

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 552 163**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/6561** (2006.01)

**A61K 31/665** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.05.2010 E 10719188 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.08.2015 EP 2427467**

54 Título: **Profármacos de triptolida**

30 Prioridad:

**07.05.2009 US 176249 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.11.2015**

73 Titular/es:

**REGENTS OF THE UNIVERSITY OF MINNESOTA  
(100.0%)  
1000 Westgate Drive, Suite 160  
St. Paul, Minnesota 55114-8658, US**

72 Inventor/es:

**GEORG, INGRID GUNDA;  
PATIL, SATISH PRAKASH;  
SALUJA, ASHOK K.;  
CHUGH, ROHIT y  
VICKERS, SELWYN M.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 552 163 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

Profármacos de triptolida

5 **Antecedentes de la invención**

10 El cáncer pancreático es una enfermedad particularmente agresiva y devastadora con una proporción de supervivencia de cinco años de menos del 5 %. Ningún tratamiento de fármaco efectivo está actualmente disponible que pueda prolongar efectivamente la supervivencia del paciente. En 2006, más de 35.000 nuevos casos de cáncer pancreático fueron reportados con un número casi igual que sucumben a la enfermedad. Se ha investigado la resistencia a apoptosis como un factor clave para impedir la respuesta en pacientes a terapias para tratar cáncer pancreático y otros cánceres.

15 La triptolida o es un compuesto que se presenta en la naturaleza obtenido de la planta *Tripterygium wilfordii*. Se sabe que la triptolida es útil en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante (inmunosupresión), y posee efectos anti-cáncer y anti-fertilidad también como otros efectos biológicos (Qui and Kao, 2003, Drugs R.D. 4, 1-18). La triptolida tiene fuertes efectos antitumorales contra tumores de xenoinjerto (por ejemplo, Yang et al. Mol. Cancer Ther, 2003, 2, 65-72). La triptolida es un agente antiapoptótico con múltiples objetivos celulares que están implicados en el crecimiento y metástasis de cáncer. La triptolida inhibe la activación de NF- $\kappa$ B, induce la escisión de bid, bloquea la inducción del gen de supervivencia p21 WAF1<sup>Cip1</sup> (Wang et al. Journal of Molecular Medicine, 2006, 84, 405-415) e inhibe la función del factor 1 de transcripción de choque térmico (HSF1) suprimiendo mediante esto la expresión endógena del ge Hsp70 (Westerheide et al. 2006, Journal of Biological Chemistry, 281, 9616-9622). La triptolida también funciona como un inhibidor de angiogénesis de tumor potente (He et al. 2010, Int. Journal de Cancer, 126, 266-278).

25 Existen varios mecanismos en células vivientes que protegen contra condiciones adversas, incluyendo células de cáncer. La síntesis de una familia de proteínas denominadas como proteínas de choque térmico (HSP) es uno de tales mecanismos protectores. Las HSP mayores incluyen HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 y HSP más pequeñas. Las HSP pueden estar presentes en la mayoría de compartimientos intracelulares, con HSP70 que está ubicado principalmente en citosol.

30 Se sabe que la expresión con regulación alterada de HSP70 está asociada con muchas enfermedades incluyendo cánceres. HSP70 es expresada abundantemente en tumores malignos de varios orígenes (por ejemplo: Hantschel et al. 2000, Cell Stress Chaperones, 5, 438-442), que vuelven a las células de tumor resistentes a terapia y prognosis deficiente para el paciente (Fuqua et al. 1994, Breast Cancer Res, Treatment 32, 67-71). Se sabe que la proteína de choque térmico 70 (Hsp70) es regulada ascendentemente y sobre-expresada en células de cáncer pancreático en comparación con células normales. Además, HSP70 tiene un efecto protector sobre células de cáncer inhibiendo la apoptosis de las células. La inhibición de HSP70 en células de cáncer pancreático ha demostrado incrementar la muerte de célula apoptótica de estas células (véase por ejemplo Aghdassi et al., Cancer Research, 67(2) p.616-625 (2007)). Se ha demostrado que la triptolida inhibe el crecimiento y metástasis de tumor pancreático en ratones. También se demostró que la triptolida, cuando usado en combinación con radiación de ionización su efecto terapéutico en el tratamiento de cáncer pancreático es mejorado (Wang et al. Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 2006, 47, abstract #4720 y Wang et al. Clin. Cancer Res. 2007, 13, 4891-4899). Se cree que el efecto anti-cáncer asociado con triptolida ocurre como resultado de reducir los niveles de la proteína HSP70 expresada en cantidades significativas por células de cáncer pancreático en comparación con células pancreáticas normales. Así, las terapias con triptolida han sido de interés en el campo médico por su tratamiento potencial de cánceres que sobre-expresan HSP70, incluyendo cáncer pancreático. Véase por ejemplo, Phillips et al., Cancer Research, 67(19), p.9407-16 (2007). El documento 1552829 A1 proporciona derivados de triptolida hidrosolubles que tienen una actividad inmunosupresora elevada, métodos para la preparación de derivados de triptolida y su uso en el tratamiento de enfermedades que se correlacionan con inmunosupresión. El documento WO 2008/014602 A1 divulga que determinados quinolin-8-il-oximetil fosfatos son profármacos de las 8-hidroxiquinolinas útiles como inhibidores de CLK-1.

55 Sin embargo, hay ciertas desventajas asociadas con la administración de triptolida y se han explorado diferentes soluciones para tratar estos problemas. Un problema asociado con la triptolida natural es que es insoluble en solución acuosa. Otro problema asociado con triptolida natural es pobre biodisponibilidad y efectos secundarios tóxicos. La triptolida, derivados de triptolida y ciertos profármacos que tienen solubilidad mejorada y toxicidad reducida son conocidos. Por ejemplo, Dai et al. patente estadounidense N° 6.548.537 describe profármacos de triptolida que tienen solubilidad incrementada y toxicidad reducida.

60 La porción de fosfonoximetilo per se es conocida en el arte por propósitos de formar compuestos de profármaco de ciertos compuestos farmacéuticos. Por ejemplo, Krise et al., J. Med. Chem., 42, pp.3094-3100 (1999) describe la preparación de profármacos de N-fosfonoximetilo de ciertos compuestos para mejorar la solubilidad en agua.

65 No obstante, los profármacos deben poseer un número de propiedades con el fin de ser prácticamente útiles. Por ejemplo, los profármacos deseables deben ser estables para formulación y administración. Adicionalmente, una vez

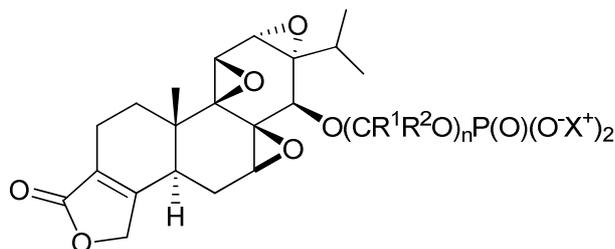
administrados y presentes en el sistema del receptor, el profármaco debe ser activado exitosamente. Además, tanto el profármaco como el compuesto activado deben ser compatibles con los fluidos biológicos, tales como plasma y homogeneizados de tejido. Finalmente, el compuesto activado alimentado inicialmente en forma de profármaco debe tener su efecto terapéutico o farmacéutico deseado. Estos y otros factores pueden ser difíciles de obtener simultáneamente, o equilibrarse colectivamente, con ciertos tipos de compuestos. En el contexto de triptolida y compuestos de profármaco de triptolida ha sido difícil obtener solubilidad acuosa mejorada, biodisponibilidad efectiva para formas de dosificación oral, liberación *in vivo* más rápida de triptolida, y toxicidad relativamente reducida o más baja en combinación con inhibición significativa de crecimiento de células de cáncer. Por ejemplo, véase Chassaing et al., Highly Water-Soluble Prodrugs of Anthelmintic Benzimidazole Carbamates: Synthesis, Pharmacodynamics and Pharmacokinetics, J. Med. Chem., 51(5), pp.1111-1114 (2008).

Las formas de profármaco de succinato de triptolida son conocidas, pero han sido asociadas con ciertas desventajas. Véase, por ejemplo, Harrousseau et al., Haematologica 2008, 93(s1), 14 Abstract 0038 and Kitzen et al. European Journal of Cancer 2009, 45, 1764-1772. Se ha observado la conversión incompleta y variable del profármaco de succinato de triptolida.

Así, existe una necesidad en los campos médicos y farmacéuticos por terapéuticos mejorados para tratar cánceres incluyendo cánceres de tumores sólidos agresivos, tales como cáncer pancreático. También existe la necesidad adicional de una administración mejorada o parámetros farmacocinéticos mejorados o toxicidad reducida de tales terapéuticos. También existe la necesidad de formas de profármaco de triptolida que tengan solubilidad mejorada o que tengan una liberación más rápida del compuesto activo triptolida o que tengan una liberación más terapéuticamente efectiva del compuesto activo triptolida o para formas de profármaco de triptolida con biodisponibilidad mejorada.

## 25 Sumario de la invención

Así, la invención provee un compuesto de la invención que es un compuesto de fórmula I:



30 en la que:

cada R<sup>1</sup> es independientemente H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-, cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o arilo; y cada R<sup>2</sup> es independientemente H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-, cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o arilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> junto con el átomo al cual están anexados forman un cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>); en donde cualquier alquilo o cicloalquilo de R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) seleccionados de halo, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup> y en el que cualquier arilo de R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o 5) seleccionados de halo, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, nitro y ciano; R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> son cada uno seleccionados independientemente de H, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) y arilo; o R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> junto con el nitrógeno al cual están unidos forman un pirrolidino, piperidino, piperazino, azetidino, morfolino o tiomorfolino; n es 1, 2 o 3; y cada X es H;

o una sal del mismo.

La invención también provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La invención también provee un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia médica.

La invención también provee un método para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cáncer pancreático, carcinoma de vías biliares, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer de mama, mieloma, cáncer gástrico, cáncer de hígado, glioblastoma, cáncer de ovarios, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer cervical o tumores de linfoma) en un mamífero (por ejemplo, un humano), que comprende administrar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al mamífero (por ejemplo, un humano).

La invención también provee un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de cáncer (por ejemplo, cáncer pancreático, carcinoma de vías biliares, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer de mama, mieloma, cáncer gástrico, cáncer de hígado, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer cervical o tumores de linfoma).

La invención también provee el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cáncer pancreático, carcinoma de vías biliares, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer de mama, mieloma, cáncer gástrico, cáncer de hígado, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer cervical o tumores de linfoma) en un mamífero (por ejemplo, un humano).

La invención también provee un método para inhibir el crecimiento de células de cáncer en un cáncer que expresa HSP70 (por ejemplo, cáncer pancreático, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de hígado o glioblastoma) en un mamífero (por ejemplo, un humano) que comprende administrar una cantidad inhibidora efectiva de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, al mamífero (por ejemplo, un humano).

La invención también provee un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la inhibición profiláctica o terapéutica de crecimiento de célula de cáncer en un cáncer que expresa HSP70 (por ejemplo, cáncer pancreático, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de hígado o glioblastoma).

La invención también provee el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la manufactura de un medicamento para la inhibición de crecimiento de célula de cáncer en un cáncer que expresa HSP70 (por ejemplo, cáncer pancreático, neuroblastoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de hígado o glioblastoma) en un mamífero (por ejemplo, un humano).

La invención también provee nuevos procesos y nuevos intermedios revelados en la presente que son útiles para preparar compuestos de fórmula I o sales de los mismos, por ejemplo aquellos descritos en los Esquemas de Reacción 1-2.

### **Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 ilustra un diagrama de reacción química para preparar el compuesto 1.

La Figura 2 ilustra un diagrama de reacción química que muestra la triptolida que es derivado al compuesto 1 y la posterior escisión enzimática - rotura química del compuesto 1 para liberar triptolida.

La Figura 3 ilustra la conversión enzimática *in vitro* del profármaco de triptolida (compuesto 1 a triptolida).

La Figura 4 ilustra los efectos comparativos de triptolida y el profármaco de triptolida (compuesto 1) sobre la viabilidad de células MiaPaca-2 *in vitro* a 48 horas.

La Figura 5 ilustra los efectos comparativos de triptolida y el profármaco de triptolida (compuesto 1) sobre la viabilidad de células Panc-1 *in vitro* tanto a 24 horas como a 48 horas.

La Figura 6 ilustra los efectos comparativos de triptolida y profármaco de triptolida (compuesto 1) sobre la viabilidad de células S2VP10 *in vitro* a 24 horas y 48 horas.

La Figura 7 ilustra el crecimiento del tumor en un grupo testigo de ratones con cinco fotografías *in situ* y una fotografía de tumores *ex vivo*.

La Figura 8 ilustra el crecimiento del tumor en grupos de triptolida de ratones con tres fotografías *in situ* y una fotografía de tumores *ex vivo*.

La Figura 9 ilustra el crecimiento del tumor en un grupo de ratones del profármaco de triptolida (compuesto 1) con cuatro fotografías *in situ* y una fotografía de tumores *ex vivo*.

La Figura 10 es una fotografía de la colección de tumores *ex vivo* del experimento *in vivo* que muestra tamaños de tumor comparativos para el grupo testigo, el grupo de triptolida y el profármaco de triptolida (compuesto 1).

La Figura 11 ilustra el peso comparativo del tumor (g) para los tumores del grupo testigo, el grupo de triptolida y el grupo de profármaco de triptolida (compuesto 1) de ratones del experimento *in vivo*.

La Figura 12 ilustra el volumen de tumor comparativo (cm<sup>3</sup>) para los tumores del grupo testigo, el grupo de triptolida y el grupo de ratones del profármaco de triptolida (compuesto 1) del experimento *in vivo*.

La Figura 13 ilustra el análisis de supervivencia de ratones tratados con el compuesto 1 y ratones testigo.

La Figura 14 ilustra el análisis de supervivencia de los ratones tratados con el compuesto 1 y ratones testigo.

La Figura 15 ilustra la carga del tumor (volumen y peso) para los ratones tratados con el compuesto 1 de triptolida y tratados con vehículo.

La Figura 16 ilustra la carga del tumor (volumen y peso) para los ratones tratados con el compuesto 1 y ratones tratados con vehículo.

La Figura 17 ilustra la carga del tumor (volumen y peso) para los ratones tratados con el compuesto 1 y ratones tratados con vehículo.

La Figura 18 ilustra el volumen del tumor para los ratones tratados con el compuesto y ratones tratados con vehículo.

La Figura 19 ilustra la viabilidad celular (neuroblastoma N2a y SKNSH) en presencia de triptolida.

La Figura 20 ilustra la actividad de Caspasa 3 en presencia de triptolida.

5

## Descripción detallada de la invención

### Definiciones

10 El término "alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" como se usa en la presente, se refiere a grupos alquilo que tienen de 1 a 6 átomos de carbono que son grupos de cadena recta o ramificada. Este término es ejemplificado por grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, n-pentilo, neopentilo, y n-hexilo y similares.

15 El término "alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" como se usa en la presente se refiere al grupo alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) en donde alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) es como se define en la presente. Este término es ejemplificado por grupos tales como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, pentoxi, 3-pentoxi, o hexiloxi y similares.

20 El término "cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>)" como se usa en la presente se refiere a un sistema de anillo de hidrocarburo cíclico saturado o parcialmente insaturado que comprende 3 a 7 átomos de carbono. Este término es ejemplificado por grupos tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexeno, o cicloheptano y similares.

25 El término "arilo" como se usa en la presente se refiere a un radical fenilo o un radical carbocíclico bicíclico ortofusionado que tiene aproximadamente nueve a diez átomos de carbono en el anillo en los cuales por lo menos un anillo es aromático. Este término es ejemplificado por grupos tales como fenilo, indanilo, indenilo, naftilo, 1,2-dihidronaftilo y 1,2,3,4-tetrahidronaftilo.

30 El término "arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)" como se usa en la presente, se refiere al grupo aril-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) en donde alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y arilo son como se definen en la presente. Este término es ejemplificado por grupos tales como bencilo y fenetilo y similares.

35 Como se usa en la presente, el término "que comprende" significa los elementos citados, o su equivalente en estructura o función, más cualquier otro(s) elemento(s) que es (son) citados(s). Los términos "que tiene" y "que incluye" también serán interpretados como de extremos abiertos, a no ser que el contexto lo sugiera de otra manera. Términos tales como "aproximadamente", "en general", "sustancialmente", y similares serán interpretados como modificadores de un término o valor de tal manera que no es absoluto, pero no es leído en el arte previo. Tales términos serán definidos por las circunstancias y los términos que modifican son entendidos por aquellos de habilidad en el arte. Esto incluye el mismo grado de error experimental esperado, error de técnica, y error de instrumento para una técnica dada usada para medir un valor.

40 Las frases "cantidad terapéuticamente efectiva" y "cantidad farmacéuticamente efectiva", como se usa en la presente, por ejemplo, significan una cantidad suficiente para reducir o inhibir en el crecimiento de célula cancerosa *in vivo* después de la administración a un mamífero viviente. Las frases pretenden referirse a la cantidad determinada a ser requerida para producir el efecto fisiológico planeado y asociada con el ingrediente activo dado, tal como es medida de acuerdo con los métodos y técnicas farmacocinéticas establecidas, para la vía de administración dada.

50 La frase "cantidad efectiva inhibidora" como se usa en asociación con la cantidad de compuesto activo y composición de la invención pretende referirse, por ejemplo, a propiedades anti-tumor exhibidas como se demuestra utilizando técnicas de análisis de cultivo celular estándar.

Como se usa en la presente, el término "profármaco" pretende referirse a un compuesto farmacéutico que requiere metabolismo adicional (incluyendo pero no limitado al hígado) antes de volverse biológicamente activo.

55 Se apreciará por aquellos experimentados en el arte que los compuestos de la invención que tienen un centro quiral pueden existir en y ser aislados en formas ópticamente activas y racémicas. Algunos compuestos pueden exhibir polimorfismo. Se entenderá que la presente invención abarca cualquier forma racémica, ópticamente activa, polimórfica o estereoisomérica, o mezclas de los mismos, de un compuesto de la invención, que posee las propiedades útiles descritas en la presente, siendo bien conocido en el arte como preparar las formas ópticamente activas, por ejemplo, mediante resolución de la forma racémica mediante técnicas de recristalización, mediante síntesis de materiales de partida ópticamente activos, mediante síntesis quiral, o mediante separación cromatográfica utilizando una fase estacionaria quiral.

60 Una sal de un compuesto de fórmula I puede ser útil como intermedio para aislar o purificar un compuesto de fórmula I. Adicionalmente, la administración de un compuesto de fórmula I como una sal ácida o básica farmacéuticamente aceptable puede ser apropiada. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de adición de ácido orgánico y sales inorgánicas.

65

El término “catión orgánico o catión inorgánico” o “sal orgánica o inorgánica catiónica” incluyen cationes orgánicos o cationes inorgánicos (por ejemplo, sales de metal o amina) que son bien conocidos en el arte e incluyen porciones catiónicas que pueden formar una asociación iónica con las porciones O sobre el compuesto y no afectan de manera adversa significativamente las propiedades deseadas del profármaco por propósitos de la invención. El término “cationes orgánicos o cationes inorgánicos farmacéuticamente aceptables” o “sal orgánica o inorgánica catiónica farmacéuticamente aceptable” incluyen los “cationes orgánicos o cationes inorgánicos” que son farmacéuticamente aceptables para uso en un mamífero y son bien conocidos en el arte.

Cationes orgánicos o cationes inorgánicos incluyen pero no están limitados a cationes de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, bario, cinc, aluminio y amina. Cationes de amina incluyen pero no están limitados a cationes derivados de amoníaco, trietilamina, trometamina (TRIS), trietanolamina, etilendiamina, glucamina, N-metilglucamina, glicina, lisina, ornitina, arginina, etanolamina, colina y similares. En una modalidad, los cationes de amina son cationes en donde  $X^+$  es de fórmula  $YH^+$  en donde Y es amoníaco, trietilamina, trometamina (TRIS), trietanolamina, etilendiamina, glucamina, N-metilglucamina, glicina, lisina, ornitina, arginina, etanolamina, colina y similares.

En una modalidad, sales orgánicas o inorgánicas catiónicas apropiadas que pueden ser usadas incluyen porciones catiónicas que pueden formar una asociación iónica con las porciones O sobre el compuesto y no afectan adversamente de manera significativa las propiedades deseadas del profármaco por propósitos de la invención, por ejemplo, solubilidad incrementada, estabilidad y liberación hidrolítica rápida de la forma de compuesto activo. Preferiblemente, X es seleccionado de  $Li^+$ ,  $K^+$  o  $Na^+$ . Más preferiblemente, X es  $Na^+$ , formando así la sal de disodio.

Las sales farmacéuticamente aceptables pueden también incluir sales formadas con ácidos que forman un anión fisiológico aceptable, por ejemplo, tosilato, metansulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato,  $\alpha$ -cetoglutarato, y  $\alpha$ -glicerofosfato. También pueden formarse sales inorgánicas adecuadas, incluidas las sales de clorhidrato, sulfato, nitrato, bicarbonato y carbonato. Las sales, incluidas las sales farmacéuticamente aceptables, pueden obtenerse utilizando procedimientos estándar bien conocidos en el arte, por ejemplo al hacer reaccionar un compuesto suficientemente básico tal como una amina con un ácido apropiado proporcionando un anión aceptable fisiológicamente.

La invención incluye tanto el ácido libre (por ejemplo,  $-OP(O)(OH)_2$ ), mono-sales (por ejemplo,  $-OP(O)(OH)(O^-X^+)$ ) y di-sales (por ejemplo,  $-OP(O)(O^-X^+)_2$ ) de los compuestos de fórmula I. El ácido y las sales pueden ser purificados mediante varias técnicas bien conocidas en el arte, tal como cromatografía, seguido por liofilización o recristalización.

Se apreciará por aquellos experimentados en el arte que un compuesto de fórmula I en donde  $X^+$  es un catión orgánico o catión inorgánico puede ser convertido a un compuesto de fórmula I que comprende uno o más cationes orgánicos o inorgánicos diferentes. Tal conversión se puede llevar a cabo utilizando varias técnicas y materiales bien conocidos en los que se incluyen pero no limitados a resinas de intercambio iónico, cromatografía de intercambio iónico y cristalización selectiva.

Un valor específico para  $R^1$  es H o alquilo ( $C_1-C_6$ ).

Otro valor específico para  $R^1$  es H.

Otro valor específico para  $R^1$  es alquilo ( $C_1-C_6$ ).

Otro valor específico para  $R^1$  es metilo o etilo.

Un valor específico para  $R^2$  es H o alquilo ( $C_1-C_6$ ).

Otro valor específico para  $R^2$  es H.

Un valor específico para  $X^+$  es H.

Otro valor específico para  $X^+$  es litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, bario, cinc o aluminio.

Otro grupo específico de compuestos de fórmula I son compuestos en donde  $X^+$  es de fórmula  $HY^+$ , en donde Y es amoníaco, trietilamina, trometamina, trietanolamina, etilendiamina, glucamina, N-metilglucamina, glicina, lisina, ornitina, arginina, etanolamina o colina.

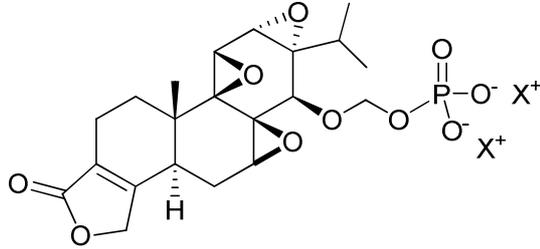
Otro valor específico para  $X^+$  es  $Li^+$ ,  $K^+$  o  $Na^+$ .

Otro valor específico para  $X^+$  es  $Na^+$ .

Un compuesto específico de fórmula I es la sal de disodio de 4-O-fosfonooximetilriptolida, sal de disodio de 14-O-fosfonooxietilriptolida o sal de disodio de 14-O-fosfonooxipropilriptolida, o una sal de los mismos.

Un grupo específico de compuestos de fórmula I son compuestos de fórmula Ia:

5

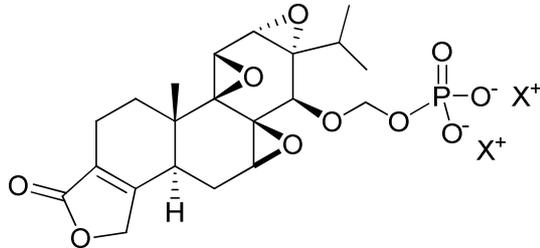


Ia

en donde X<sup>+</sup> es un catión orgánico o catión inorgánico farmacéuticamente aceptable.

10

Otro grupo específico de compuestos de fórmula I son compuestos de fórmula Ia:



Ia

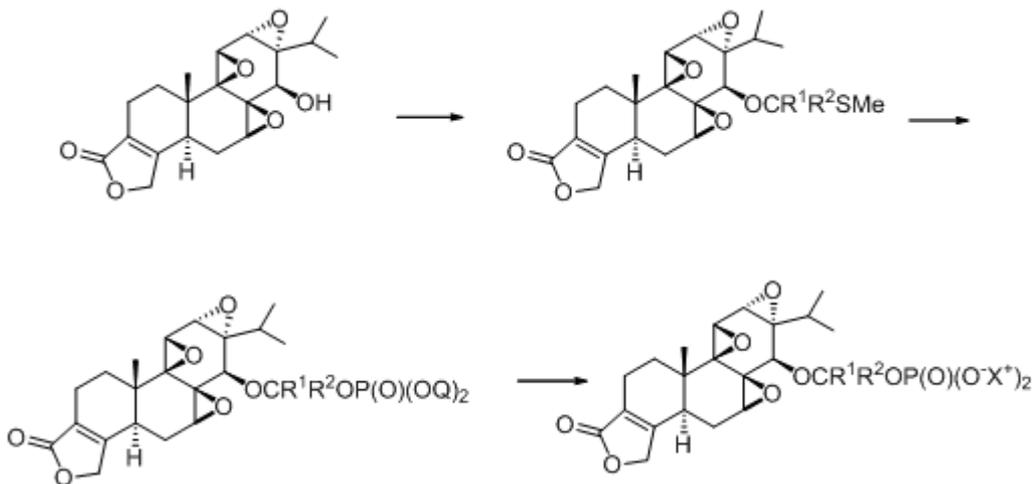
en la que X<sup>+</sup> es una sal orgánica o inorgánica catiónica farmacéuticamente aceptable.

15

Los procesos que pueden usarse para preparar compuestos de fórmula I e intermedios útiles para preparar compuestos de fórmula 1 se muestran en el Esquema 1 y Esquema 2.

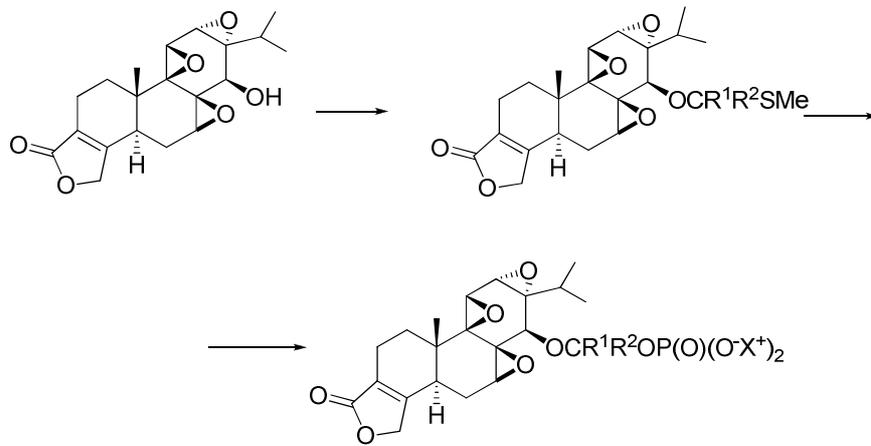
20

Esquema 1

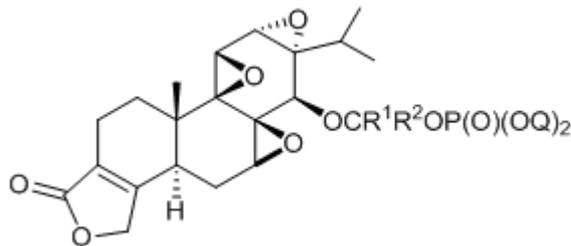


25 en el que Q es un grupo protector tal como bencilo o terc-butilo.

Esquema 2



- 5 Un compuesto de fórmula I puede prepararse eliminando uno o más grupos protectores de un compuesto de fórmula IA:



Q es un grupo protector (por ejemplo, bencilo o terc-butilo)

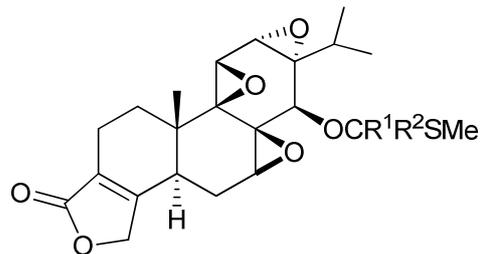
10

IA

para proveer el compuesto correspondiente de fórmula I. Así, el intermedio de fórmula IA es útil para preparar un compuesto de fórmula I.

15

Un compuesto de fórmula I puede también ser preparado al convertir el grupo -SMe de un compuesto de fórmula IB:



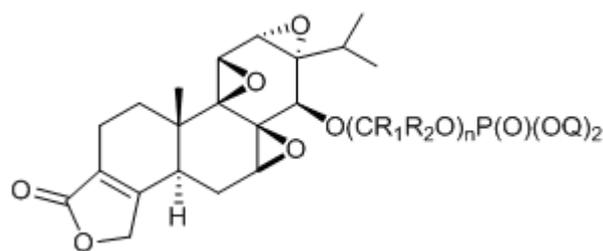
20

IB

a un grupo -OP(O)(O<sup>-</sup>X<sup>+</sup>)<sub>2</sub> para proveer el compuesto correspondiente de fórmula I. Así, el intermedio de fórmula IB es útil para preparar un compuesto de fórmula I.

25

Un compuesto de fórmula I también puede prepararse eliminando uno o más grupos protectores de un compuesto de fórmula IC:

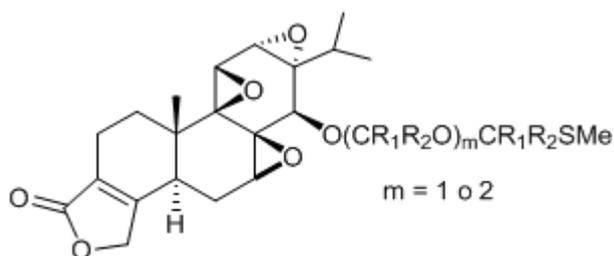


Q es un grupo protector (por ejemplo bencilo o terc-butilo)

IC

5 para proveer el compuesto correspondiente de fórmula I. Así, el intermedio de fórmula IC es útil para preparar un compuesto de fórmula I.

10 Un compuesto de fórmula I también puede prepararse convirtiendo el grupo -SMe de un compuesto de fórmula ID:



ID

a un grupo  $-OP(O)(O^{\cdot}X^+)_2$  para proveer el compuesto correspondiente de fórmula I. Así, el intermedio de fórmula ID es útil para preparar un compuesto de fórmula I.

15 Así, la invención provee un método:

- a) para preparar un compuesto de fórmula I que comprende desproteger un compuesto correspondiente de fórmula IA que lleva uno o más grupos protectores para proveer el compuesto de fórmula I.
- b) para preparar un compuesto de fórmula I que comprende convertir el grupo -SMe de un compuesto de fórmula IB a un grupo  $-OP(O)(O^{\cdot}X^+)_2$  para proveer el compuesto de fórmula I.
- c) para preparar un compuesto de fórmula I que comprende desproteger un compuesto de fórmula IC correspondiente que lleva uno o más grupos protectores para proveer el compuesto de fórmula I.
- d) para preparar un compuesto de fórmula I que comprende convertir el grupo -SMe de un compuesto de fórmula ID a un grupo  $-OP(O)(O^{\cdot}X^+)_2$  para proveer el compuesto de fórmula I.
- e) para preparar una sal de un compuesto de fórmula I que comprende tratar un compuesto de fórmula I correspondiente con un ácido (por ejemplo, un ácido orgánico o ácido inorgánico) o base (por ejemplo, una base de álcali o base alcalina) para proveer la sal del compuesto de fórmula I.
- f) para convertir el compuesto de fórmula I en donde uno o más  $X^+$  es una sal orgánica o inorgánica catiónica a un compuesto de fórmula I en donde uno o más  $X^+$  es una sal orgánica o inorgánica catiónica diferente.

30 El compuesto de la invención puede formularse en composiciones farmacéuticas también al combinarse conjuntamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse de acuerdo con compuestos y técnicas bien conocidas fácilmente disponibles a aquellos experimentados en el campo farmacéutico. Por propósitos de la invención, el vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier sustancia convencional y biológicamente compatible fácilmente disponible o sustancia inerte que es químicamente compatible con el ingrediente farmacéutico activo y no atenúa significativamente su efecto terapéutico propuesto después de la formulación o administración. Sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse utilizando procedimientos y técnicas estándar bien conocidas en el arte.

40 La forma sólida de un compuesto de la invención puede ser una nanopartícula y así formulada como nanopartícula. Así, la invención provee nanopartículas de un compuesto de fórmula I y composiciones que comprenden nanopartículas de un compuesto de fórmula I.

45 Los compuestos de profármaco de triptolida de la invención pueden formularse utilizando varias formulaciones excipientes y preparados en varias formas de dosificación como se describe a continuación. Las propiedades químicas y atributos asociados con los compuestos de la invención pueden también proveer la preparación de formas de dosificación sólidas orales de los compuestos de la invención.

El compuesto de la invención puede formularse como composiciones farmacéuticas y administrado a un receptor en varias formas apropiadas para la ruta o sistema de alimentación particular deseado. Vías de administración pueden incluir pero son están limitadas a vías orales, vías parenterales, vías intravenosas (incluyendo vías intravenosas mediante inyección de bomba), vías intramusculares, vías tópicas incluyendo colirios, vías subcutáneas y vías mucosales. Los compuestos de la invención pueden ser administrados sistémicamente, por ejemplo oralmente, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente inerte o vehículo comestible asimilable. Así la composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención como el ingrediente activo puede ser preparada en varias formas de dosificación. Por ejemplo, las composiciones pueden ser encapsuladas en cápsulas duras o blandas (por ejemplo, gelatina o materiales capsulares derivados de vegetales). Las composiciones pueden ser comprimidas a una forma de comprimido ingerible o transmucosal, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, supositorios y similares. La cantidad de ingrediente activo puede variar de acuerdo con la cantidad de dosificación farmacéuticamente efectiva deseada específica.

Los comprimidos, trociscos, píldoras, cápsulas y similares pueden contener ingredientes adicionales tales como aglutinantes (tales como goma tragacanto, goma arábiga, almidón de maíz o gelatina); excipientes tales como fosfato de dicalcio; disgregantes tales como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; lubricantes (tales como estearato de magnesio) que pueden ser usados para técnicas de compresión de comprimidos, por ejemplo; edulcorantes tales como sacarosa, fructosa, lactosa o aspartamo; y agentes aromatizantes tales como menta, gaulteria, cereza y similares. Ingredientes adicionales que pueden incluirse en las composiciones de la invención son manitol, urea, dextranos, y azúcares no reductores de lactosa.

Cuando la forma de dosificación es una cápsula, puede contener un vehículo líquido que incluye polietilenglicol, aceite vegetal, etc. Otros materiales que pueden ser usados con ciertas formas de dosificación incluyen gelatina, cera, shellac, azúcar y similares. Formas de jarabes o elixir pueden contener sacarosa, fructosa como edulcorantes, metil y propilparabenos como conservantes, tintes y colorantes, y agentes aromatizantes.

Cuando se administran por vía intravenosa o intraperitoneal mediante infusión o inyección, las soluciones del ingrediente activo y sus sales pueden prepararse en, por ejemplo, agua o solución salina que contiene opcionalmente un surfactante no tóxico. Las dispersiones pueden prepararse en glicerol, polietilenglicoles líquidos, triacetina y mezclas de los mismos y en aceites. Las condiciones de almacenamiento pueden necesitar la inclusión de un conservante también.

Las formas de dosificación farmacéuticas apropiadas para inyección o infusión pueden incluir soluciones o dispersiones acuosas estériles o polvos estériles que comprenden el ingrediente activo que son aptas para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables o infusibles estériles, opcionalmente encapsuladas en liposomas. En todos los casos, la forma de dosificación final debe ser estéril, fluida y estable bajo las condiciones de manufactura y almacenamiento. El vehículo o vehículo líquido puede ser un disolvente o medio de dispersión líquido que comprende, por ejemplo agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles líquidos y similares), agentes vegetales, ésteres de glicerilo no tóxicos y mezclas apropiadas de los mismos. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo mediante la formación de liposomas, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones o mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de microorganismos puede efectuarse por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo azúcares, soluciones reguladoras del pH o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede ser efectuada por el uso en las composiciones de agentes que retardan la absorción, por ejemplo monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, como se requiera, seguido por la esterilización por filtro. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado al vacío y las técnicas de secado por congelación, que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente deseado adicional presente en las soluciones filtradas estériles previas.

Así, la invención incluye la preparación estéril de un compuesto de la invención. La invención también incluye preparaciones no estériles de un compuesto de la invención.

Formas de dosificación farmacéuticas inyectables o que puede ser aplicado por infusión pueden incluir soluciones o dispersiones acuosas estériles o polvos estériles que comprenden los compuestos activos de la invención preparado para formulación extemporánea. Los vehículos líquidos pueden incluir disolventes o medios de dispersión líquidos que comprenden agua, etanol, un poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicoles) y similares. Varios agentes pueden ser agregados para inhibir o impedir la actividad antimicrobiana, tales como parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal y similares.

65

Los compuestos y composiciones de la invención pueden ser administrados como una sola dosis o en intervalos de múltiples dosis. La cantidad de dosificación, forma de dosificación, vía de administración y los ingredientes de formulación particulares pueden variar según la concentración en el plasma deseada y la farmacocinética involucrada. Un aspecto significativo de la invención es que los compuestos particulares de la invención pueden

5

proveer una vía de administración de forma de dosificación oral mejorada y efectiva en virtud de las características y propiedades asociadas con la estructura del compuesto de la invención y la ubicación del sustituyente.

Para administración tópica, será en general deseable administrar los compuestos de la invención a la piel como composiciones o formulaciones, en combinación con un vehículo aceptable dermatológicamente, que puede ser un

10

sólido o un líquido.

Los vehículos sólidos útiles incluyen sólidos finamente divididos tales como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina y similares. Los vehículos líquidos útiles incluyen agua, alcoholes o glicoles o mezclas de agua-alcohol/glicol, en las cuales los compuestos presentes pueden ser disueltos o dispersados a niveles efectivos, opcionalmente con la ayuda de surfactantes no tóxicos. Los adyuvantes tales como fragancias y agentes antimicrobianos adicionales pueden añadirse para optimizar las propiedades para un uso dado. Las composiciones líquidas resultantes pueden ser aplicar a partir almohadillas absorbentes, usadas para impregnar vendajes y otros apósitos o atomizadas sobre el área afectada utilizando atomizadores tipo bomba o aerosol.

15

También se pueden usar espesantes, tales como polímeros sintéticos, ácidos grasos, sales y ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos, celulosas modificadas materiales minerales modificados pueden también ser empleados con vehículos líquidos para formar pastas esparcibles, geles, pomadas, jabones y similares para aplicación directamente a la piel del usuario.

20

Los ejemplos de composiciones dermatológicas útiles que pueden usarse para administrar los compuestos de fórmula I a la piel son conocidas en el arte; por ejemplo, véase Jacquet et al. (patente de EE.UU. N° 4.608.392), Geria (patente de EE.UU. N° 4.992.478), Smith et al. (patente de EE.UU. N° 4.559.157) y Wortzman (patente de EE.UU. N° 4.820.508).

25

Las dosis útiles de los compuestos de fórmula I pueden determinarse mediante la comparación de su actividad *in vitro* y su actividad *in vivo* en modelos animales. Los métodos para la extrapolación de dosificaciones efectivas en ratones y otros animales a humanos se conocen en el arte; por ejemplo, véase la Patente de E.E.UU. N° 4.938.949.

30

La cantidad de compuesto o una sal activa o derivado del mismo, requerida para uso en el tratamiento variará no solamente con la sal particular seleccionada sino también con la vía de administración, la naturaleza de la enfermedad que se está tratando y la edad y la enfermedad del paciente y, finalmente, será a discreción del médico o clínico encargado del tratamiento.

35

En general, sin embargo, una dosis apropiada estará en el intervalo de aproximadamente 3 a aproximadamente 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día (por ejemplo, de aproximadamente 6 a aproximadamente 96  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día o de aproximadamente 6 a aproximadamente 48  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día o de 6 aproximadamente a 24 aproximadamente  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día o de aproximadamente 12 a aproximadamente 24  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día).

40

El compuesto se formula convenientemente en forma de dosificación unitaria; por ejemplo, que contiene de aproximadamente 80  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 8000  $\mu\text{g}$ , convenientemente de alrededor de 480  $\mu\text{g}$  de cómodamente 7,680  $\mu\text{g}$ , convenientemente de alrededor de 480  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 3,840  $\mu\text{g}$  y convenientemente de alrededor de 960  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1920  $\mu\text{g}$ . En una modalidad, la invención provee una composición que comprende un compuesto de la invención formulada en tal forma de dosificación unitaria.

45

50

La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una sola dosis o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más sub-dosis por día. La dosis subdosis misma puede ser dividida adicionalmente, por ejemplo, a un número de administraciones holgadamente espaciadas discretas; tales como múltiples inhalaciones de un insuflador o mediante la aplicación de una pluralidad de gotas al ojo.

55

Los compuestos de la invención pueden también ser administrados en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo, otros agentes que son útiles para el tratamiento de cáncer (por ejemplo, cáncer de pancreático, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, leucemia, leucemia mielógena aguda y crónica, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, osteosarcoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de vejiga, carcinoma gástrico, cáncer urotelial, glioblastoma multiforme, cáncer de colon, cáncer cervical uterino, fibrosarcoma, carcinoma de célula escamosa, mieloma múltiple, colangiocarcinoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas) como un sensibilizador de radiación para células del cáncer, enfermedades inflamatorias, enfermedades reumáticas, enfermedades autoinmunes, enfermedad de riñón poliquística, nefritis, supervivencia de injerto de trasplante (riñón, corazón), hipotensión pulmonar, inflamación de pulmón, fibrosis de pulmón, neuroprotección, lesión de isquemia cerebral/reperfusión, parkinsonismo y úlceras corneales. Ejemplos de tales agentes incluyen 5-fluorouracilo, TRAIL (ligando que induce apoptosis TNF-relacionados), anticuerpos activadores de DR-4/5, ciclofosfamida,

60

65

hidroxidaunorrubicina (doxorubicina), oncovina (vincristina), paclitaxel, docetaxel, cisplatino, carboplatino, CPT-11, bortezimib y prednisona-prednisolona. Así, en una modalidad, la invención también provee una composición que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por lo menos otro agente terapéutico y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención también provee un kit que comprende un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por lo menos otro agente terapéutico, material de empaque e instrucciones para administrar el compuesto de fórmula I o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el otro agente o agentes terapéutico a un animal (por ejemplo, mamífero) para tratar cáncer (por ejemplo, cáncer de pancreático, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, leucemia, leucemia mielogenosa aguda y crónica, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, osteosarcoma, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de esófago, cáncer de vejiga, carcinoma gástrico, cáncer urotelial, glioblastoma multiforme, cáncer de colon, cáncer de cervical uterino, fibrosarcoma, carcinoma de célula escamosa, mieloma múltiple, colangiocarcinoma, cáncer de pulmón de células no pequeñas), una enfermedad inflamatoria, una enfermedad reumática, una enfermedad auto-inmune, una enfermedad de riñón poliquístico, nefritis, supervivencia de injerto de trasplante (riñón, corazón), hipotensión pulmonar, inflamación de pulmón, fibrosis de pulmón, neuroprotección, isquemia cerebral/ de lesión de reperusión, parkinsonismo, úlceras corneales o colitis. En otra modalidad, la invención también provee un kit que comprende un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por lo menos otro agente terapéutico, material de empaque e instrucciones para administrar el compuesto de fórmula I o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo y el otro agente o agentes terapéutico a un animal (por ejemplo, mamífero) para sensibilizar las células de cáncer, endoprótesis vasculares de recubrimiento (elución de fármacos), reparación de médula espinal o para uso en anticoncepción macho y hembra en animales. Los siguientes documentos son concernientes con triptolida en combinación con otros agentes terapéuticos 1. Chen, Y. W. et al., *Anticancer Drugs*, 2010, 21(5), 502-13. 2. Xu B. et al., *Cancer Lett.*, 2010, 291(2), 200-208. 3. Borja-Cacho, D. et al., *J. Gastrointest. Surg.*, 2010, 14(2), 252-60. Westfall S. D. et al., *Chemotherapy*, 2008, 54(1), 67-76. 4. Tang X. Y. et al., *Postgrad. Med. J.*, 2007, 83(979), 338-43. 5. Panichakul T. et al., *Anticancer Res.* 2006, 26(1A), 259-65. 6. *Pediatr. Blood Cancer*, 2008, 51(6):754-97. Matsui et al. *Oncogene*, 2008, 27, 4603-4614. 7. Chang et al., *The Journal of Biological Chemistry*, 2001 276, 2221-2227. 8. Westfall et al., *Chemotherapy*, 2008, 54(1), 67-76. 9. Carter et al., *Blood*, 2008, Vol. 111, N° 7, pp. 3742-3750. 10. Borja-Cacho et al., *J. Gastrointest Surg.*, 2010, 14, 252-260. 11. Tang et al., *Postgraduate Medical Journal* 2007, 83, 338-343. 12. Cen et al., *Anti-Cancer Drugs*, 2010, 21(5), 502-513. 13. Kapoor, *Int. J. Mol. Med.* 2008, 22(4), 489-96. 14. Fidler et al., *Molecular Cancer Therapeutics*, 2003, 2, 855).

Un aspecto importante de la invención es que los compuestos de la invención proveen combinaciones deseables de propiedades farmacocinéticas, propiedades físicas y ventajas terapéuticas en comparación con otras formas de profármaco de triptolida. Los compuestos de profármaco de triptolida de la invención exhiben combinaciones deseables de atributos incluyendo estabilidad química, solubilidad mejorada y liberación metabólica rápida de la forma de triptolida activa de la forma profármaco. Colectivamente, estas propiedades proveen efectos anticáncer terapéuticos mejorados. Tales efectos incluyen la inhibición efectiva de células de cáncer pancreático al inhibir los efectos protectores proporcionados por HSP70 dentro de las células y resistencia a apoptosis y tratamientos.

La ruta química de la escisión metabólica y enzimática del profármaco de triptolida del ejemplo 1 es mostrada en la figura 2. El compuesto natural de partida (forma sin profármaco) triptolida tiene características de solubilidad en agua escasas. El compuesto preparado del ejemplo 1 exhibe un alto nivel de solubilidad. Cuando es sometido a escisión enzimática y metabolismo, el compuesto del ejemplo 1 finalmente libera la forma activa del compuesto de triptolida.

Los compuestos y composiciones de la invención pueden ser empleados como un método para tratar cánceres de tumor sólido en un mamífero en necesidad de tal tratamiento que comprenden administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto como se describe anteriormente como el ingrediente activo. Como se usa en el contexto de métodos de tratamiento, el término "mamífero" incluye humanos.

El compuesto y composición de la invención pueden ser efectivos para inhibir el crecimiento de células de cáncer *in vitro* e *in vivo* de cánceres que expresan HSP70. Ejemplos de cánceres que expresan HSP70 incluyen cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer neuronal, leucemia, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer gástrico, cáncer de hígado y glioblastoma.

Así, en una modalidad, la invención incluye la inhibición de una población de células de cáncer que exhiben sobreexpresión de la proteína de choque térmico HSP70 mediante la administración de un compuesto de fórmula I. De importancia específica para la invención es el efecto de inhibición de células efectivo sobre células de cáncer pancreáticas que expresan HSP70, tales como células Mia-Paca, Panc-1 y S2VP10. Así, en otra modalidad, la invención provee un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en un método para el tratamiento de un cáncer de S2 (por ejemplo cáncer S2VP10 o S2013) en un mamífero (por ejemplo, un humano). Que comprende administrar un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un mamífero (por ejemplo, un humano).

Tanto en sistemas de mamíferos *in vitro* y vivientes, la enzima fosfatasa alcalina convierte el compuesto del ejemplo 1, a la forma de triptolida activa como se demuestra en los ejemplos de la presente. La vida media ( $t_{1/2}$ ) de hidrólisis enzimática para el compuesto del ejemplo 1 indica una velocidad de conversión relativamente rápida y

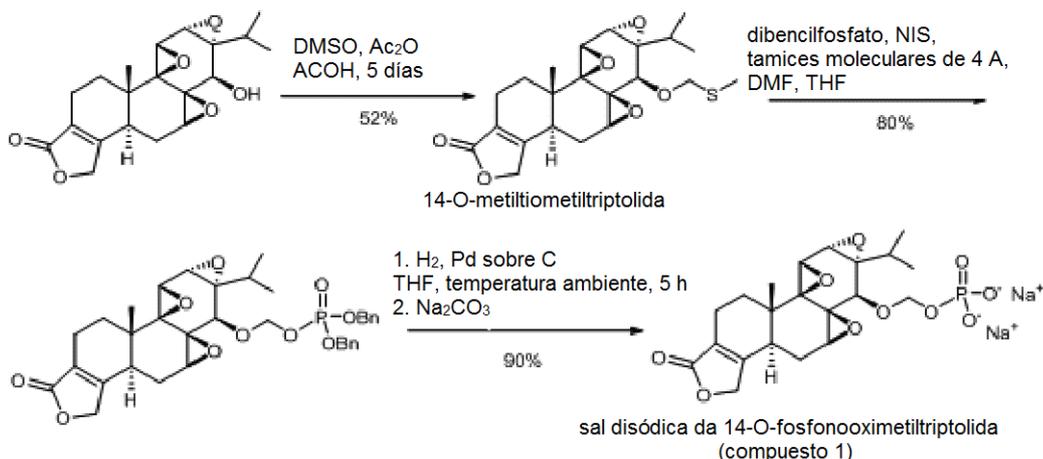
consecuentemente, una liberación más rápida de la forma terapéutica activa del compuesto.

La triptolida es usada para tratar varias enfermedades tales como enfermedades inflamatorias. La triptolida también ha estado implicada como agente terapéutico para tratar varias enfermedades. Estas enfermedades incluyen cáncer (por ejemplo, cáncer pancreático, carcinoma de vías biliares, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer de mama, mieloma, cáncer gástrico, cáncer de hígado, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de cervical, tumores de linfoma), enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, enfermedad de riñón poliquístico, enfermedades inflamatorias, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y nefritis. La triptolida también ha sido discutida en el recubrimiento de endoprótesis vasculares (elución de fármacos), reparación de médula espinal, colitis, y anticoncepción en s animales macho y hembra. Así, la invención incluye pero no está limitada al uso de compuestos de fórmula I para tratar enfermedades en las que se incluyen cáncer (por ejemplo, cáncer pancreático, carcinoma de vías biliares, neuroblastoma, cáncer de colon, cáncer de mama, mieloma, cáncer gástrico, cáncer de hígado, glioblastoma, cáncer de ovario, cáncer colorrectal, linfoma no Hodgkin, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células grandes, cáncer de riñón, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer cervical, tumores de linfoma), enfermedades autoinmunes, rechazo de trasplante, enfermedad de riñón poliquístico, enfermedades inflamatorias, asma, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y nefritis. Los compuestos de fórmula I pueden también ser usados para recubrimiento de endoprótesis vasculares (elución de fármaco), reparación de médula espinal, colitis y anticoncepción en mamíferos machos y hembras.

Los siguientes documentos son concernientes con triptolida y cáncer (1. AML: Carter et al., *Blood*, 2008, 111(7), 3742-3750. 2. Anaplastic thyroid carcinoma: *Mol Pharmacol.*, 2009, 75(4), 812-9. 3. Bladder cancer: Yang et al., *Mol. Cancer Ther.*, 2003, 2(1), 65-72. 4. B16 Melanoma: Yang et al., *Mol. Cancer Ther.* 2003, 2(1), 65-72. 5. Breast Cancer: Liang et al., *Cancer Letters*, 270(2), 2008, 337-341. Liu et al., *Phytomedicine*, 2009, 16(11), 1006-1013. 6. Cervical Cancer: Wang et al., *J. Mol. Med.*, 2006, 84(5), 405-15. 7. Cholangiocarcinoma: Tengchaisri et al., *Cancer Letters*, 1998, 133(2), 169-175. 8. CML: Lou et al., *Leukemia and Lymphoma*, 2004, 45, 373-376. 9. Colon: Tang et al., *Postgraduate Medical Journal* 2007, 83, 338-343. 10. Esophageal cancer: Boulton et al., *B. J. Cancer*, 2008, 89, 1985-92. 11. Fibrosarcoma: Kiviharju et al., *Clinical Cancer Research*, 2002, 8, 2666-2674. 12. Miyata et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 336(4), 1081-6. 13. Gastric Cancer: Jiang., *Oncogene*, 2001, 20(55), 8009-18. 14. Yang et al., *Mol. Cancer Ther.* 2003, 2(1), 65-72. 15. Glioblastoma Multiforme: Lin et al., *J. Int. Med. Res.*, 2007, 35(4), 490-6. 16. Kapoor, *Int. J. Mol. Med.*, 2008, 22(4), 489-96. 17. Human Prostatic Epithelial Cells: Kiviharju et al., 2002., *Clinical Cancer Research*, 8, 2666-2674. 18. Leukemias including AML: Carter et al., *Blood*, 2006, 108(2), 630-7. 19. Multiple myeloma: Yinjun et al., *Leuk. Res.* 2005 29(1), 99-105. 20. Neuroblastoma: Antonoff et al., *Surgery*, 2009, 146(2), 282-90. 21. Non-Hodgkin lymphoma: Zhang et al., *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006, 27, 1438-1446. 22. Non-small cell lung cancer: Chang et al., *The Journal of Biological Chemistry*, 276, 2221-2227. 23. Osteosarcoma: Wang et al., *Pediatr. Blood Cancer*. 2008, 51(6), 754-9. 24. Ovarian Cancer: Westfall et al., *Chemotherapy*, 2008, 54(1), 67-76. 25. Pancreatic Cancer: Wang et al., *J. Mol. Med.* 2006, 84(5), 405-15., Zhou et al., *World J. Gastroenterol*, 2008, 14(10), 1504-1509., Wang et al. *Clinical Cancer Research* 2007, 13, 4891., Phillips, Saluja et al., *Cancer Res.*, 2007. Squamous cell carcinoma; Miyata et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 336(4), 1081-6. 26. Thyroid carcinoma: Zhu et al., *Oncol Rep.*, 2009, 22(6), 1397-401. 27. Uterine cervical carcinoma: Miyata et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005, 336(4), 1081-6. 28. Urothelial Cancer: Matsui et al., *Oncogene*, (2008) 27, 4603-4614).

Los siguientes documentos son concernientes con triptolida y otras enfermedades diferentes a cáncer (1. Multiple diseases: D Qui et al., *Drug R & D*, 2003, 4, 1-16. 2. Organ transplantation: Chen, *Leukemia and Lymphoma*, 2001, 42, 253-256. 3. Kidney transplant: Zhang et al., *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 125(1), 141-46. 4. Transplantation graft survival (skin): Yang et al. *Int. J. Immunopharmac.*, 1992, 14, 963-969. 5. Graft-Versus-Host disease: Chen et al., *Transplantation*, 2000, 70, 1442-1447. 6. Inflammatory and autoimmune diseases: P.E. Lipsky et al., *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 1997, 5, 713-723. 7. Autoimmune encephalomyelitis: Kizelsztejn et al. *Journal of Neuroimmunology*, 2009, 217, 28-37. 8. Cerebral ischemia/reperfusion injury: Wei et al., *Neural Regeneration Research*, 2007. 9. Colitis: Wei et al., *Clin. Immunol.* 2008, 129, 211-218. 10. Contraception in males and females: Hikim et al., *Journal of Andrology*, 2000, 21, 431-437., Huynh et al., *Journal of Andrology*, 2000, 21, 689-699., Wang et al., *Asian Journal of Andrology*, 1999, 1, 121-125., Lue et al., *Journal of Andrology*, 1998, 19, 479-486. 11. Corneal ulcer: Lu et al. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 2006, 47, 3796-3800. 12. Lung inflammation: Krishna, et al., 2001, *Am. J. Pathol.*, 2001, 158(3), 997-1004. 13. Nephritis: Tao et al., *Arthritis Rheum*. 2008, 58(6), 1774-83. 14. Parkinsonism and neuroprotection: Zhou et al., *Neurobiology of Disease*, 2005, 18, 441-449. 15. Polycystic kidney disease (PKD): Leuenroth et al., *PNAS*, 2007, 104, 4389-4394. 16. Spinal cord repair: Su et al., *Glia* 2010, 58, 901-915. 17. Stent coating: Q. Luo 2005, solicitud de patente 20050043788).

La invención será ahora ilustrada por los siguientes ejemplos no limitantes.



**Ejemplo 1:** Síntesis de sal de disodio de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (compuesto 1).

- 5 A una solución del dibencil éster de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (50 mg, 0,08 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) se agregó paladio sobre carbono (10 %, 10 mg). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente bajo hidrógeno (1 atm) por un período de 3 horas. El catalizador fue removido mediante filtración a través de CELITE™ y el filtrado fue tratado con una solución de carbonato de sodio hidratado (8,9 mg en 3 ml de agua, 0,076 mmol). El tetrahidrofurano fue evaporado bajo presión reducida y la solución de agua residual fue extraída con éter (ml 3x3). La capa acuosa fue evaporada a sequedad y el sólido resultante fue secado de la noche a la mañana in vacuo, lavado con éter y otra vez secado in vacuo para proveer la sal de disodio de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (35 mg, rendimiento de 90 %) como un polvo blanco. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 0,81 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,00 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,03 (s, 3H), 1,35 (m, 1H), 1,50 (m, 1H), 2,00 (dd, 1H, J<sub>1</sub> = 14,7 and J<sub>2</sub> = 13,4 Hz), 2,08-2,61 (m, 4H), 2,85 (m, 1H), 3,63 (d, 1H, J = 5,5 Hz), 3,81 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 3,86 (s, 1H), 4,12 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 4,92 (m, 2H), 5,07 (m, 2H) ppm; RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 12,9, 16,0, 16,3, 16,5, 22,3, 25,5, 28,9, 35,2, 39,8, 55,4, 56,1, 61,0, 61,5, 65,1, 65,5, 71,9, 77,6, 91,7, 123,8, 164,2, 177,3 ppm; HRMS calculado para (C<sub>21</sub>H<sub>26</sub>O<sub>10</sub>P) m/z requerido [M+]<sup>+</sup> 469,1264, m/z encontrado 469,1267.

Preparación del dibencil éster de 14-O-fosfonooximetiltriptolida

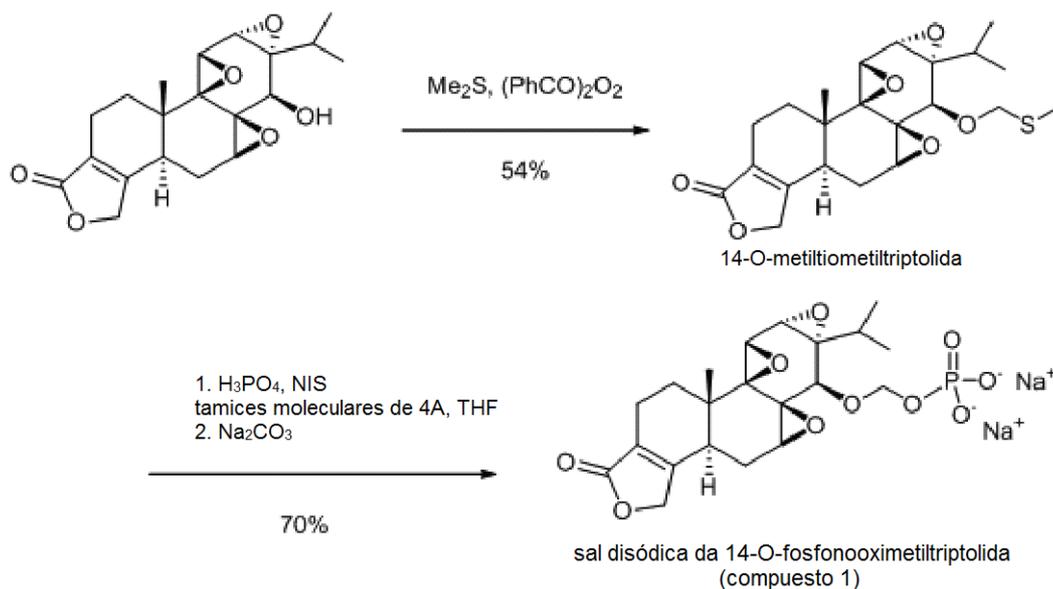
- 20 **Etapa 1:**
- Una solución de triptolida (100 mg, 0,29 mmol) en ácido acético (5 ml, 87,5 mmol) y anhídrido acético (1 ml, 10,5 mmol) en DMSO (1,5 ml, 21,4 mmol) fue preparada y agitada a temperatura ambiente por un período de 5 días para producir el intermedio de 14-O-metiltiometiltriptolida. Luego la mezcla de reacción fue vertida en agua (100 ml) y neutralizada con NaHCO<sub>3</sub> sólido, agregado en porciones. La mezcla fue extraída con acetato de etilo (50 ml x 3) y el extracto orgánico combinado fue secado sobre sulfato de sodio anhidro y concentrado para proveer el producto como un aceite. La cromatografía en columna de gel de sílice instantánea (3:2 hexano/acetato de etilo) proporcionó el 14-O-metiltiometiltriptolida en 52 % (60 mg) como una espuma blanca. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,82 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,00 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,09 (s, 3H), 1,20 (m, 1H), 1,59 (m, 1H), 1,93 (dd, 1H, J<sub>1</sub> = 14,7 and J<sub>2</sub> = 13,4 Hz), 2,19 (s, 3H), 2,10-2,42 (m, 4H), 2,68 (m, 1H), 3,24 (d, 1H, J = 5,5 Hz), 3,51 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 3,67 (s, 1H), 3,79 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 4,68 (m, 2H), 4,93 (d, 1H, J = 11,8 Hz), 5,07 (d, 1H, J = 11,8 Hz) ppm; RMN de <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 13,6, 14,8, 16,8, 17,0, 17,1, 23,4, 26,3, 29,5, 35,8, 40,4, 54,5, 55,0, 58,0, 61,5, 63,9, 64,4, 69,9, 75,8, 76,7, 125,5, 160,2, 173,2 ppm; HRMS calculado para (C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub>SNa) m/z requerido [M+Na]<sup>+</sup> 443,1505, m/z encontrado 443,1507.

**Etapa 2:**

- Una solución de 14-O-metiltiometiltriptolida (50 mg, 0,12 mmol) en cloruro de metileno anhidro (2 ml) bajo una atmósfera de N<sub>2</sub> fue combinada con tamices moleculares de 4 Å activados pulverizados (50 mg), seguido por la adición de una mezcla de dibencilfosfato (40 mg, 0,14 mmol) y N-yodosuccinimida (32 mg, 0,14 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por un período de 5 horas, filtrada y diluida con cloruro de metileno (20 ml). La solución resultante fue lavada con una solución de tiosulfato de sodio (2 ml, solución 1 M), una solución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera, secada sobre sulfato de sodio, filtrada y concentrada in vacuo. El residuo aceitoso fue purificado mediante cromatografía instantánea de gel de sílice (1:2 hexano/acetato de etilo) para dar el dibencil éster de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (62 mg, rendimiento 80 %) como una espuma blanca. RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0,72 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 0,89 (d, 3H, J = 6,8 Hz), 1,05 (s, 3H), 1,27 (m, 1H), 1,48 (m, 1H), 1,82 (dd, 1H, J<sub>1</sub> = 14,7 and J<sub>2</sub> = 13,4 Hz), 2,03-2,35 (m, 4H), 2,64 (m, 1H), 3,14 (d, 1H, J

= 5,5 Hz), 3,46 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,65 (s, 1H), 3,76 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 4,65 (m, 2H), 5,02 (m, 4H), 5,27 (m, 1H), 5,47 (m, 1H), 7,34 (m, 10H) ppm; RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13,6, 16,8, 17,0, 23,3, 26,2, 29,62, 29,67, 35,7, 40,3, 54,7, 55,2, 59,3, 61,1, 63,6, 64,0, 69,36, 69,39, 69,42, 69,45, 69,9, 78,2, 92,9, 93,0, 125,5, 127,9, 128,0, 128,6, 135,5, 135,6, 160,1, 173,2 ppm; HRMS calculado para ( $\text{C}_{35}\text{H}_{39}\text{O}_{10}\text{PNa}$ )  $m/z$  requerido  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  673,2179,  $m/z$  encontrado 673,2176.

5



### Ejemplo 2: Síntesis de sal de disodio de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (compuesto 1).

10

A una solución que contiene 14-O-metiltiometiltriptolida (50 mg, 0,12 mmol), ácido fosfórico (82 mg, 0,84 mmol) y tamices moleculares de 4 Å (0,45 g) en THF (10 ml) a 0 °C se agregó N -yodosuccinimida (41 mg, 0,18 mmol) y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Celite y los sólidos fueron lavados con THF. El filtrado fue tratado con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1 M hasta que estaba incolora y el filtrado fue tratado con una solución de carbonato de sodio (13 mg en 3 ml de agua, 0,12 mmol). El filtrado fue evaporado bajo presión reducida y la solución de agua residual fue extraída con éter (ml 3x3). La capa acuosa fue evaporada a sequedad y el residuo resultante fue purificado mediante cromatografía (C18), eluyendo con un gradiente de metanol 0-100 % en agua para dar la sal de disodio de 14-O-fosfonooximetiltriptolida (43 mg, rendimiento de 70 %) como un polvo incoloro.

15

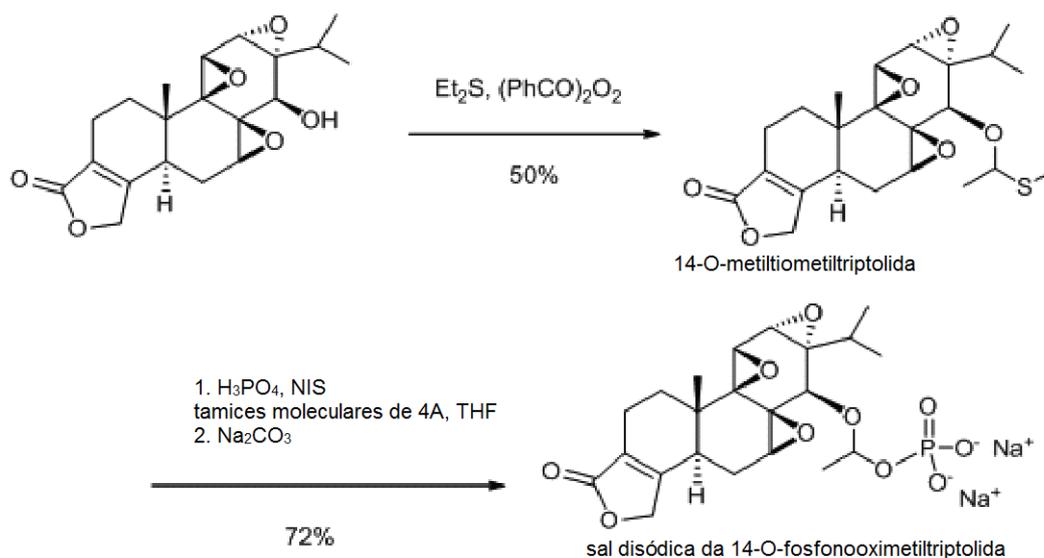
20

### Preparación de 14-O-metiltiometiltriptolida

A una solución de triptolida (100 mg, mmol 0,28) y sulfuro de metilo (0,16 ml, 2,24 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a 0 °C se agregó peróxido de benzoilo (0,27 g, 1,12 mmol) en cuatro porciones iguales durante 20 minutos y luego la mezcla fue agitada a 0 °C por 1 hora y después de esto a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla fue diluida con acetato de etilo y lavada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % y luego salmuera. La fase orgánica fue secada sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y evaporada. El residuo fue purificado mediante cromatografía instantánea de gel de sílice (1:1 hexano/acetato de etilo) para proveer 14-O-metiltiometiltriptolida (63 mg, rendimiento de 54 %) como un polvo incoloro.

25

30

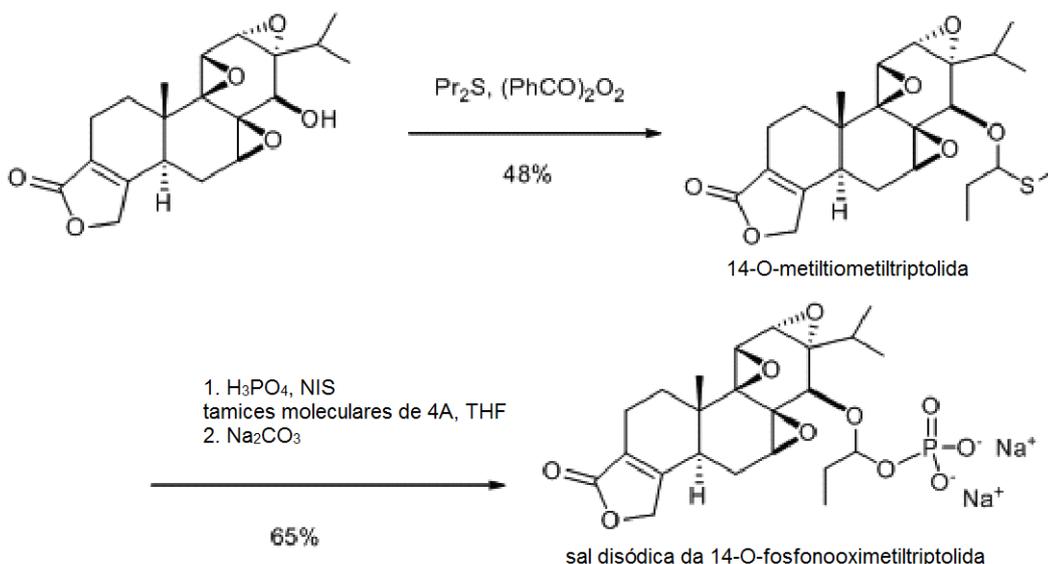


Ejemplo 3: Sal de disodio de 14-O-fosfonooxietilriptolida.

5 A una solución que contiene 14-O-metiltioetilriptolida (52 mg, 0,12 mmol), ácido fosfórico (82 mg, 0,84 mmol) y tamices moleculares de 4 Å (0,45 g) en THF (10 ml) a 0 °C se agregó N-yodosuccinimida (41 mg, 0,18 mmol) y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Celite, y los sólidos fueron lavados con THF. El filtrado fue tratado con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1 M hasta que estaba incoloro y el filtrado fue tratado con una solución de carbonato de sodio (13 mg en 3 ml de agua, 0,12 mmol). El filtrado fue evaporado abajo presión reducida y la solución de agua residual fue extraída con éter (ml 3x3). La capa acuosa fue evaporada a sequedad y el residuo resultante fue purificado por cromatografía (C18), eluyendo con un gradiente de metanol 0-100 % en agua para dar la sal de disodio de 14-O-fosfonooxietilriptolida (46 mg, rendimiento de 72 %) como un polvo incoloro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  0,68 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,70 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 1,03 (s, 3H), 1,21 (m, 1H), 1,57 (d, 3H,  $J = 5,3$  Hz), 1,58 (m, 1H), 1,94 (dd, 1H,  $J_1 = 14,7$  and  $J_2 = 13,4$  Hz), 2,08-2,61 (m, 4H), 2,62 (m, 1H), 3,27 (d, 1H,  $J = 5,5$  Hz), 3,45 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,72 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,79 (s, 1H), 4,63 (m, 2H), 6,43 (q, 1H,  $J = 5,3$  Hz) ppm; RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  13,5, 16,9, 17,0, 17,1, 21,4, 23,5, 26,8, 29,5, 35,9, 40,3, 54,0, 55,1, 59,4, 61,2, 63,6, 64,2, 69,8, 75,8, 76,5, 91,6, 125,6, 164,2, 177,2 ppm; HRMS calculado para  $(\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{P})$  m/z requerido  $[\text{M}+1]^+$  483,1137, m/z encontrado 483,1134.

20 Preparación de 14-O-metiltioetilriptolida.

25 A una solución de triptolida (100 mg, 0,28 mmol) y sulfuro de etilo (0,24 ml, 2,24 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a 0 °C se agregó peróxido de benzoilo (0,27 g, 1,12 mmol) en cuatro porciones iguales durante 20 minutos y luego la mezcla fue agitada a 0 °C por 1 hora y luego a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla fue diluida con acetato de etilo y lavada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % y luego salmuera. La fase orgánica fue secada sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y evaporada. El residuo fue purificado mediante cromatografía instantánea de gel de sílice (1:1 hexano/acetato de etilo) para dar 14-O-metiltioetilriptolida (60 mg, rendimiento de 50 %) como un polvo incoloro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,68 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,70 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 1,04 (s, 3H), 1,20 (m, 1H), 1,57 (d, 3H,  $J = 5,3$  Hz), 1,59 (m, 1H), 1,88 (dd, 1H,  $J_1 = 14,7$  and  $J_2 = 13,4$  Hz), 2,19 (s, 3H), 2,06-2,27 (m, 4H), 2,62 (m, 1H), 3,24 (d, 1H,  $J = 5,5$  Hz), 3,42 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,70 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,73 (s, 1H), 4,61 (m, 2H), 5,02 (q, 1H,  $J = 5,3$  Hz) ppm; RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  13,6, 14,8, 16,9, 17,0, 17,1, 21,0, 23,5, 26,4, 29,6, 35,8, 40,5, 54,0, 55,2, 59,4, 61,3, 63,7, 64,2, 69,9, 75,8, 76,7, 125,6, 160,2, 173,2 ppm; HRMS calculado para  $(\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{O}_6\text{SNa})$  m/z requerido  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  457,1763, m/z encontrado 457,1765.



## Ejemplo 4: Síntesis de sal de disodio de 14-O-fosfonoxipropiltriptolida.

5 A una solución que contiene 14-O-metilpropiltriptolida (54 mg, 0,12 mmol), ácido fosfórico (82 mg, 0,84 mmol) y tamices moleculares de 4 Å (0,45 g) en THF (10 ml) a 0 °C se agregó N-yodosuccinimida (41 mg, 0,18 mmol) y la mezcla fue agitada a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla de reacción fue filtrada a través de Celite y los sólidos fueron lavados con THF. El filtrado fue tratado con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  1 M hasta que estaba incoloro y el filtrado fue tratado con una solución de carbonato de sodio (13 mg en 3 ml de agua, 0,12 mmol). El filtrado fue evaporado bajo presión reducida y la solución de agua residual fue extraída con éter (ml 3x3). La capa acuosa fue evaporada a sequedad y el residuo resultante fue purificado mediante cromatografía (C18), eluyendo con un gradiente de metanol 0-100 % en agua para proveer la sal de disodio de 14-O-fosfonoxipropiltriptolida (43 mg, rendimiento de 65 %)

10 como un polvo incoloro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  0,66 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,68 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,99 (t, 3H,  $J = 5,3$  Hz), 1,03 (s, 3H), 1,20 (m, 1H), 1,53 (m, 1H), 1,90 (dd, 1H,  $J_1 = 14,7$  and  $J_2 = 13,4$  Hz), 2,04-2,66 (m, 4H), 2,65 (m, 3H), 3,27 (d, 1H,  $J = 5,5$  Hz), 3,49 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,71 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,78 (s, 1H), 4,69 (m, 2H), 6,31 (q, 1H,  $J = 5,3$  Hz) ppm; RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7,55, 13,5, 16,2, 16,9, 17,2, 20,8, 23,2, 26,1, 28,4, 34,7, 38,5, 54,1, 55,0, 59,0, 61,3, 62,5, 63,9, 68,5, 75,4, 76,4, 91,9, 125,7, 160,1, 174,5 ppm; HRMS calculado para ( $\text{C}_{23}\text{H}_{29}\text{O}_{10}\text{P}$ )  $m/z$  requerido  $[\text{M}+1]^+$  497,1294,  $m/z$  encontrado 497,1292

## 20 Preparación de 14-O-metilpropiltriptolida.

A una solución de triptolida (100 mg, 0,28 mmol) y sulfuro de propilo (0,32 ml, 2,24 mmol) en acetonitrilo (10 ml) a 0 °C se agregó peróxido de benzoilo (0,27 g, 1,12 mmol) en cuatro porciones iguales durante 20 minutos y la mezcla fue agitada a 0 °C por 1 hora y luego a temperatura ambiente por 1 hora. La mezcla fue diluida con acetato de etilo y lavada con  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 10 % y luego salmuera. La fase orgánica fue secada sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada y evaporada. El residuo fue purificado mediante cromatografía instantánea de gel de sílice (1:1 hexano/acetato de etilo) para dar el 14-O-metilpropiltriptolida (60 mg, rendimiento de 48 %) como un polvo incoloro. RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0,65 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,67 (d, 3H,  $J = 6,8$  Hz), 0,99 (t, 3H,  $J = 5,3$  Hz), 1,01 (s, 3H), 1,20 (m, 1H), 1,59 (m, 1H), 1,88 (dd, 1H,  $J_1 = 14,7$  and  $J_2 = 13,4$  Hz), 2,18 (s, 3H), 2,01-2,26 (m, 4H), 2,62 (m, 3H), 3,24 (d, 1H,  $J = 5,5$  Hz), 3,42 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,70 (d, 1H,  $J = 3,1$  Hz), 3,73 (s, 1H), 4,61 (m, 2H), 5,03 (q, 1H,  $J = 5,3$  Hz) ppm; RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7,68, 13,5, 14,6, 16,2, 17,0, 17,2, 21,4, 23,2, 26,1, 28,9, 34,7, 39,5, 54,1, 55,6, 59,0, 61,3, 63,5, 64,0, 69,5, 75,1, 76,4, 125,1, 160,9, 173,5 ppm; HRMS calculado para ( $\text{C}_{24}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{SNa}$ ) requerido  $m/z$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  471,1920, hallado  $m/z$  471,1918.

## 35 Ejemplo 5: Propiedades químicas de los compuestos de fórmula I.

Las propiedades químicas de los compuestos de la invención fueron evaluadas. La solubilidad acuosa y estabilidad química fueron medidas. Utilizando una solución del compuesto del ejemplo 1, con pH ajustado a 7,4, la solubilidad a temperatura ambiente, fue determinada que era de 61,4 mg/ml. La estabilidad de los compuestos de la invención fue evaluada en tampón Tris (pH, 7,4) y Tampón boratol pH de borato (pH 7,4) a temperatura ambiente. Después de un período de 1 mes (uno), no se observó degradación del compuesto del ejemplo 1. Los resultados son resumidos en la siguiente tabla.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de los compuestos fórmula I

Compuesto	Solubilidad (mg/ml) tampón Tris, temperatura ambiente	Estabilidad química (t <sub>1/2</sub> ) tampón Tris, temperatura ambiente	Estabilidad química (t <sub>1/2</sub> ), tampón borato, temperatura ambiente	Hidrólisis enzimática(t <sub>1/2</sub> ), fosfatasa alcalina, 37 °C
Compuesto del ejemplo 1/2	61,4	*	*	2 min
Compuesto del ejemplo 3	>50	*	*	9 min
Compuesto del ejemplo 4	>50	*	*	17 min

\*No se observó degradación después de un mes.

Ejemplo 6: Conversión enzimática *in vitro* del compuesto 1.

- 5 El compuesto 1 se convierte en la forma de triptolida activa mediante la acción de la enzima fosfatasa alcalina. Se llevó a cabo un experimento *in vitro* para estudiar la bioconversión del compuesto profármaco triptolida de la invención. La bioconversión *in vitro* fue simulada utilizando fosfatasa alcalina (de mucosa intestinal bovina, Tipo VII-S disponible de Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri) en tampón borato pH de glicina (pH 9,8).
- 10 Las fosfatasas alcalinas son un grupo de enzimas que encontradas principalmente en el hígado (isoenzima ALP-1) y hueso (isoenzima ALP-2) con pequeñas cantidades siendo producidas por el revestimiento celular del intestino delgado (isoenzima ALP-3), placenta y riñones. Las fosfatasas alcalinas dividen el fósforo para crear un pH alcalino. Otras enzimas además de la fosfatasa alcalina pueden contribuir a la hidrólisis *in vivo* también.
- 15 De la figura 3, se puede ver que las cantidades decrecientes de la forma de profármaco de triptolida fueron coincidentes con las cantidades incrementadas proporcionadas de la forma activa liberada triptolida. Además, fue observado que la conversión ocurría en un período de tiempo relativamente corto, con la mayoría de la conversión tomando lugar en el periodo de tiempo inicial de 10 minutos.
- 20 La constante de degradación de primer orden fue calculada al ajustar la concentración restante versus el tiempo de incubación. La vida media de degradación (t<sub>1/2</sub>) del compuesto 1 fue determinado que era de 2 minutos.

Ejemplo 7: estudio de viabilidad celular *in vitro* comparativa.

- 25 Se llevó a cabo un experimento para evaluar la viabilidad celular *in vitro* comparativa utilizando triptolida, el profármaco de triptolida (compuesto 1) y testigo (sin triptolida o la forma de profármaco). La viabilidad celular fue determinada utilizando el kit 8 de conteo celular de Dojindo (disponible de Dojindo laboratorios, Rockville, Maryland). Células de cáncer pancreático fueron sembradas a una placa de 96 cavidades a 2 x 10<sup>3</sup> células por cavidad y se permite que se adhieran de la noche a la mañana. Luego las células fueron tratadas con el profármaco de triptolida
- 30 (compuesto 1) de la invención y triptolida natural a varias concentraciones por periodos de 24 horas y 48 horas. Se agregó el sustrato de tetrazolio (10 µl) a cada cavidad de la placa. Las placas fueron incubadas a 37 °C por 1 hora, después de lo cual se midió la absorbancia a 460 nm. Cada experimento fue efectuado por triplicado y repetido tres veces independiente.
- 35 El efecto del compuesto 1 y triptolida sobre la viabilidad de células de cáncer pancreático fue observado enseguida de la incubación en medio que contiene el profármaco de triptolida a concentraciones que varían de 50 a 200 nmol/l a 24 horas y 48 horas. Los datos fueron recolectados y convertidos a las gráficas de la figura 4 (viabilidad celular de Mia-Paca a 48 horas), figura 5 (viabilidad celular de Panc-1 a 24 y 48 horas) y figura 6 (viabilidad celular S2VP10 a 24 y 48 horas).
- 40 Como se puede ver de cada una de las figuras y datos anteriores, la presencia del profármaco de triptolida y fosfatasa alcalina y la forma natural de triptolida redujeron significativamente la viabilidad celular pancreática *in vitro* de manera dependiente del tiempo y la dosis.

Ejemplo 8: Estudio *in vivo* comparativo del compuesto 1 en ratones.

- 50 Treinta ratones descubiertos de la cepa atómica nu/nu fueron obtenidos del National Cancer Institute (NCI) (Rockville, Maryland) y mantenidos en un equipo RAR. Los ratones fueron anestesiados de acuerdo con las recomendaciones del equipo RAR utilizando cetamina 75-200 mg/kg y xilacina 4,8 mg/kg. Se hizo una pequeña incisión de 3 mm en el lado izquierdo de la pared abdominal y el bazo fue jalado con tenazas lo suficiente para exponer y tener acceso al páncreas. Se preparó el medio celular MiaPaca-2 y fue mantenido sobre hielo hasta la administración a los ratones. En cada uno de los ratones, 1 millón de células MiaPaca-2 suspendidas en MATRIGEL™ (disponible de Becton-Dickinson Corporation, Franklin Lakes, New Jersey) fueron inyectadas a la cola del páncreas (identificado por su anexión anatómica con el bazo) utilizando una jeringa de Hamilton. En seguida de

la administración de las células, la jeringa fue mantenida estable por 5-10 segundos adicionales para permitir que el MATRIGEL™ se asiente. El bazo fue vuelto a colocar a la cavidad abdominal y la pared abdominal fue cerrada mediante sutura de vicrilo de manera continua. Se aplicó apósito a la herida y fue y cerrada utilizando sujetadores de heridas. Luego los ratones fueron transferidos a una almohadilla de calentamiento hasta que están plenamente recuperados antes de ser devueltos a la jaula. La medicación contra el dolor post-operativa (buprenorfina 0,1 mg/kg) fue administrada intraperitonealmente inmediatamente después de la plena recuperación de anestesia para impedir depresión respiratoria y administrada cada 12 horas por 2 días. Los sujetadores de herida fueron removidos de los ratones después de 7 días de cirugía.

Los ratones fueron aleatorizados en 3 grupos, cada grupo tiene 10 ratones. Los grupos fueron como siguen: grupo testigo, grupo de triptolida y el grupo de profármaco de triptolida (compuesto 1). El grupo testigo consistía de ratones que fueron inyectados intraperitonealmente con vehículo de DMSO. Los sujetos del grupo triptolida fueron inyectados con 0,2 mg/kg de triptolida disuelto en DMSO y diluido con solución salina de pH regulado de fosfato a un volumen de 100  $\mu$ l, las inyecciones intraperitoneales son diarias en un período de 60 días. Los sujetos del compuesto 1 fueron inyectados intraperitonealmente diariamente por 60 días con 0,28 mg/kg del compuesto disuelto en solución salina de pH regulado de fosfato diluida a un volumen de 100  $\mu$ l.

Los ratones fueron eutanizados bajo anestesia en la conclusión de los tratamientos de 60 días. Las muestras fueron recolectadas (sangre, pulmón, bazo, hígado, riñones y tejido de tumor) y el volumen y peso del tumor fueron medidos y comparados entre los diferentes grupos. Se hicieron observaciones en el crecimiento loco-regional y crecimiento de cáncer.

La figura 8 (fotografías del grupo testigo), figura 9 (fotografías del grupo de triptolida) y figura 10 (fotografías del profármaco de triptolida del grupo del ejemplo 1) son una colección de fotografías que muestran el crecimiento final del tumor de cada uno de los grupos de ratones del experimento *in vivo*. La figura 11 es una fotografía de la colección de tumores extirpados tomados de ratones de cada uno de los grupos y alineados a lo largo de una hilera correspondiente a cada grupo.

Los tumores extirpados del grupo de testigo sin tratar fueron considerable más grandes a 60 días que aquellos extirpados de los otros dos grupos, mostrando crecimiento agresivo continuo de las células de tumor pancreático. En contraste, el grupo del compuesto del ejemplo 1 exhibió inhibición de crecimiento de tumor pancreático considerable en comparación con el grupo testigo sin tratar e inhibición de célula de tumor efectiva sustancial en comparación con forma natural de triptolida. Refiriéndose ahora a la figura 11 y 12, que muestran el peso y volumen del tumor comparativo entre los tres grupos respectivamente, los tumores del grupo de testigo fueron considerablemente más grandes tanto en términos de peso (g) y volumen ( $\text{cm}^3$ ) en comparación con los datos del tumor del grupo de triptolida y el grupo de profármaco de triptolida (compuesto 1).

Así, cuando es administrado a un mamífero viviente *in vivo*, el compuesto de profármaco de triptolida de la invención puede inhibir efectivamente el crecimiento del tumor y la efectividad del efecto inhibitor es comparable con la forma sin profármaco de triptolida natural. Como se puede ver de los datos y figuras anteriores, el crecimiento de tumor del cáncer pancreático en los ratones tratados con triptolida natural y el profármaco de triptolida (compuesto 1) por 60 días exhibió un volumen de tumor significativamente reducido en comparación con el grupo testigo sin tratar. Además, es significativo que tanto en los sujetos del grupo de triptolida y profármaco de triptolida, no hubo impacto significativo evidente sobre el peso corporal y ningún signo evidente de toxicidad en los sujetos. Así, los compuestos de la invención pueden proveer inhibición de tumor e inhibir el crecimiento de célula de cáncer y en particular crecimiento de célula de cáncer pancreático. Adicionalmente, los compuestos de la invención podrían también proveer la base para el tratamiento efectivo para inhibir el cáncer pancreático con bajos efectos secundarios tóxicos en mamíferos vivientes.

Ejemplo 9: El compuesto 1 indujo regresión del tumor en un modelo de ratón ortotópico de cáncer pancreático (estudio de dosificación de 60 días).

Células MIA PaCa-2 ( $1 \times 10^6$ ) fueron suspendidas en matrigel e inyectadas a la cola del páncreas de ratones descubiertos hembra de 4-6 semanas de edad. Diez días postimplante de células, los ratones fueron inyectados intraperitonealmente con las concentraciones indicadas del compuesto 1 (0,1, 0,15, 0,3, 0,6 o 0,9 mg/kg) o 0,2mg/kg de triptolida QD por 60 días. Los ratones testigo fueron inyectados con BID salina. El tratamiento fue detenido después de 60 días y los ratones fueron observados por 28 días antes de ser sacrificados. Las muestras de tumor, si las hay, fueron cosechadas de estos ratones y el peso y el volumen del tumor medidos. Si la carga de tumor excedía las directrices de cuidado de animales de la Universidad de Minnesota, los ratones fueron sacrificados en puntos del tiempo más temprano y sus tumores cosechados. La figura 13 ilustra la supervivencia mejorada de ratones tratados con el compuesto 1 y triptolida versus vehículo. La figura 14 ilustra la supervivencia mejorada de ratones tratados con el compuesto 1 versus vehículo. La figura 15 muestra la carga de tumor disminuida, tal como es medida por el volumen de tumor o el peso del tumor, de ratones tratados con el compuesto 1 versus ratones testigo.

65

Ejemplo 10: Compuesto 1 regresión del tumor en un modelo de ratón ortotópico de cáncer pancreático (estudio de dosificación de 21 días).

5 1 x 10<sup>6</sup> células de S2013, una línea de célula de cáncer pancreático altamente metastática, fueron suspendidas en matrigel e inyectada a la cola del páncreas de ratones descubiertos hembra de 4-6 semanas de edad. Siete días post-implante de células, los ratones fueron inyectados intraperitonealmente con 0,42 mg/kg del compuesto 1 por 21 días. El tratamiento fue detenido después de 21 días y los ratones sacrificados. Las muestras de tumor, si las hay, fueron cosechadas de estos ratones y el peso del tumor y el volumen del tumor medidos. Si la carga del tumor excedía las directrices del cuidado de animales de la Universidad de Minnesota, los ratones fueron sacrificados y sus tumores cosechados en un punto en el tiempo más temprano. Los ratones testigo fueron inyectados con solución salina QD. La figura 16 muestra la carga de tumor disminuida, tal como es medida por el volumen del tumor o peso del tumor, de los ratones tratados con el compuesto 1 versus ratones testigo.

15 Ejemplo 11: El compuesto 1 indujo regresión del tumor en un modelo de ratón subcutáneo de colangiocarcinoma.

Células SkChA-1 (5 x 10<sup>5</sup>) fueron suspendidas en matrigel e inyectadas subcutáneamente al flanco izquierdo de ratones descubiertos hembra de 4-6 semanas de edad. Siete días post-implante de células, los ratones fueron inyectados intraperitonealmente con 0,3 mg/kg del compuesto 1 BID por 25 días. El tratamiento fue detenido en este punto y los ratones sacrificados. Las muestras de tumor, si las hay, fueron cosechadas de estos ratones y el peso del tumor y el volumen del tumor medidos. Si la carga de tumor excedía las directrices del cuidado de animales de la Universidad de Minnesota, los ratones fueron sacrificados y sus tumores cosechados en un punto en el tiempo más temprano. Los ratones testigo fueron inyectados con solución salina BID. La figura 17 muestra la carga de tumor disminuida, tal como es medida por el volumen de tumor o peso del tumor, de los ratones tratados con el compuesto 1 versus ratones testigo.

25 Ejemplo 12: La triptolida indujo regresión del tumor en un modelo de ratón ortotópico de neuroblastoma.

30 Las células N2 del neuroblastoma (1 x 10<sup>6</sup>) fueron suspendidas en matrigel e inyectadas al espacio retroperitoneal izquierdo de ratones inmunocompetentes A/J de 4-6 semanas de edad. Tres días post-implante de células, los ratones fueron inyectados con 0,4 mg/kg de triptolida intraperitonealmente por 21 días. El tratamiento fue detenido en este punto y los ratones sacrificados. Las muestras de tumor, si las hay, fueron cosechadas de estos ratones y el peso y el volumen del tumor medidos. Si la carga de tumor excedía las directrices del cuidado de animales de la Universidad de Minnesota, los ratones fueron sacrificados y sus tumores cosechados en un punto en el tiempo más temprano. Los ratones testigo fueron inyectados con DMSO por 21 días. La figura 18 muestra la carga de tumor disminuida en los ratones tratados con triptolida versus los ratones testigo, tal como es medido por el volumen del tumor y masa de tumor.

35 Ejemplo 13: triptolida indujo muerte celular y activación de caspasa-3 en las células de neuroblastoma

40 Células N2a de neuroblastoma y SKNSH fueron tratadas con triptolida, dando como resultado el exterminio celular dependiente de la dosis y del tiempo en N2a, con más del 50 % de células asesinadas con triptolida 62,5 nM a 24 horas y casi el 85 % de células asesinadas con triptolida 250 nM a 48 horas (figura 19). Para confirmar la hipótesis de que la triptolida da como resultado muerte de célula de neuroblastoma vía una ruta apoptótica, la actividad de caspasa-3 fue medida como un marcador de apoptosis. En ambas líneas celulares, los incrementos de actividad de caspasa con dosis más altas de triptolida y una duración de terapia más larga. El tratamiento con triptolida fue asociado con incrementos dependientes de la dosis y el tiempo en los niveles de actividad de caspasa-3 (figura 20). Estos resultados sugieren que la muerte celular moderada por triptolida ocurre vía la inducción de apoptosis.

45 Ejemplo 14: Lo siguiente ilustra las formas de dosificación farmacéuticas representativas, que contienen un compuesto de fórmula I ("Compuesto X") para uso terapéutico o profiláctico en humanos.

(i) Comprimido 1	mg/comprimido
Compuesto X=	0,5
Lactosa	77,5
Povidona	15,0
Croscarmellosa sodio	12,0
Celulosa microcristalina	92,5
Estearato de magnesio	3,0
	185
(ii) Comprimido 2	mg/Comprimido
Compuesto X=	1,0
Celulosa microcristalina	410,0
Almidón	50,0
Almidón glicolato de sodio	15,0

ES 2 552 163 T3

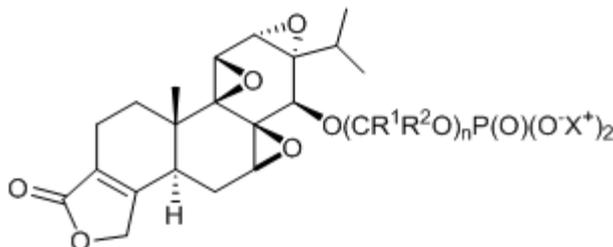
Estearato de magnesio	5,0
	<hr/> 481
iii) Cápsula	mg/Cápsula
Compuesto X=	2,0
Dióxido de silicio coloidal	1,5
Lactosa	465,5
Almidón pregelatinizado	120,0
Estearato de magnesio	3,0
	<hr/> 468
(iv) Inyección 1 (1 mg/ml)	mg/ml
Compuesto X=	0,5
Fosfato de sodio dibásico	12,0
Fosfato de sodio monobásico	0,7
Cloruro de sodio	4,5
Solución de hidróxido de sodio	1,0 N
(ajuste de pH a 8,2-9)	c.s.
Agua para inyección	c.s. a 1 ml
(v) Inyección 1 (1 mg/ml)	mg/ml
Compuesto X=	1
Fosfato de sodio dibásico	12,0
Fosfato de sodio monobásico	0,7
Cloruro de sodio	4,5
Solución de hidróxido de sodio	1,0 N
(ajuste de pH a 8,2-9,0)	c.s.
Agua para inyección	c.s. a 1 ml
(vi) Inyección 2 (10 mg/ml)	mg/ml
Compuesto X=	2
Fosfato de sodio monobásico	0,3
Fosfato de sodio dibásico	1,1
Polietilenglicol	400200,0
Solución de hidróxido de sodio	1,0 N
(ajuste de pH a 8,2-9,0).	c.s.
Agua para inyección	c.s. a 1 ml

5

Las formulaciones anteriores pueden ser obtenidas mediante procedimientos convencionales bien conocidos en el arte farmacéutico.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:

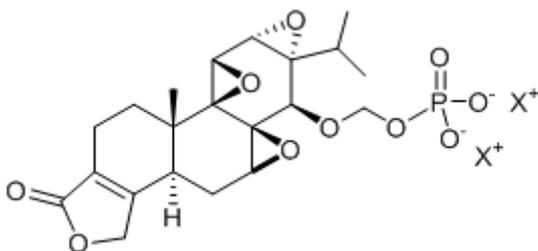


5

en la que:

- 10 cada R<sup>1</sup> es independientemente H, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilalquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o arilo y cada R<sup>2</sup> es independientemente H, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilalquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) o arilo; o R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, junto con el átomo al cual están unidos, forman un cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>7</sub>); en donde cualquier alquilo o cicloalquilo de R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup> pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) y NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup> y en donde cualquier arilo de R<sup>1</sup> o R<sup>2</sup> puede estar opcionalmente sustituido con uno o más grupos seleccionados de halo, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), NR<sup>a</sup>R, nitro y ciano;
- 15 R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), cicloalquilo (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) y arilo o R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup>, junto con el nitrógeno al cual están unidos, forman un pirrolidino, piperidino, piperacino, acetidino, morfolino o tiomorfolino;
- n es 1, 2 o 3 y
- 20 cada X es H; o una sal del mismo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, que es un compuesto de fórmula Ia:



25

en la que X<sup>+</sup> es un catión orgánico o catión inorgánico farmacéuticamente aceptable.

- 30 3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).
4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sup>1</sup> es H.
5. El compuesto de la reivindicación 1 o una cualquiera de las reivindicaciones 3-4, en el que R<sup>2</sup> es H o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).
- 35 6. El compuesto de la reivindicación 1 o una cualquiera de las reivindicaciones 3-5, en el que cada X<sup>+</sup> es H.
7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que cada X<sup>+</sup> es litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, bario, cinc o aluminio.
- 40 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que cada X<sup>+</sup> es de la fórmula HY<sup>+</sup>, donde Y es amoniaco, trietilamina, trometamina, trietanolamina, etilendiamina, glucamina, N-metilglucamina, glicina, lisina, ornitina, arginina, etanolamina o colina.
9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que cada X<sup>+</sup> es Na<sup>+</sup>.
- 45 10. El compuesto de la reivindicación 1, que es el compuesto sal disodio de 14-O-fosfonooximetilriptolida, sal de disodio de 14-O-fosfonooxietilriptolida o sal de disodio de 14-O-fosfonooxipropilriptolida.

11. El compuesto de la reivindicación 1, que es el compuesto sal de sodio de 14-O-fosfonooximetilriptolida.
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 5
13. Un compuesto de fórmula I como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia médica.
- 10
14. Un compuesto de fórmula I como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento profiláctico o terapéutico de cáncer.
- 15
15. Un compuesto de fórmula I como se describe en una cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la inhibición profiláctica o terapéutica del crecimiento de células cancerosas en cáncer que expresa HSP70.

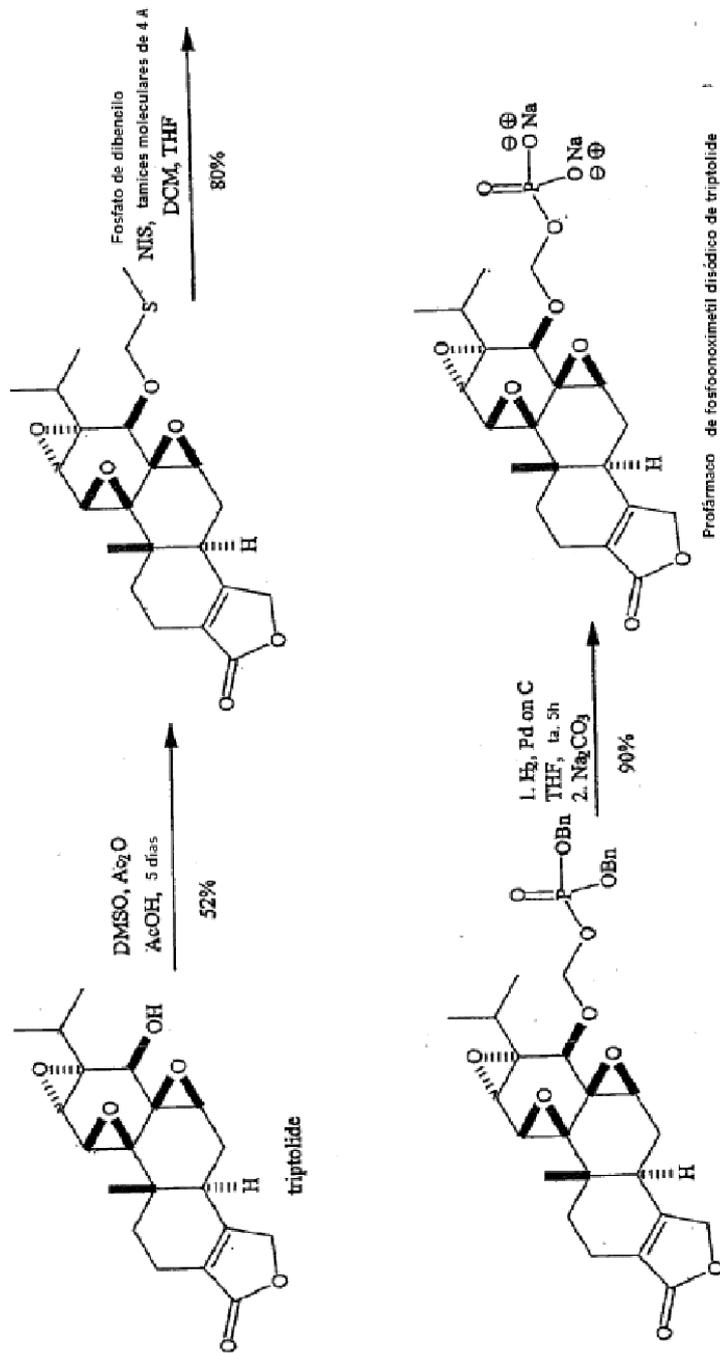
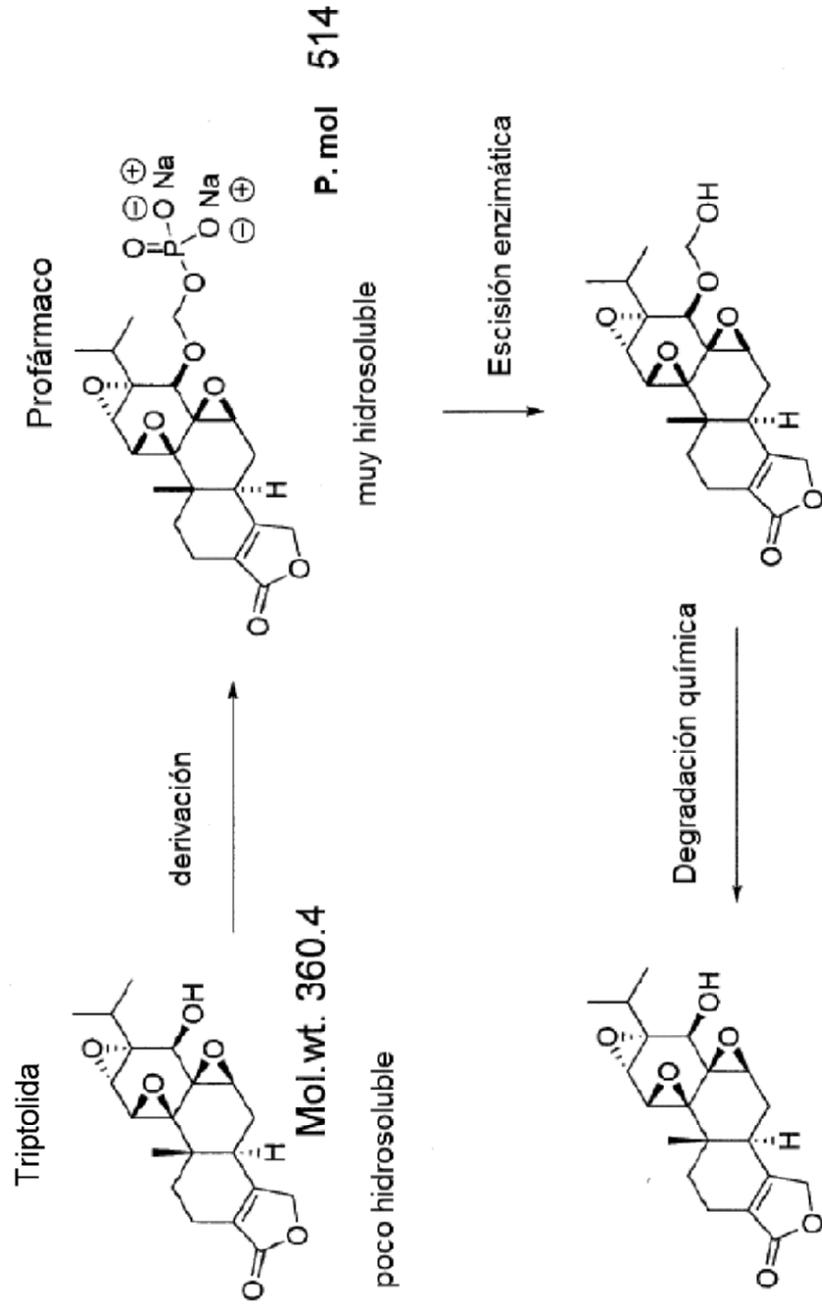


FIG. 1

METABOLISMO Y ESCISIÓN ENZIMÁTICA  
DE PROFÁRMACO DE TRIPTOLIDA (compuesto 1)



Conversión *in vitro* del profármaco de triptolida (compuesto 1) en triptolida

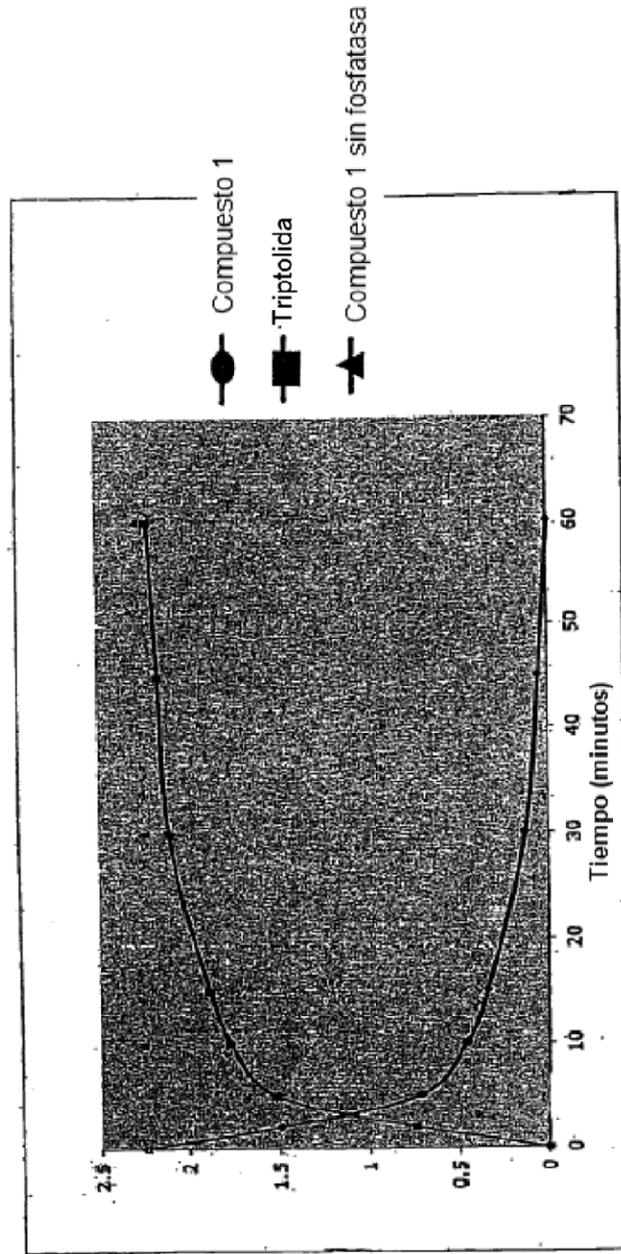


FIG. 3

### Efecto sobre la viabilidad tras 48 h de exposición

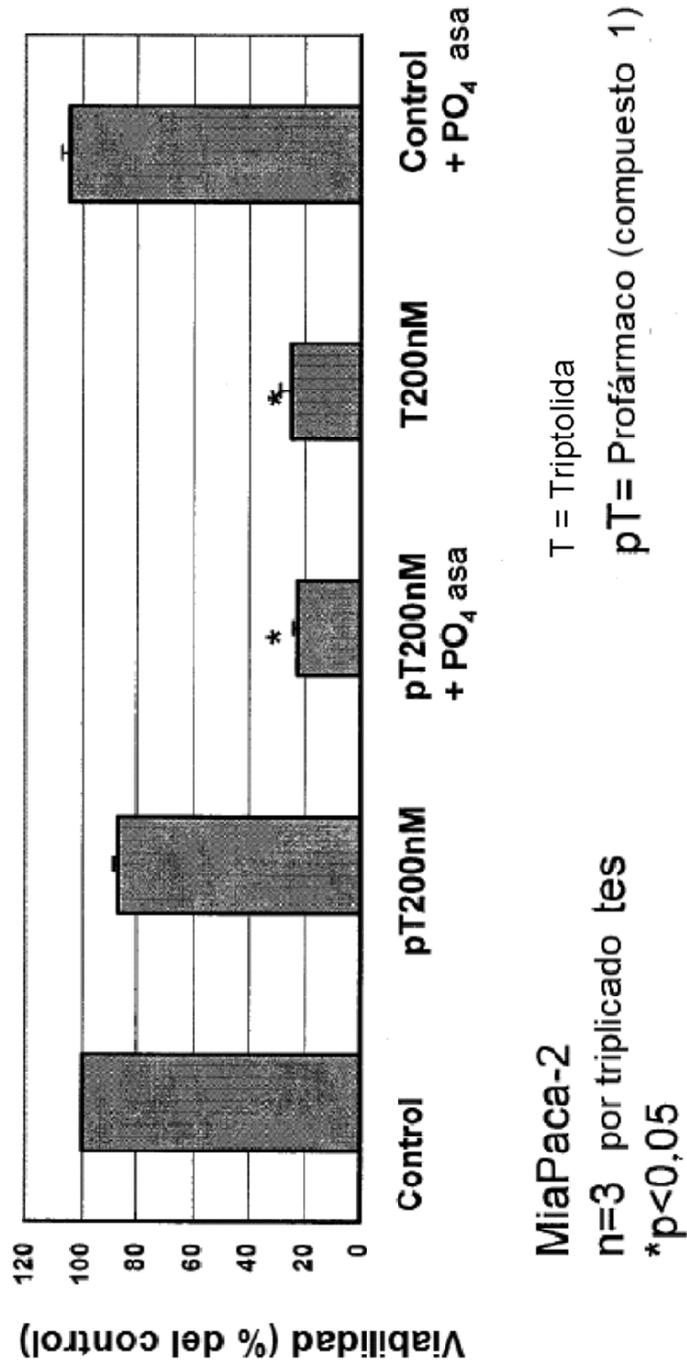
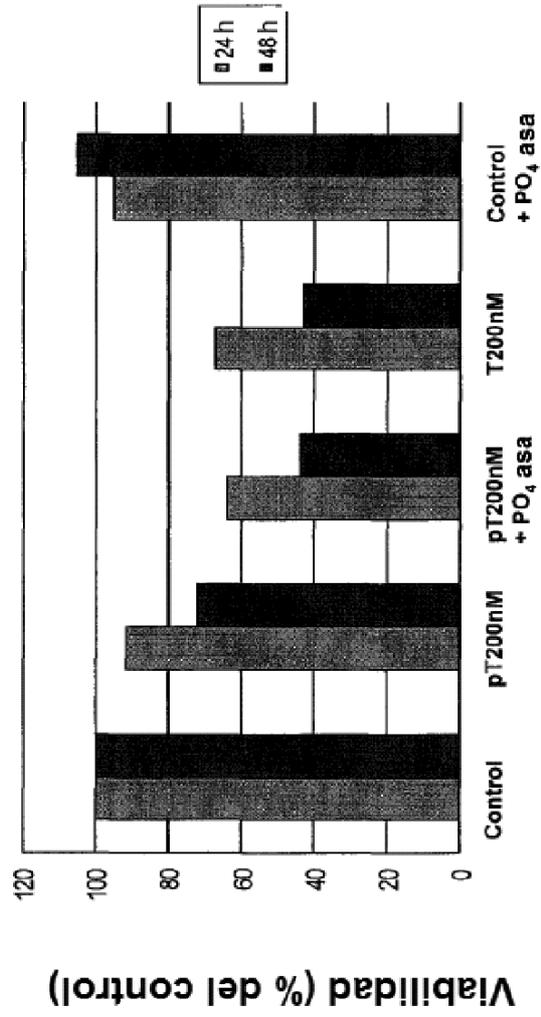


FIG. 4

### Efecto sobre la viabilidad (Panc-1)

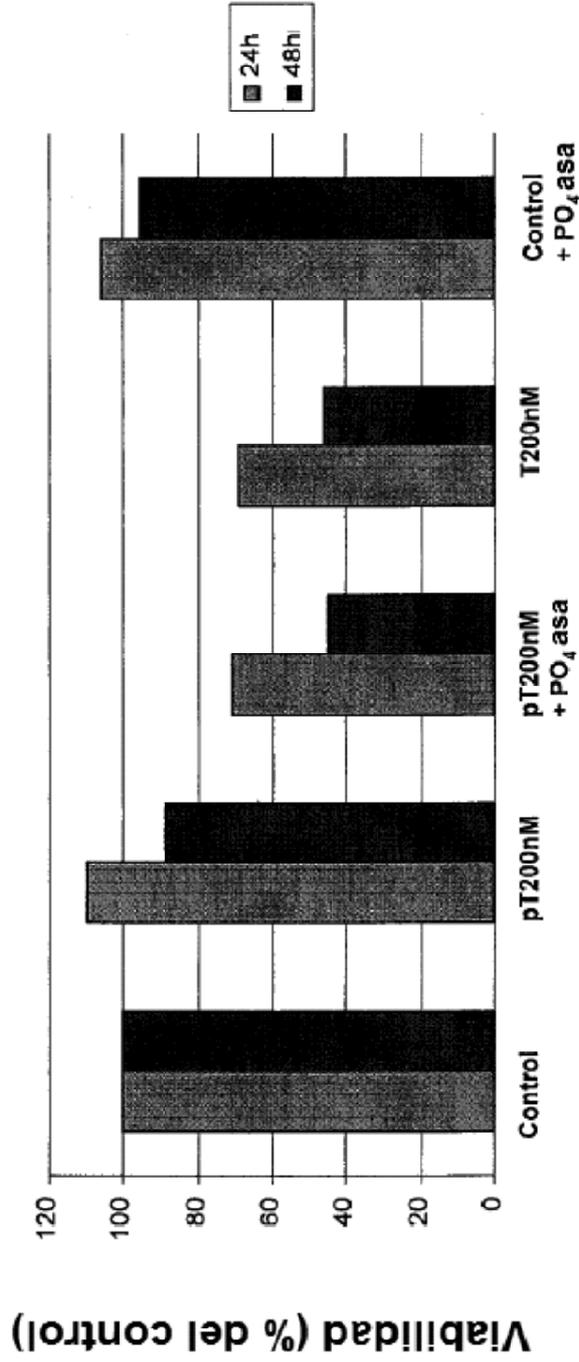


T = Triptolida

pT = Profármaco (compuesto 1)

**FIG. 5**

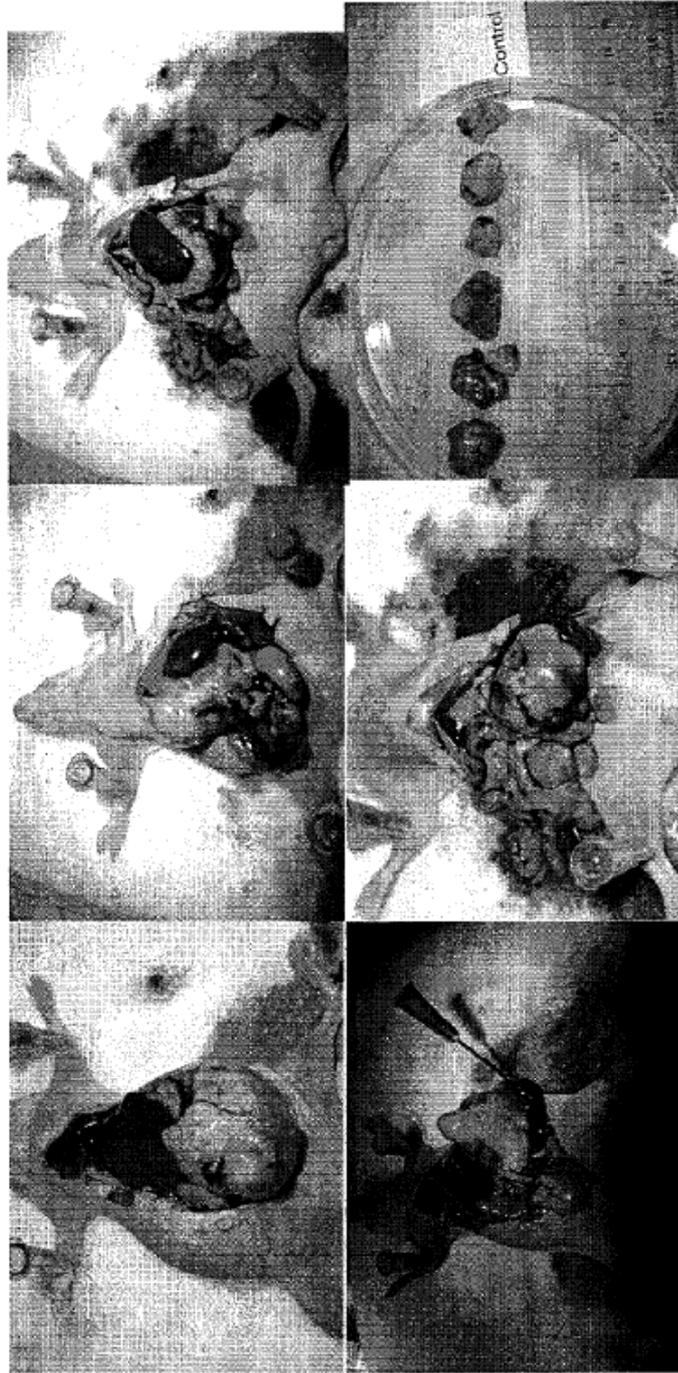
Efecto sobre la viabilidad  
(S2VP10)



T = Triptolida  
pT = Profármaco (compuesto 1)

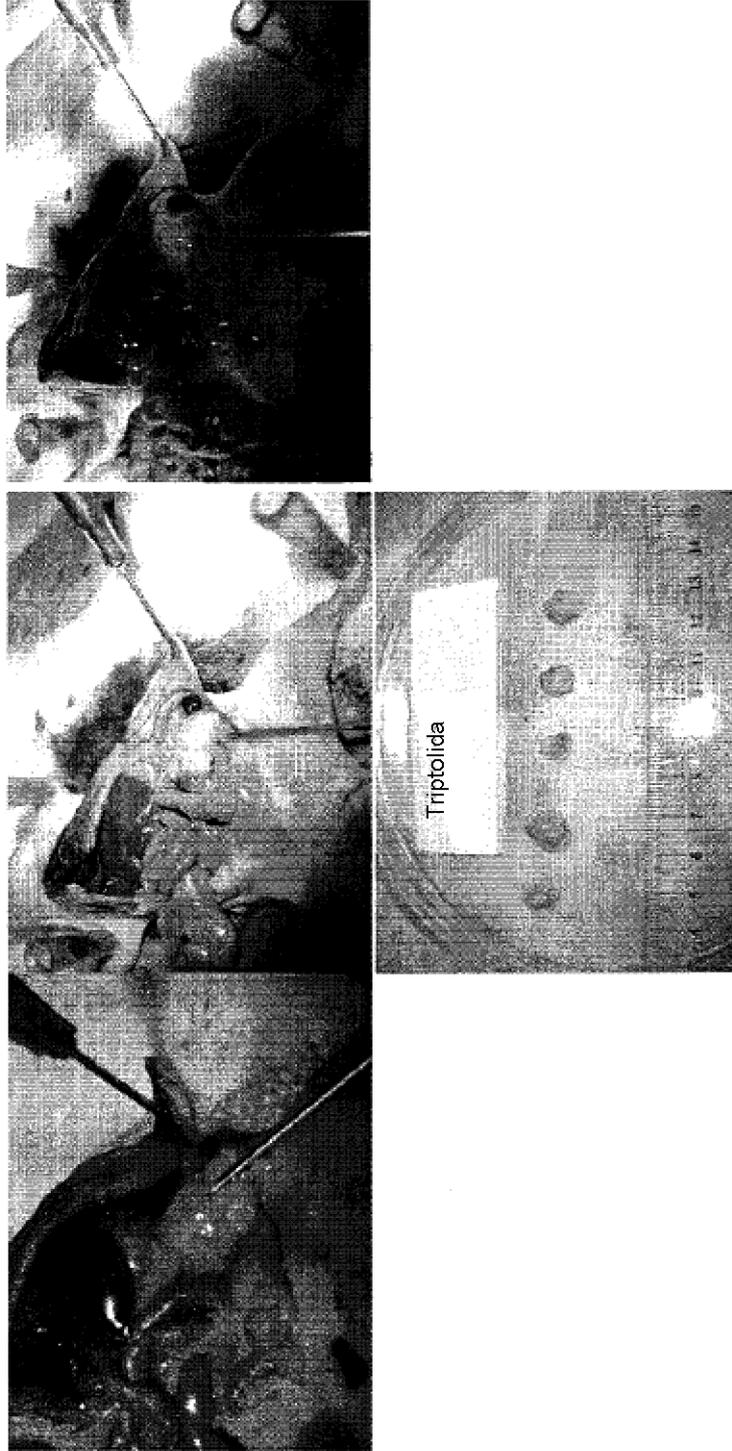
FIG. 6

**Tumores en el grupo control**



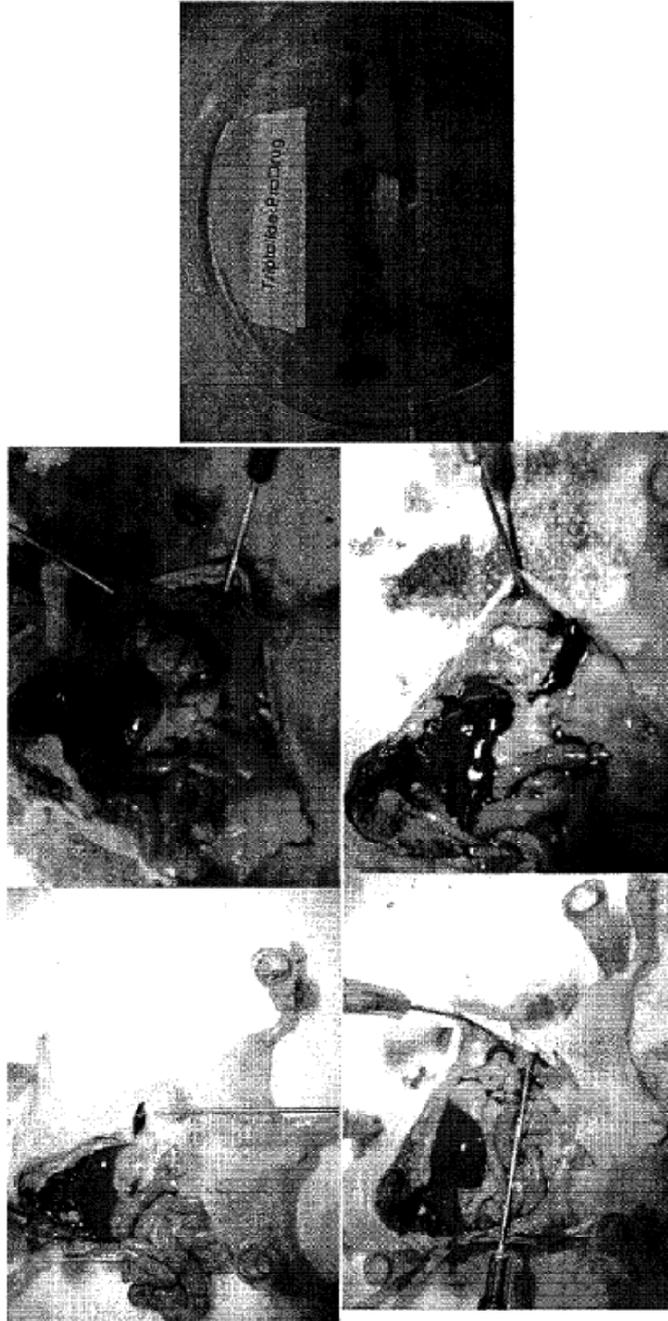
**FIG. 7**

# Tumores en el grupo de triptolida

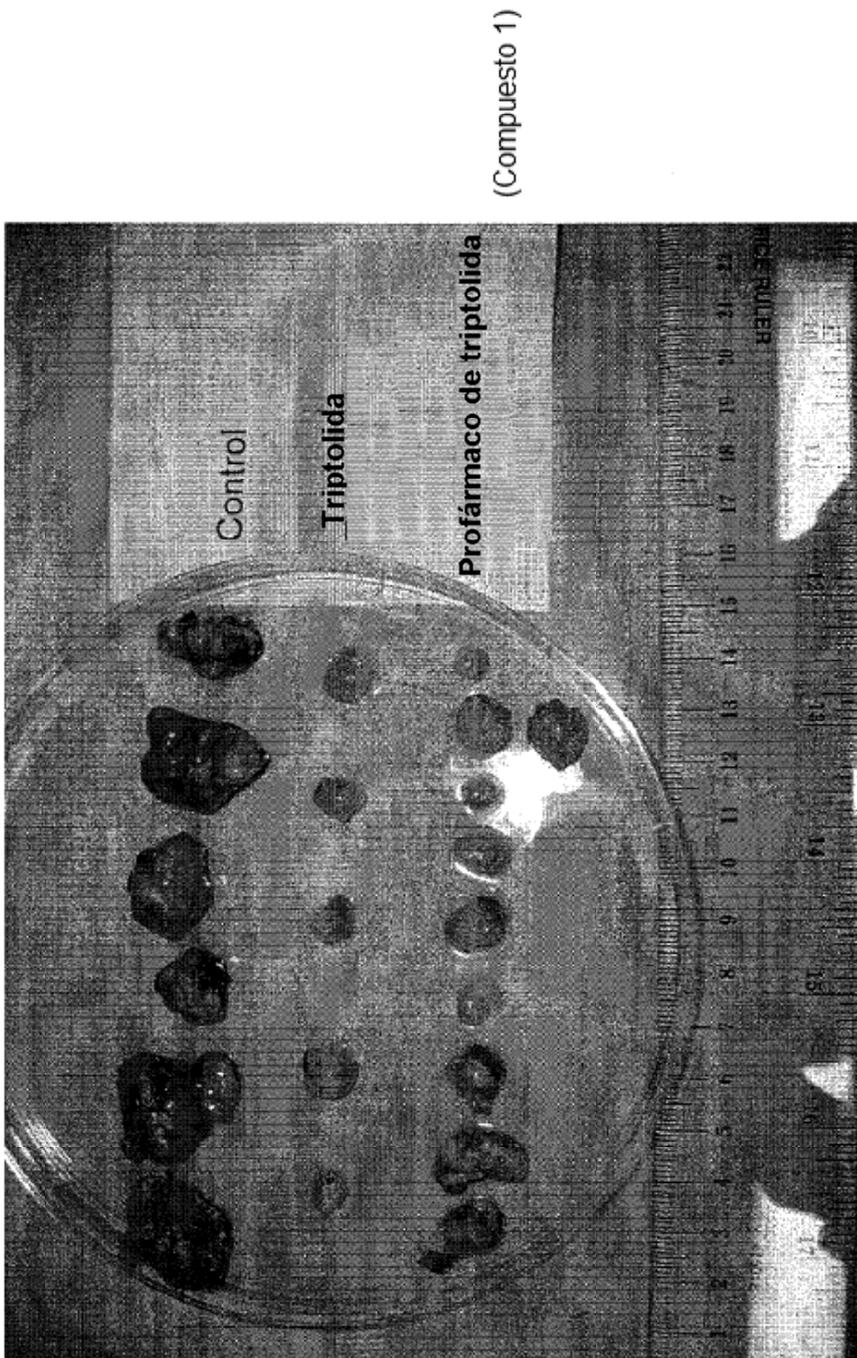


**FIG. 8**

# Tumores en el grupo de profármaco



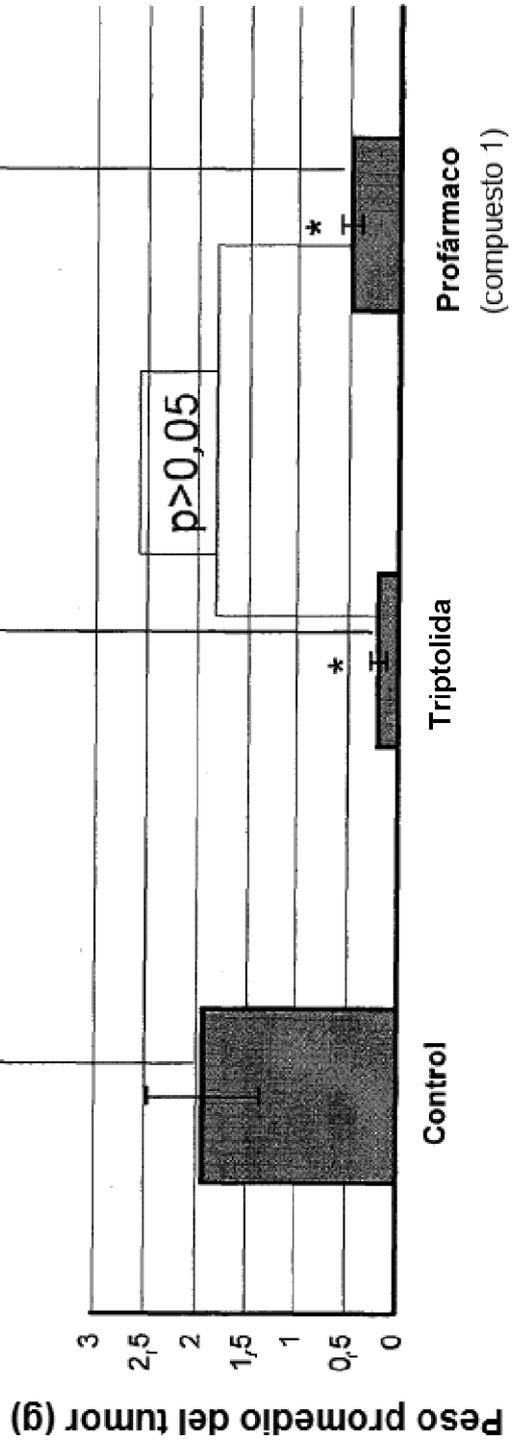
**FIG. 9**



**FIG. 10**

Experimento comparativo *in vivo*

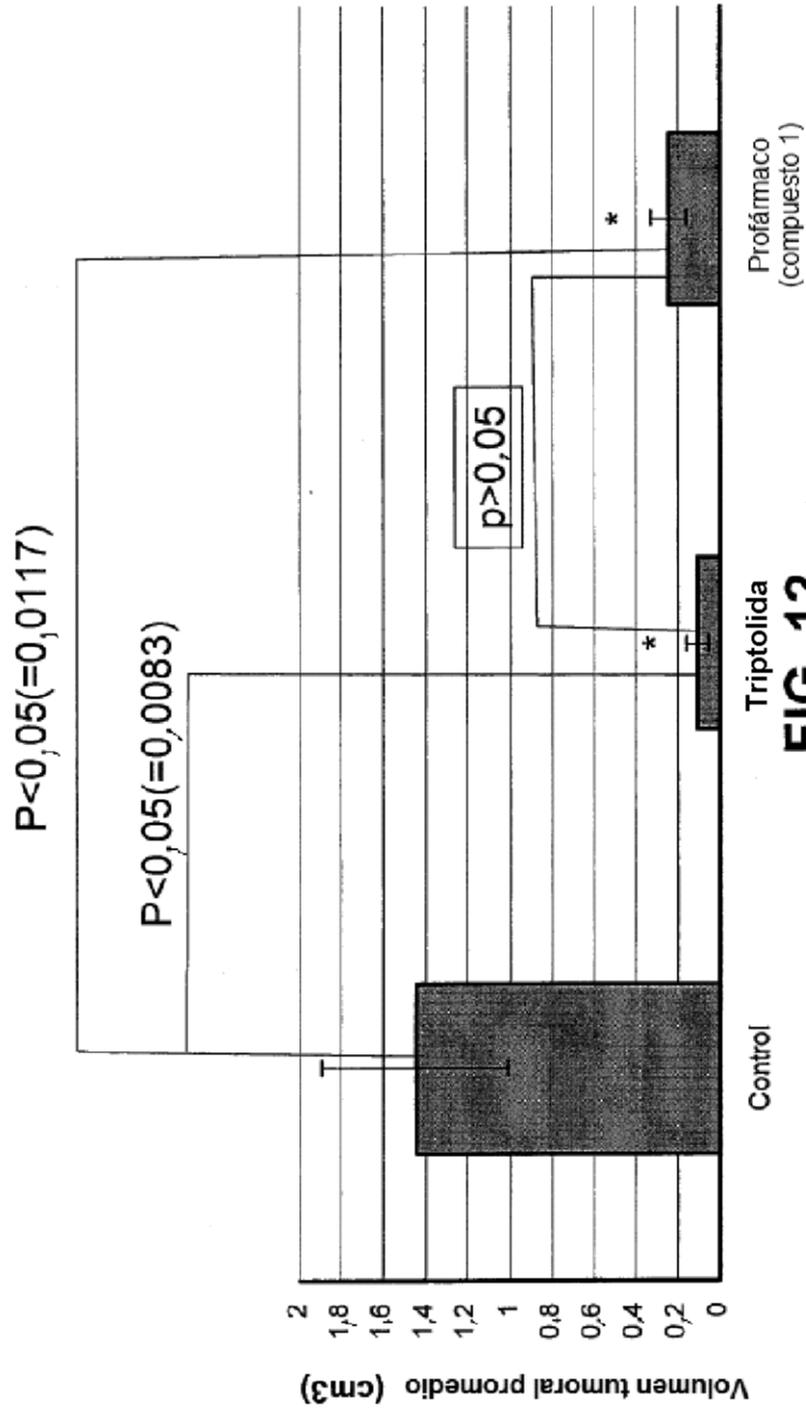
Peso del tumor



**FIG. 11**

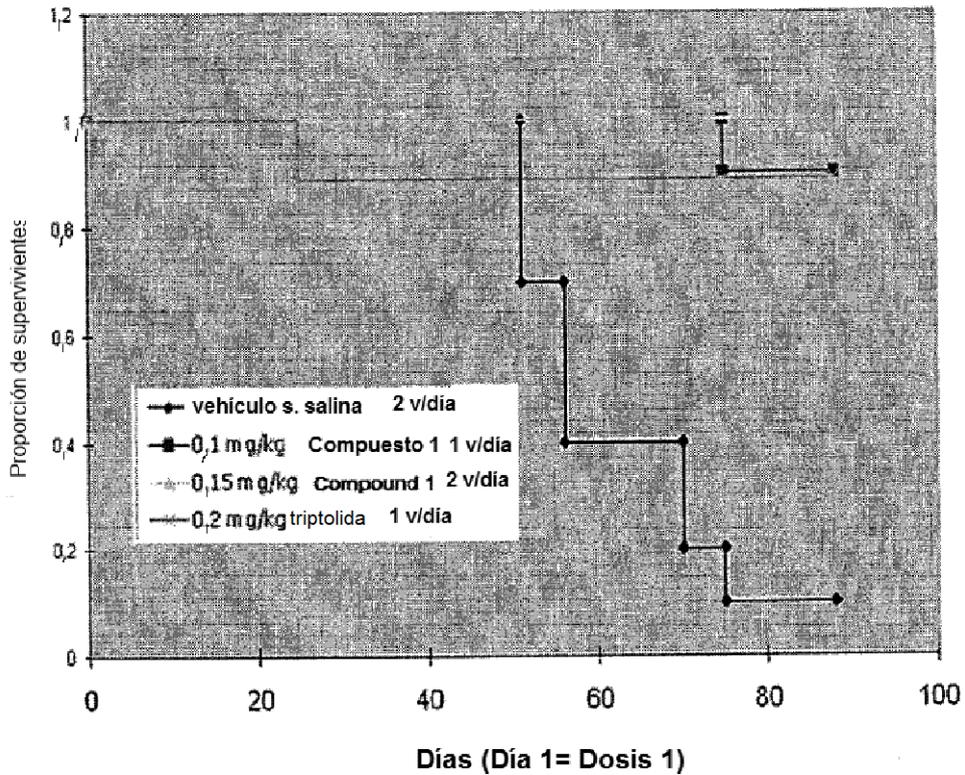
# Experimento comparativo *in vivo*

## Volumen del tumor



**FIG. 12**

Figura 13. Análisis de supervivencia de ratones tratados con el compuesto 1 o control.



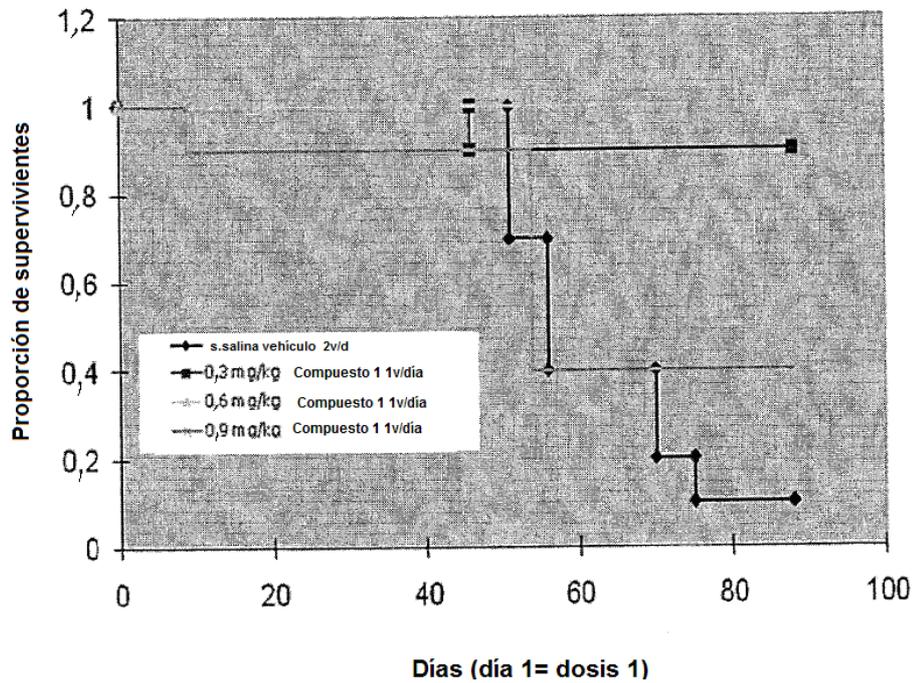
**Vehículo 2v/día:** Todas las muertes se produjeron por la carga

**0,1mg/kg Compuesto 1 1v/día:** 1 muerte observada por la carga tumoral

**0,15mg/kg Compuesto 1 2v/día:** ninguna muerte

**0,2mg/kg Compuesto 1 1v/día:** 1 muerte por lesiones, no relacionada con la carga tumoral ni el efecto del fármaco

Figura 14. Análisis de supervivencia de ratones tratados con el compuesto 1 o control



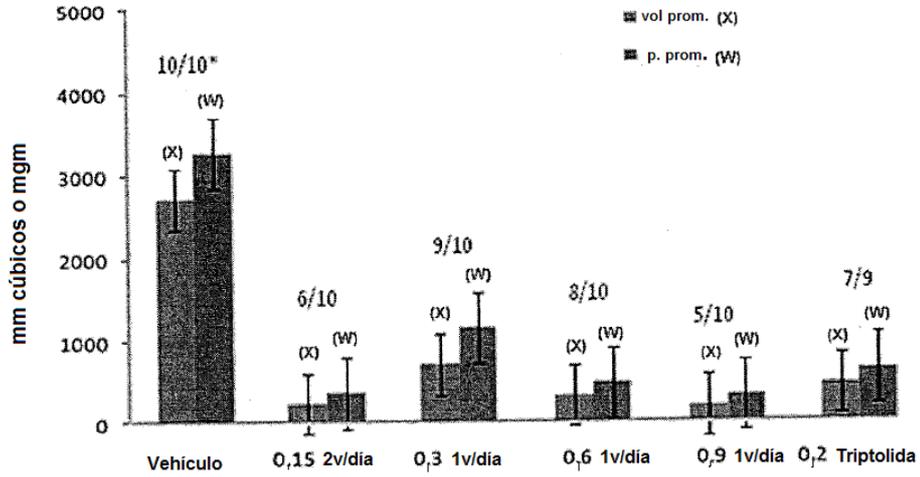
Vehículo 2v/día: Todas las muertes fueron por la carga tumoral

0,3mg/kg Compuesto 1 1v/día: 1 muerte es por lesión no relacionada con la carga tumoral

0,6mg/kg Compuesto 1 1v/día: ninguna muerte

0,9mg/kg Compuesto 1 1v/día: 1 muerte por la inyección el día 6 del estudio, causa indeterminada. El resto de las muertes son por el efecto del fármaco.

Figura 15. Análisis de la carga tumoral (volumen o peso) de ratones tratados con el compuesto 1 o control.



\*# n° de ratones hallados con tumores/n° de ratones en el grupo

Figura 16. Análisis de la carga tumoral (volumen o peso) de ratones tratados con el compuesto 1 o control.

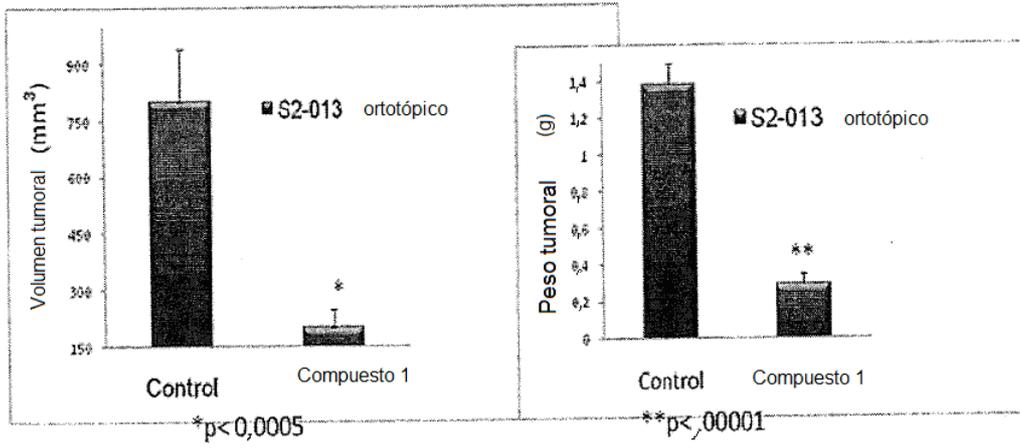


Figura 17. Análisis de la carga tumoral (volumen o peso) de ratones tratados con el compuesto 1 o control.

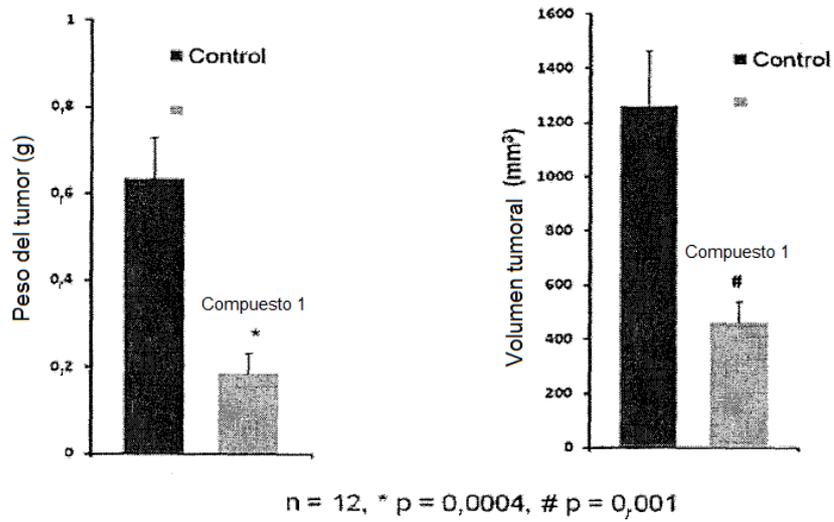


Figura 18. Análisis de la carga tumoral (volumen o peso) de ratones tratados con el compuesto 1 o control.

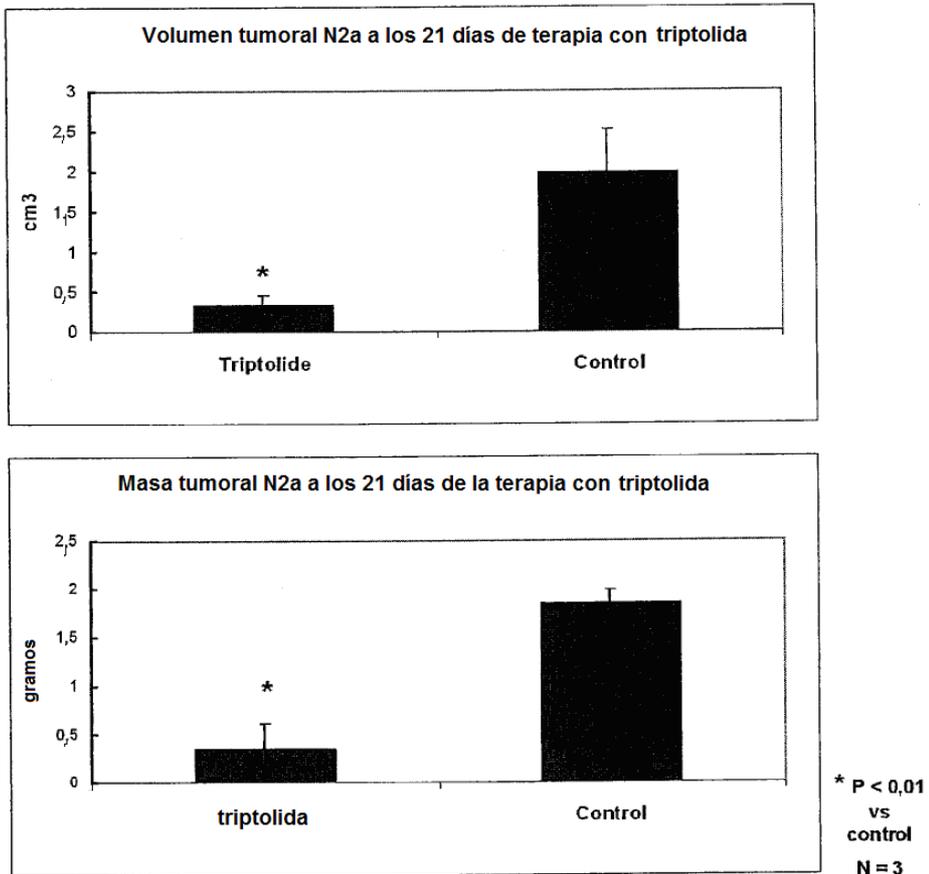


Figura 19 ilustra la viabilidad celular (neuroblastoma N2a y SKNSH) en presencia de triptolide.

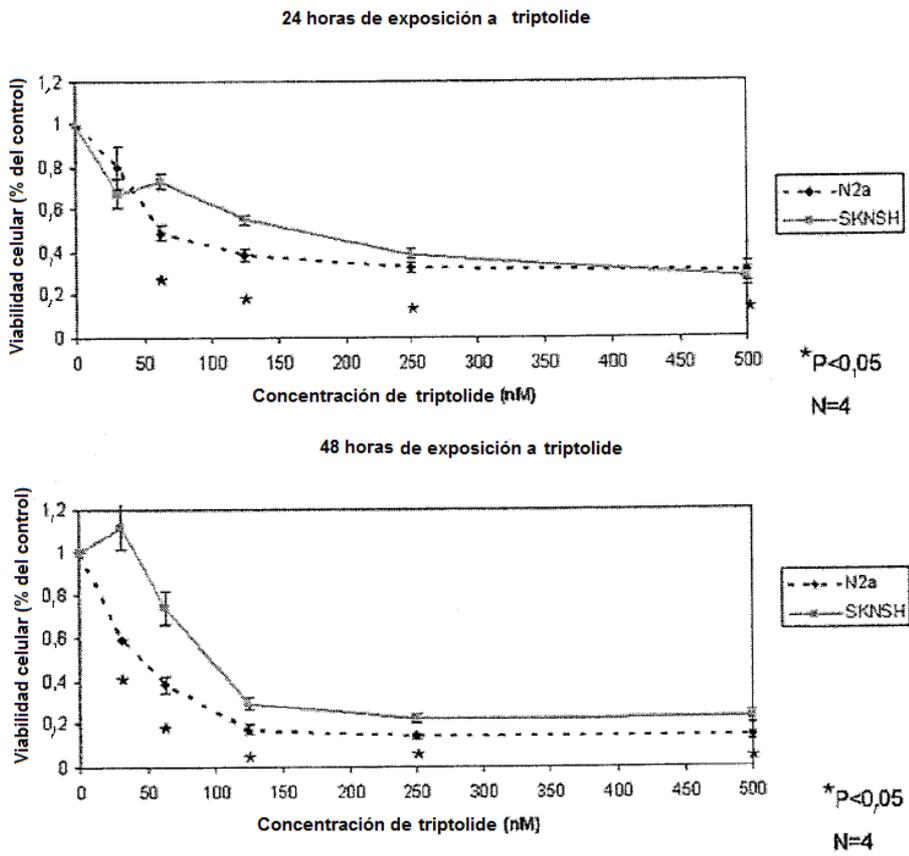


Figura 20 ilustra la actividad de caspasa 3 en presencia de triptolida.

