemplo son leucemia/linfoma linfoblástica de linfocitos B precursores (leucemia linfoblástica aguda de linfocitos B precursores) aunque las neoplasias de linfocitos B maduros/periféricos a modo de ejemplo son leucemia linfocítica crónica de linfocitos B/linfoma linfocítico pequeño, leucemia prolinfocítica de linfocitos B, linfoma linfoplasmácito, linfoma esplénico de linfocitos B de la zona marginal, leucemia de células pilosas, mieloma/plasmacitoma de células plasmáticas, linfoma extranodal de linfocitos B de la zona marginal de tipo MALT, linfoma nodal de linfocitos B de la zona marginal, linfoma folicular, linfoma de células del manto, linfoma de linfocitos B grandes y difusos, linfoma de linfocitos B grandes del mediastino, linfoma de efusión primaria, y linfoma de Burkitt/leucemia de células de Burkitt. Las neoplasias de linfocitos T y de linfocitos NK se subdividen adicionalmente en neoplasia de linfocitos T - precursores y neoplasias de linfocitos T maduros (periféricos). La neoplasia de linfocitos T precursores a modo de ejemplo es el linfoma/leucemia de linfocitos linfoblásticos T precursores (leucemia linfoblástica aguda de linfocitos T precursores) aunque las neoplasias de linfocitos T maduros (periféricos) a modo de ejemplo son la leucemia prolinfocítica de linfocitos T, leucemia linfocítica granular de linfocitos T, leucemia agresiva de linfocitos NK, leucemia/linfoma de linfocitos T del adulto (HTLV-1), linfoma extranodal de linfocitos NK/T, linfoma de linfocitos T de tipo enteropático, tipo nasal, linfoma de linfocitos T gamma-delta hepatoesplénico, linfoma de linfocitos T subcutáneo de tipo paniculitis, Micosis fungoides/síndrome de Sezary, Linfoma anaplásico de células grandes, Linfoma de linfocitos T periféricos, linfocitos T/null, de tipo cutáneo primario, no caracterizado de otro modo, Linfoma de linfocitos T angioinmunoblástico, Linfoma de células grandes anaplásico, de linfocitos T/null, de tipo sistémico primario. El tercer miembro de las neoplasias linfoides es el linfoma de Hodgkin, también denominado enfermedad de Hodgkin. El diagnóstico a modo de ejemplo de esta clase que se puede tratar con los compuestos incluye, entre otros, linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular, y diversas formas clásicas de la enfermedad de Hodgkin, miembros a modo de ejemplo de los cuales son el Linfoma de Hodgkin de esclerosis nodular (grados 1 y 2), Linfoma de Hodgkin clásico rico en linfocitos, Linfoma de Hodgkin de celularidad mixta, y Linfoma de Hodgkin con supresión de linfocitos. En la presente invención, la neoplasia hematopoyética no sólida tratada es una neoplasia mielode. Este grupo comprende una gran clase de trastornos proliferativos celulares que implican o que presentan el fenotipo característico de las células del linaje mielode. Las neoplasias mieloides se pueden subdividir en enfermedades mieloproliferativas, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, síndromes mielodisplásicos, y leucemias mieloides agudas. Las enfermedades mieloproliferativas a modo de ejemplo son leucemia mielógena crónica (por ejemplo, Positiva para el cromosoma Filadelfia (t(9;22)(qq34;q11)), leucemia neutrófila crónica, leucemia eosinófila crónica/síndrome hipereosinófilo, mielofibrosis idiopática crónica, policitemia vera, y trombocitopenia esencial. Las enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas a modo de ejemplo son leucemia mielomonocítica crónica, leucemia mielógena crónica atípica, y leucemia mielomonocítica juvenil. Los síndromes mielodisplásicos a modo de ejemplo son anemia refractaria, con sideroblastos en anillo y sin sideroblastos en anillo, citopenia refractaria (síndrome mielodisplásico) con displasia del linaje múltiple, anemia refractaria (síndrome mielodisplásico) con exceso de blastos, síndrome de 5q, y síndrome mielodisplásico. En diversas puestas en práctica, cualquiera de las neoplasias mieloides no sólidas se pueden tratar con los compuestos de combretastatina de la invención.

En algunas puestas en práctica, los compuestos de combretastatina de la invención se pueden usar para tratar leucemias mieloides agudas (AML), que representan una gran clase de neoplasias mieloides que tiene su propia subdivisión de trastornos. Estas subdivisiones incluyen, entre otras, las AML con translocaciones citogenéticas recurrentes, AML con displasia de linaje múltiple, y otras AML no clasificadas de otro modo. Las AML a modo de ejemplo con translocaciones citogenéticas recurrentes incluyen, entre otras, AML con t(8;21)(q22;q22), AML1 (CBF-alfa)/ETO, Leucemia promielocítica aguda (AML con t(15;17)(q22;q11-12) y variantes, PML/RAR-alfa), AML con eosinófilos de médula ósea anómalos (inv(16)(p13q22) o t(16;16)(p13;q11), CBFb/MYH11X), y AML con anomalías en 11q23 (MLL). Las AML con displasia de linaje múltiple a modo de ejemplo son aquéllas que están asociadas con o sin síndrome mielodisplásico anterior. Otras leucemias mieloides agudas no clasificadas dentro de ningún grupo definible incluyen, AML mínimamente diferenciada, AML sin maduración, AML con maduración, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia monocítica aguda, leucemia eritroide aguda, leucemia megacariocítica aguda, leucemia basofílica aguda, y panmielosis aguda con mielofibrosis.

Un aspecto de la invención es una composición farmacéutica útil para el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en un mamífero en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia mielóide, cuya composición comprende difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable. La composición se prepara de acuerdo con técnicas conocidas de formulación para proporcionar una composición adecuada para administración oral, tópica, transdérmica, rectal, por inhalación, parenteral (intravenosa, intramuscular, o intraperitoneal), y similares. La orientación detallada para la preparación de composiciones de la invención se encuentra por referencia a la 18ª o la 19ª Edición de Remington's Pharmaceutical Sciences, Publicada por Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18040. En determinadas puestas en práctica, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un agente quimioterapéutico, tal como Ara-C, etopósido, tioguanina o ciclofosfamida.

Se contemplan formas de dosis individuales o de dosis múltiples, cada una ofreciendo ventajas en determinadas situaciones clínicas. La dosis individual contendría una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto o efectos deseados en la situación de tratamiento del cáncer. La forma de dosis múltiple puede ser particularmente útil cuando se requieren múltiples dosis individuales, o dosis fraccionadas, para conseguir los finales deseados. Cualquiera de estas formas de dosificación puede tener requisitos que los dicta o dependen directamente de la característica única del compuesto en particular, el efecto terapéutico en particular a conseguir, y cualquier limitación inherente en la técnica para preparar el compuesto en particular para el tratamiento del cáncer.

Una dosis individual contendrá una cantidad terapéuticamente eficaz suficiente para el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia mielóide en un sujeto y puede contener de aproximadamente 1,0 a 1000 mg de compuesto, por ejemplo de aproximadamente 50 a 500 mg.

El compuesto de combretastatina se administra preferentemente por vía parenteral, por ejemplo, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía intravenosa, por vía subcutánea, o por vía intraperitoneal. El vehículo o excipiente o mezcla de excipientes puede ser un disolvente o un medio de dispersión que contiene, por ejemplo, diversos disolventes polares o no polares, mezclas adecuadas de los mismos, o aceites. Tal como se usa en el presente documento "vehículo" o "excipiente" se refiere a un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable e incluye todos y cada uno de los disolventes, agentes o medios de dispersión, revestimiento o revestimientos, agentes antimicrobianos, agentes iso/hipo/hipertónicos, agentes para la modificación de la absorción, y similares. El uso de tales sustancias y los agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en tanto que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla el uso en composiciones terapéuticas. Además, también se pueden incorporar otros principios activos complementarios en la composición final.

Las soluciones del compuesto se pueden preparar en diluyentes adecuados tales como agua, etanol, glicerol, polietilenglicol o polietilenglicoles líquidos, diversos aceites, y/o mezclas de los mismos, y otros conocidos por los expertos en la materia.

Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones estériles, dispersiones, emulsiones, y polvos estériles. La forma final debe ser estable en condiciones de preparación y almacenamiento. Además, la forma farmacéutica final se debe proteger frente a la contaminación y, por lo tanto, debe ser capaz de inhibir el crecimiento de microorganismos tales como bacterias u hongos. Se puede administrar una sola dosis intravenosa o intraperitoneal. Como alternativa, se puede usar una infusión lenta a largo plazo o múltiples infusiones diarias a corto plazo, por lo general que duran de 1 a 8 días. También se puede usar dosificación en días alternos o una vez cada varios días.

Las soluciones inyectables, estériles se preparan mediante la incorporación de un compuesto en la cantidad necesaria en uno o más disolventes apropiados a los que se pueden añadir, si fuera necesario, otros ingredientes enumerados anteriormente o conocidos por el experto en la materia. Las soluciones inyectables estériles se preparan mediante la incorporación del compuesto en la cantidad necesaria en el disolvente apropiado con otros ingredientes varios si fuera necesario. A continuación siguen procedimientos de esterilización, tales como filtración. Por lo general, se preparan dispersiones mediante la incorporación del compuesto en un vehículo estéril que también contiene el medio de dispersión y los otros ingredientes necesarios tal como se ha indicado anteriormente. En el caso de un polvo estéril, los métodos preferentes incluyen secado al vacío o secado por liofilización a los que se añade cualquier ingrediente necesario.

En todos los casos, la forma final, tal como se ha indicado, debe ser estéril y también debe ser capaz de pasar fácilmente a través de un dispositivo para inyección tal como una aguja hueca. La viscosidad apropiada se puede conseguir y mantener mediante la elección apropiada de solventes o excipientes. Además, se pueden tener en cuenta el uso de revestimientos moleculares o de partículas tales como lecitina, la selección apropiada del tamaño de partícula en dispersiones, o el uso de materiales con propiedades tensioactivas.

La prevención o la inhibición del crecimiento de microorganismos se puede conseguir a través de la adición de uno o más agentes antimicrobianos tales como clorobutanol, ácido ascórbico, parabenos, timerosal, o similares. También puede ser preferente incluir agentes que alteren la tonicidad tales como azúcares o sales.

El compuesto de combretastatina también se puede administrar por vía oral en una formulación adecuada como un comprimido ingerible, un comprimido bucal, cápsula, comprimido encapsulado, elixir, suspensión, jarabe, trocisco, oblea, pastilla para chupar, y similares. Generalmente, la formulación más sencilla es un comprimido o cápsula (denominada de forma individual o colectiva "unidad de dosificación oral"). Las formulaciones adecuadas se preparan de acuerdo con una técnica de formulación convencional disponible que combina las características del compuesto con los excipientes disponibles para la formulación de una composición apropiada. Un comprimido o cápsula contendrán preferentemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 500 mg de tal compuesto de combretastatina.

La forma puede administrar un compuesto rápidamente o puede ser una preparación de liberación sostenida. El compuesto se puede encerrar en una cápsula dura o blanda, se puede prepara por compresión en comprimidos, o se puede incorporar con bebidas, alimento o de otro modo en la dieta. El porcentaje de la composición final y las preparaciones puede variar, por supuesto, y puede estar de forma conveniente en el intervalo entre un 1 y un 90 % del peso de la forma final, por ejemplo, comprimido. La cantidad en tales composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosificación adecuada. Las composiciones preferentes de acuerdo con la invención actual se preparan de modo que una forma individual de dosificación oral contenga entre aproximadamente 5.0 a aproximadamente un 50 % en peso (% en p) en unidades de dosificación que pesan entre 5 y 1000 mg.

La formulación adecuada de una unidad de dosificación oral también puede contener: un aglutinante, tal como goma de tragacanto, goma arábica, almidón de maíz, gelatina; agentes edulcorantes tales como lactosa o sacarosa edulcorantes; agentes disgregantes tales como almidón de maíz, ácido algínico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; o agente aromatizantes tal como menta, aceite de gaulteria o similares. Otros materiales diversos pueden estar presentes como revestimiento o para modificar de otro modo la forma física de la unidad de dosificación oral. La unidad de dosificación oral se puede revestir con goma laca, un azúcar o ambos. El jarabe o elixir puede contener el compuesto, sacarosa como un agente edulcorante, metilo y propilparabenos como un conservante, un colorante y aromatizante. Cualquier material usado debería ser farmacéuticamente aceptable y básicamente no tóxico. Los detalles de los tipos de excipientes útiles se pueden encontrar en la decimonovena edición de "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," Mack Printing Company, Easton, Pa. En particular véanse los capítulos 91-93 para un análisis más completo.

Otro aspecto de la presente invención es una cantidad terapéuticamente eficaz de difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en un animal de sangre caliente en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia mieloides. Un compuesto de combretastatina útil en la presente invención se administra a un sujeto apropiado con necesidad de estos agentes en una dosis terapéuticamente eficaz mediante una vía de administración médicamente aceptable tal como por vía oral, por vía parenteral (por ejemplo, por vía intramuscular, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía interperitoneal), por vía transdérmica, por vía rectal, por inhalación y similares.

Con los mamíferos, incluyendo seres humanos, las cantidades eficaces se pueden administrar en base al área de superficie corporal. La interrelación de las dosificaciones varía para animales de diversos tamaños y especies, y para seres humanos (en base a mg/m² de superficie corporal) se describe en E. J. Freireich *et al.*, Cancer Chemother. Rep., 50 (4): 219 (1966). El área de superficie corporal se puede determinar aproximadamente a partir de la altura y el peso de un individuo (véase, por ejemplo, Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N.Y. páginas 537-538 (1970)). Un intervalo de dosis adecuado es de 1 a 1000 mg de equivalente por m² de área de superficie corporal de un compuesto de la invención, por ejemplo de 50 a 500 mg/m².

Otra característica importante del compuesto para uso de acuerdo con la presente invención se refiere a la toxicidad global aparente relativamente baja de los derivados administrados de acuerdo con las enseñanzas en el presente documento. La toxicidad global se puede juzgar usando diversos criterios. Por ejemplo, la pérdida de peso corporal en un sujeto superior a un 10 % del peso corporal registrado inicialmente (es decir, antes del tratamiento) se puede considerar como un signo de su toxicidad. Además, la pérdida de movilidad general y la actividad y los signos de diarrea o cistitis en un sujeto también se pueden interpretar como evidencia de toxicidad.

V. Ejemplos

A. EJEMPLO 1: Modelo subcutáneo de leucemia *in vivo*

Se inyectaron HL60 (1 X 10⁷ células en 0,1 ml) por vía subcutánea en el dorso de ratones nu/nu atímicos de 4-6 semanas de edad (Southern Research Institute). Cuando los tumores palpables eran evidentes (volumen tumoral medio de 100 mm³; es decir aproximadamente 12 días después de la inoculación), se clasificaron de forma aleatoria 6 grupos experimentales de ratones. El tratamiento comenzó de acuerdo con los siguientes regímenes:

| Grupo | Animales | Compuesto | Dosis | Programa de Tratamiento |
|-------|----------|----------------|------------------------------|--|
| 1 | 10 | Control (PBS) | 0 | Q4D x 2/2 semanas (DT) - Q3Hx3 () |
| 2 | 10 | CA1dP | 75 mg/kg/inj | Q7D x 2 (DT + 1) |
| 3 | 10 | CA4P | 75 mg/kg/inj | Q7D x 2 (DT + 1) |
| 4 | 10 | Ara-C | 20 mg/kg/inj | Q4D x 2/2 semanas (DT) - Q3Hx3 () |
| 5 | 10 | CA1dP Ara-C | 75 mg/kg/inj 20 mg/kg/inj | Q7D x 2 (DT + 1) Q4D x 2/2 semanas (DT) - Q3Hx3 () |
| 6 | 10 | CA4P Ara-C | 75 mg/kg/inj 20 mg/kg/inj | Q7D x 2 (DT + 1) Q4D x 2/2 semanas (DT) - Q3Hx3 () |

5 El volumen del tumor se midió tres veces a la semana hasta que se alcanzó el punto final (volumen del tumor > 3000 mm³), o durante 90 días después del tratamiento. El tratamiento con Ara-C solo mostró una pequeña mejoría con respecto al tratamiento con solución salina tamponada con fosfato (control). El tratamiento con CA4P como un solo agente mostró un retraso del crecimiento tumoral y un aumento de la esperanza de vida en comparación con los controles (Véase la Figura 1). El tratamiento con un profármaco de ortoquinona, CA1dP, demostró disminuciones básicas en el volumen tumoral y cinco regresiones completas de tumor en una población de diez ratones tratados (Figura 2). La adición de Ara-C a CA1dP disminuyó adicionalmente los volúmenes tumorales y condujo a seis regresiones completas de diez ratones tratados (Figura 3).

A. EJEMPLO 2: Actividad de Respuesta a la Dosis

15 Se inyectaron HL60 (1 X 10⁷ células en 0,1 ml) por vía subcutánea en el dorso de ratones nu/nu atímicos de 4-6 semanas de edad (Southern Research Institute). Cuando los tumores palpables eran evidentes (volumen tumoral medio de 100 mm³; es decir aproximadamente 12 días después de la inoculación), se clasificaron diez grupos experimentales de ratones de forma aleatoria, cada uno con 10 animales. El tratamiento comenzó de acuerdo con los siguientes regímenes:

| Grupo | Compuesto | Dosis | Programa de Tratamiento |
|-------|---------------|-------------------------------|--|
| 1 | Control | 0 mg/kg/inj | |
| 2 | CA1dP | 75 mg/kg/inj | días 3 y 10 |
| 3 | CA1dP | 25 mg/kg/inj | días 3 y 10 |
| 4 | CA1dP | 10 mg/kg/inj | días 3 y 10 |
| 5 | CA1dP | 2,5 mg/kg/inj | días 3 y 10 |
| 6 | Ara-C | 20 mg/kg/inj | tres veces al día los días 1, 4, 8 y 12 |
| 7 | Ara-C + CA1dP | 20 mg/kg/inj 75 mg/kg/inj | tres veces al día los días 1, 4, 8 y 12 días 3 y 10 |
| 8 | Ara-C + CA1dP | 20 mg/kg/inj 25 mg/kg/inj | tres veces al día los días 1, 4, 8 y 12 días 3 y 10 |
| 9 | Ara-C + CA1dP | 20 mg/kg/inj 10 mg/kg/inj | tres veces al día los días 1, 4, 8 y 12 días 3 y 10 |
| 10 | Ara-C + CA1dP | 20 mg/kg/inj 2,5 mg/kg/inj | tres veces al día los días 1, 4, 8 y 12 días 3 y 10 |

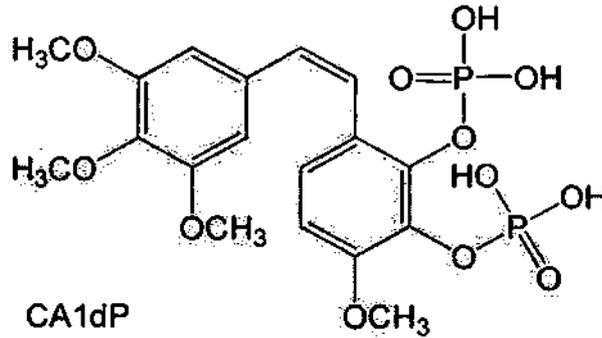
20 El volumen del tumor se midió tres veces a la semana. Las disminución del volumen del tumor mostró una clara relación de respuesta a la dosis con respecto a la dosis administrada de CA1dP (Véase la Figura 4), la administración de dosis de CA1dP superiores a 2,5 mg/kg mostraron una actividad antitumoral significativa. Aunque el número de respuestas completas no se vio alterado de forma significativa por la combinación con araC, los tumores mostraron una inhibición del crecimiento más duradera después del tratamiento con CA1dP y araC en comparación con los tumores tratados con CA1dP solo.

25 Diversas modificaciones y variaciones del método y sistema de la invención descritos serán evidentes para los expertos en la materia sin apartarse del alcance y el espíritu de la invención. Aunque la invención se ha descrito en conexión con realizaciones preferentes específicas, se debería entender que la invención tal como se reivindica no

se debería limitar en exceso a tales realizaciones específicas. De hecho, se pretende que diversas modificaciones de los modos descritos para realizar la invención que son evidentes para los expertos en la materia estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de combretastatina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de una neoplasia hematopoyética no sólida en el que la neoplasia hematopoyética es una neoplasia mieloide, y en el que el compuesto de combretastatina es el difosfato de combretastatina A-1 (CA1dP):



- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en la que el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable, en la que el catión de la sal puede ser un catión divalente o dos cationes monovalentes.
3. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en la que el catión divalente es un catión de metal divalente.
4. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en la que el catión monovalente es un metal alcalino, una amina alifática o un amonio.
5. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en la que el catión monovalente se selecciona entre el grupo que consiste en sodio, TRIS, histidina, etanolamina, dietanolamina, etilendiamina, dietilamina, trietanolamina, glucamina, N-metilglucamina, etilendiamina, 2-(4-imidazolil)-etilamina, colina, e hidrabamina.
6. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en la que la neoplasia mieloide es una leucemia mieloide aguda (AML).
7. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en la que la neoplasia mieloide es una leucemia refractaria que infiltra órganos.
8. El compuesto para uso según la reivindicación 1, en la que la sal farmacéuticamente aceptable es una sal potásica de difosfato de combretastatina A-1.
9. El compuesto para uso según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente un agente quimioterapéutico.
10. El compuesto para uso según la reivindicación 9, en la que el agente quimioterapéutico es Ara-C, etopósido, tioguanina o ciclofosfamida.

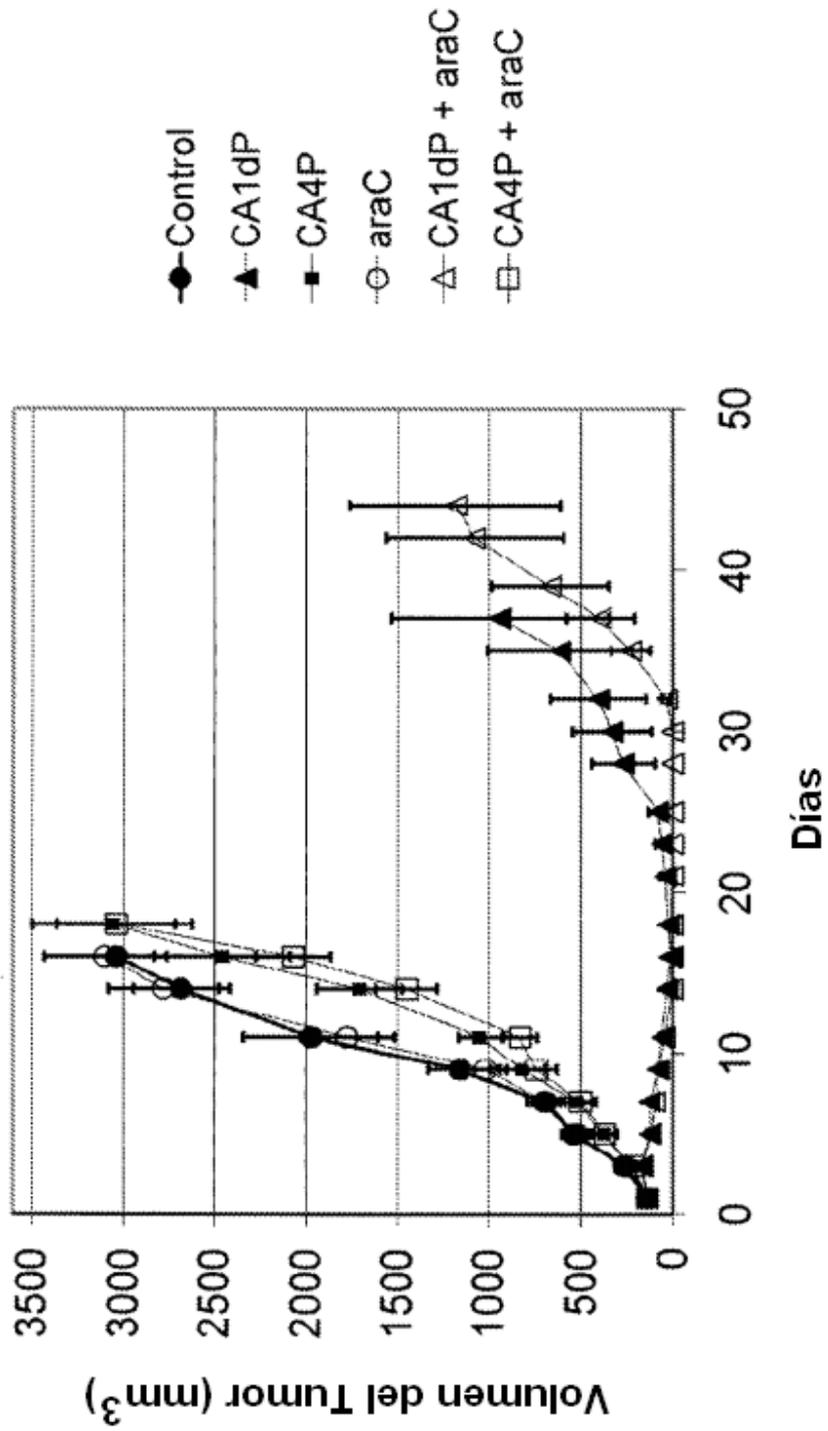


FIGURA 1

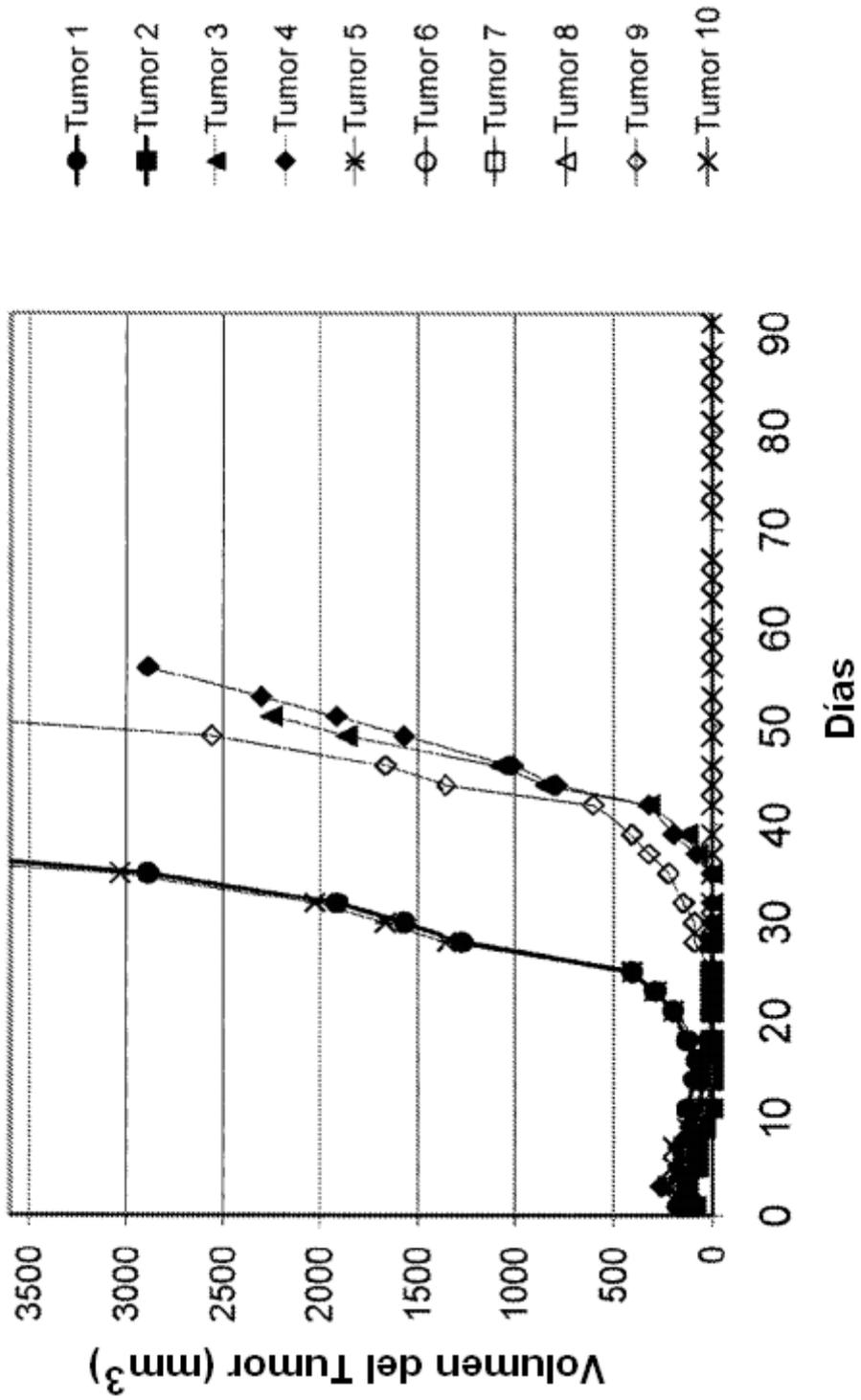


FIGURA 2

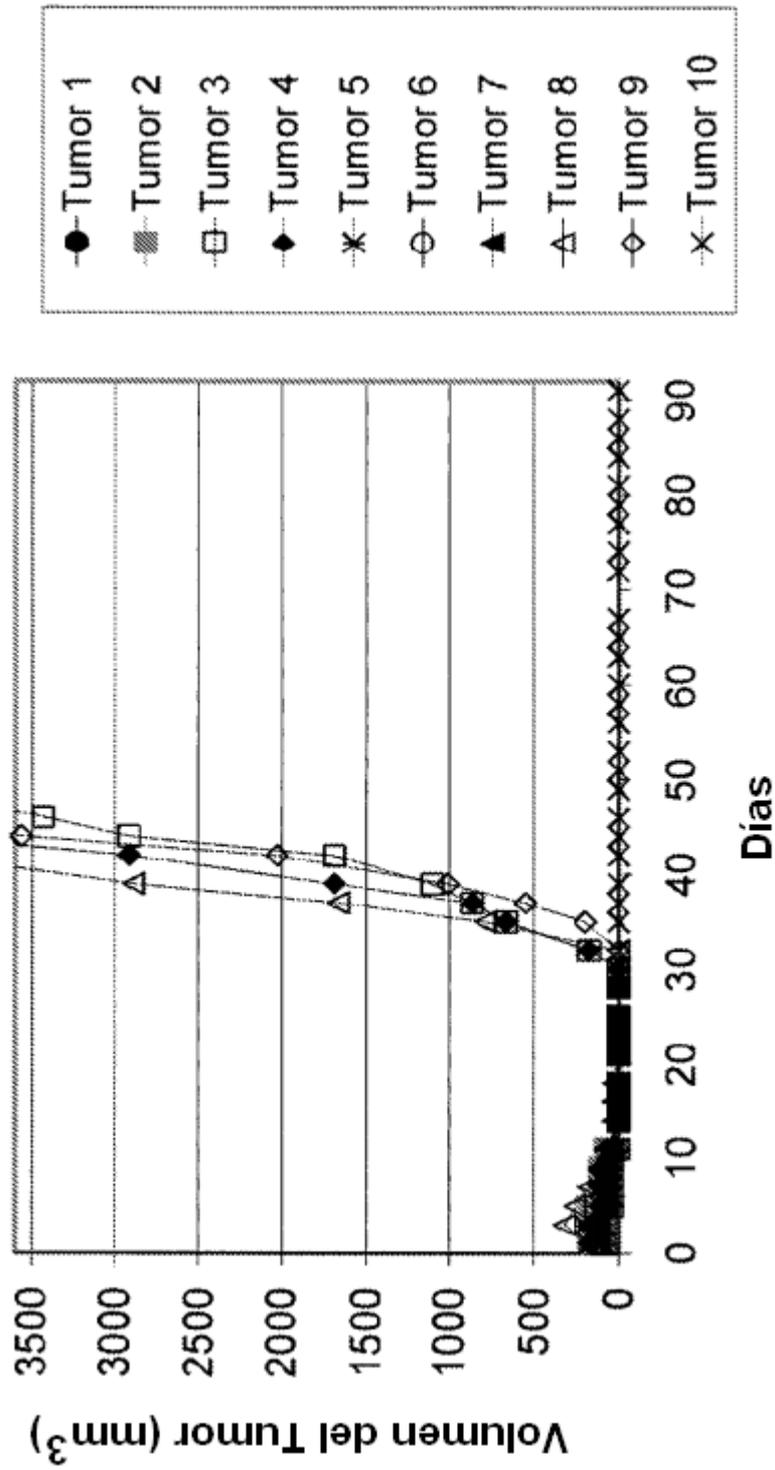


FIGURA 3

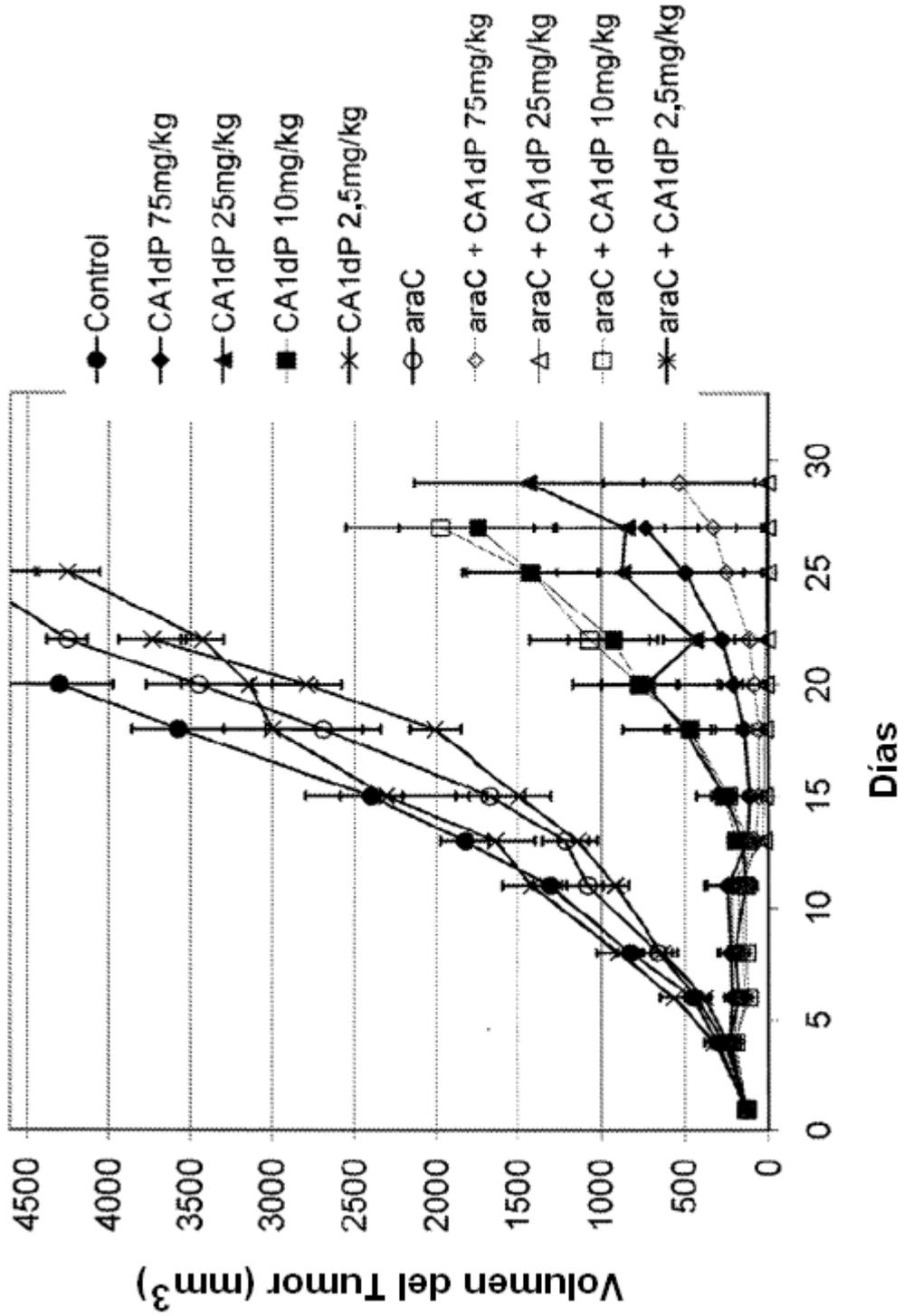


FIGURA 4