

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 605 586**

51 Int. Cl.:

C07H 17/04 (2006.01)

A61K 31/704 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.05.2010 PCT/EP2010/003118**

87 Fecha y número de publicación internacional: **20.10.2011 WO11127948**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.05.2010 E 10724281 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2558477**

54 Título: **Análogos de etopósido para el tratamiento de tumores metastásicos**

30 Prioridad:

20.04.2010 WO PCT/EP2010/002409
16.04.2010 WO PCT/EP2010/002347

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.03.2017

73 Titular/es:

CELLACT PHARMA GMBH (100.0%)
Otto-Hahn-Strasse 15
44227 Dortmund, DE

72 Inventor/es:

UTKU, NALAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 605 586 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Análogos de etopósido para el tratamiento de tumores metastásicos

La presente invención se refiere a análogos de etopósido para el tratamiento de pacientes que tienen un tumor que es metastásico y también se refiere a un procedimiento de selección *in vitro* de un paciente para el tratamiento respectivo con un análogo de etopósido de acuerdo con el conjunto de reivindicaciones que se adjunta.

El etopósido es un fármaco quimioterapéutico procedente de la podofilotoxina y actúa como un inhibidor de topoisomerasa II. La enzima topoisomerasa II induce roturas transitorias en la doble cadena del ADN para permitir modificaciones de estructura terciaria del ADN. El etopósido actúa como un veneno de topoisomerasa II que conduce a una estabilización del complejo escindible, dando como resultado roturas múltiples no reparables en la doble cadena.

Hay dos isoformas de topoisomerasa II, la alfa y la beta. La expresión de la topoisomerasa II alfa está regulada con el ciclo celular, con un aumento gradual comenzando en la fase G1 que aumenta en G2/M, mientras que en células quiescentes o en células diferenciadas terminalmente, la topoisomerasa II está extremadamente infra regulada. La acción del etopósido es dependiente del ciclo celular con una actividad máxima durante la fase G2-S.

El etopósido es un importante fármaco antitumoral y normalmente se usa contra una serie de tumores diversos, por ejemplo, cánceres pediátricos incluyendo linfomas linfáticos, rhabdomyosarcomas y neuroblastomas. El etopósido también se usa en el tratamiento de muchos cánceres comunes en adultos. Es la terapia de primera línea en una serie de tumores, por ejemplo, cáncer microcítico de pulmón, linfoma difuso de células grandes, tumor testicular de células germinales (cáncer testicular) y linfoma de Hodgkin. El etopósido también es activo, por ejemplo, en linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, cáncer de vejiga, sarcoma de Ewing, tumores cerebrales y tumores de ovario de células germinales. Sin embargo, hay factores que limitan la aplicabilidad del etopósido, tales como, la mala solubilidad en agua, la inactivación metabólica, la toxicidad con efectos secundarios, tales como leucopenia y neutropenia y la resistencia contra el etopósido que se desarrolla en los pacientes tratados.

En carcinoterapia, las probabilidades de tratamiento y pronóstico satisfactorio de un paciente con tumor dependen en gran medida del tipo y de la localización del tumor. Los tumores metastásicos son tumores que se han propagado desde su órgano de origen respectivo hasta una parte diferente del cuerpo. La tasa de supervivencia y las probabilidades de un tratamiento satisfactorio a menudo dependen de si el tumor es o no local o de si ha metastatizado.

La metástasis se produce cuando las células tumorales se separan de un tumor primario y se propagan a otras partes del cuerpo a través de la sangre y/o del sistema linfático, se depositan en tejidos normales y finalmente proliferan para formar una metástasis. La metástasis requiere el crecimiento invasivo de un tumor, es decir, el crecimiento en las estructuras circundantes. El crecimiento invasivo a menudo conduce a una fisura de la barrera en los vasos sanguíneos y/o linfáticos.

Las metástasis son un distintivo de neoplasia. Son comunes en cáncer avanzado o terminal. Para poder metastatizar, las células neoplásicas han de separarse del tumor primario y degradar la matriz extracelular que separa el tumor del tejido normal circundante. Los tumores metastatizantes tienen mutaciones o capacidades adicionales adquiridas en comparación con los tumores no metastatizantes. Esto incluye la capacidad que tiene el cuerpo para superar los mecanismos de prevención de la metástasis que implican, por ejemplo, a proteínas supresoras de la metástasis. El potencial metastático de las células tumorales depende de la capacidad de fisurar barreras corporales, tales como la membrana basal, de migrar activamente a un vaso sanguíneo y/o linfático, de invadir el vaso y salir de él, de soportar ataques por parte del sistema inmunitario durante la migración en el organismo y de proliferar y formar un nuevo tumor. El potencial metastático es una característica de las células cancerosas neoplásicas y depende de las características genéticas individuales del tumor.

La metástasis está implicada en la mayoría de las muertes por cáncer. La capacidad de un tumor para formar metástasis (por ejemplo en cáncer avanzado o terminal), hace que las probabilidades de éxito del tratamiento de un paciente que padece un tumor, disminuyan considerablemente. A diferencia del tratamiento de un tumor no metastatizante, después de que un tumor haya metastatizado, a menudo el tratamiento del paciente fracasa. Por consiguiente, el éxito inicial en el tratamiento de un paciente, que padece un tumor no metastatizante, con un fármaco particular – con mayor motivo la mera finalización satisfactoria de estudios preclínicos con el fármaco - no predice el éxito en el tratamiento con el fármaco de un tumor que ha formado metástasis (un tumor que es metastático). Por tanto, aunque haya diversas opciones de tratamiento para tumores primarios, sigue habiendo una necesidad de medicamentos que puedan actuar de un modo eficaz sobre los tumores metastásicos más agresivos.

A menudo la función orgánica se reduce debido a la presencia de un tumor en el órgano. Normalmente, el crecimiento de un tumor invasivo, como se define anteriormente, es responsable de la reducción de la función orgánica, si el crecimiento del tumor interfiere con la función fisiológica del órgano, por ejemplo, destruyendo la integridad morfológica y/o fisiológica. Los ejemplos son tumores avanzados o terminales. Hay una necesidad de proporcionar compuestos que muestren un efecto terapéutico también en dichos tumores (más agresivos). De nuevo, no puede predecirse si un compuesto puede usarse satisfactoriamente para tratar dicho tumor a partir del

éxito del compuesto en estudios preclínicos o en el tratamiento de tumores que no reducen una función orgánica.

Una cuestión importante en la quimioterapia de tumores, que se produce en el caso de muchos agentes quimioterapéuticos (incluyendo el etopósido), es que una gran cantidad de pacientes responde inicialmente al tratamiento pero después de un tiempo pierden sensibilidad al agente. Este fenómeno se denomina resistencia.

- 5 Con frecuencia esto está mediado por la expresión del gen de MDR-1 que confiere a las células un fenotipo de resistencia a múltiples fármacos (*multidrug-resistant*). La expresión de MDR-1 se observa, por ejemplo, en la resistencia al etopósido y a otros inhibidores de topoisomerasa II de procedencia natural, tales como antraciclinas y mitoxantrona. Los clones de células resistentes a múltiples fármacos pueden sobrevivir y proliferar a pesar de la presencia de agentes citotóxicos (agentes quimioterapéuticos, fármacos quimioterapéuticos). El gen de MDR-1 (de resistencia a múltiples fármacos 1) codifica una proteína denominada glicoproteína P (glicoproteína de permeabilidad), un transportador de ABC (casete de unión a ATP). La expresión de MDR-1 está relacionada con un mal pronóstico.

- 15 La resistencia contra agentes quimioterapéuticos también puede estar mediada por otros mecanismos, tales como la regulación negativa de mecanismos pro-apoptóticos o la regulación positiva de mecanismos anti-apoptóticos, el aumento de la metabolización del agente o la regulación negativa de su diana (que, en el caso del etopósido, es la topoisomerasa II).

El documento WO 03/0481661 A1 desvela una clase de podofilotoxinas que se usa, por ejemplo, para el tratamiento de pacientes con tumor y la síntesis de estas podofilotoxinas. El tratamiento de tumores que son metastásicos o que reducen una función orgánica no se desvela.

- 20 Wrasidlo W y col., 2002, (Bioorg Med Chem Lett. 25 de feb de 2002; 12(4): 557-6) desvelan un análisis de citotoxicidad, la activación hidrolítica y la síntesis de dos derivados 4'-propilcarbonoxi (2,3) de etopósido.

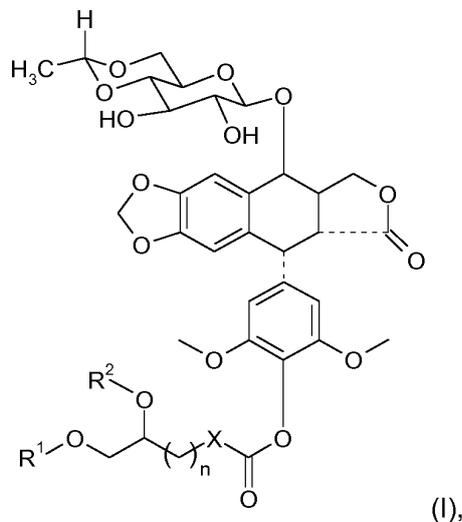
Wilson W (Cancer 1960) desvela informes sobre el uso de 5-fluoruracilo en el tratamiento del cáncer.

Schilsky RL y col., (Ann Oncol 2002) desvelan un estudio en fase II multicéntrico sobre el uso de 5-fluoruracilo en cáncer colorrectal metastásico.

- 25 Björn Sönke Lange (Cancer Letters, vol. 197, nº. 1-2, 225-230, 2003 y "Charakterisierung eines neuen hydrolytisch aktivierbaren Prodrugs von Etoposid und seine Wirksamkeit bei "Multidrug" Resistenz und beim Neuroblastom", 7 de julio de 2006, Berlín) desvela la eficacia de los profármacos de etopósido ProVP-16 I y II en la inducción de la reducción del crecimiento de metástasis hepática, como se determina en un modelo de neuroblastoma de ratón. Sin embargo, este modelo de neuroblastoma no es un modelo adecuado para cánceres metastásicos (Yang y col., Cancer Res., 2006, 66(9)).

- 30 Ha sido un objeto de la presente invención, proporcionar una opción para el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico y/o que reduce una función orgánica.

Sorprendentemente se ha descubierto que este objetivo se resuelve con un compuesto de fórmula (I)



(I),

- 35 en la que X se selecciona del grupo que consiste en O, NH y S, n es 0, 1 o 2, y R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, metilo y etilo, o forman conjuntamente un grupo CR³R⁴ en el que R³ y R⁴ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, metilo y etilo, para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico.

Es adicionalmente ventajoso proporcionar un compuesto que sea capaz de superar un fenotipo de resistencia a múltiples fármacos mediado por MDR-1 o una resistencia al tratamiento con determinados agentes quimioterapéuticos.

Es también deseable proporcionar un compuesto que sea eficaz a una dosis baja.

- 5 Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) son fármacos quimioterapéuticos. Hay modificaciones químicas de etopósido (análogos de etopósido) que se diferencian en que un grupo éster soluble en agua está unido a etopósido.

Ahora se ha descubierto que los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) son eficaces sobre los tumores metastásicos. Los pacientes que tuvieron un cáncer avanzado o un cáncer terminal respondieron al tratamiento con los compuestos. Se ha observado que los compuestos de fórmula (I) son eficaces contra tumores progresivos. Fue posible conseguir un éxito terapéutico incluso en pacientes en los que habían fracasado otras opciones terapéuticas.

10

El término "metástasis", como se usa en esta solicitud, incluye metástasis local, regional y distante. Las metástasis locales se forman cerca del tumor primario, normalmente cuando las células tumorales neoplásicas se filtran hacia el interior del tejido respectivo, también a través de órganos colindantes. Las metástasis regionales son metástasis presentes en los ganglios linfáticos de drenaje, que normalmente se forman cuando las células tumorales se filtran hacia el interior de los vasos linfáticos y se localizan en los ganglios linfáticos respectivos (propagación localizada en los ganglios linfáticos regionales cerca del tumor primario). A menudo las metástasis distantes se forman cuando las células tumorales se filtran hacia el interior de los vasos sanguíneos; se localizan en órganos distantes del órgano del tumor primario.

15

La característica de que un tumor reduce una función orgánica significa que, debido a la presencia del tumor, la función fisiológica de un órgano respectivo (por ejemplo su función metabólica, estructural, reguladora o protectora) se altera en comparación con el órgano sano respectivo que no tiene un tumor. Son ejemplos de dichos órganos los huesos, el cerebro, el hígado, los pulmones y los ganglios linfáticos.

20

Los compuestos de fórmula (I) tienen un perfil terapéutico potenciado en comparación con el etopósido, incluyendo mayor citotoxicidad y eficacia sobre tumores, incluso en modelos *in vitro* e *in vivo* resistentes a etopósido y en tumores resistentes a múltiples fármacos.

25

La síntesis de compuestos de fórmula (I) se ha descrito antes y puede realizarse de acuerdo con el documento WO 03/048166 A1 y con Wrasidlo y col. (2002) Bioorg Med Chem Lett 12, 557-560, cuyas partes relevantes se incorporan en el presente documento por referencia.

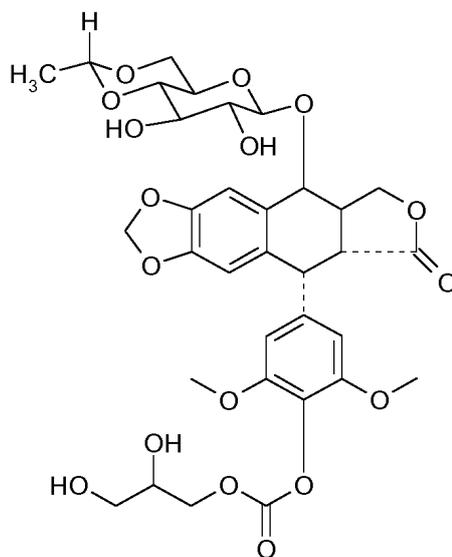
Se ha observado antes que los compuestos de fórmula (I), por ejemplo, un compuesto en el que $X = O$, $n = 1$ y $R^1 = R^2 = H$ (que se denomina CAP7.1) es hasta 1000 veces más fuerte que el etopósido, por ejemplo, en cuanto a citotoxicidad sobre las células tumorales (véase, por ejemplo, el documento WO 03/048166 A1).

30

De acuerdo con la invención, en la fórmula (I), X es preferentemente O. Preferentemente, n es 1. De manera preferente, R^1 y R^2 son, independientemente entre sí, H o forman un grupo CR^3R^4 . Preferentemente, R^3 y/o R^4 son metilo. Se prefiere que R^1 y R^2 sean idénticos y/o que R^3 y R^4 sean idénticos.

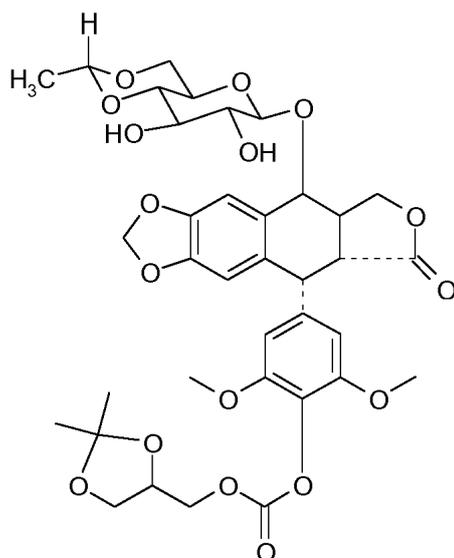
35 En una realización preferida, el tumor es cáncer.

Preferentemente, el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en



(CAP7.1)

y



(pro-CAP7.1).

Preferentemente, el paciente es un paciente humano.

- 5 Los compuestos de fórmula (I), como se definen anteriormente, son particularmente adecuados para el tratamiento de tumores resistentes a fármacos (por ejemplo resistentes a etopósido), especialmente tumores resistentes a múltiples fármacos y, por tanto, son capaces de superar la resistencia a fármacos (por ejemplo, etopósido) y particularmente la resistencia a múltiples fármacos. Por tanto, una realización preferida se refiere a un compuesto de fórmula (I), como se define anteriormente, para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es
- 10 metastásico, en el que el tumor tiene un fenotipo resistente a múltiples fármacos que está mediado por MDR-1. Esto significa que MDR-1 se expresa a un nivel tal que el tumor o determinadas células del tumor presenta(n) un fenotipo resistente a múltiples fármacos, es decir, la respuesta a determinados fármacos (compuestos, agentes quimioterapéuticos) está alterada.

- 15 Un nivel de expresión de MDR-1 es preferentemente más alto en una célula tumoral que en una célula no tumoral corriente correspondiente.

- En la Tabla 1 se muestra el efecto citotóxico de los compuestos de fórmula (I) sobre tumores, incluyendo tumores resistentes a múltiples fármacos, que proporciona ejemplos de células tumorales sensibles a tratamiento con CAP7.1. Este efecto se observa *in vitro* e *in vivo*. Se efectuaron ensayos *in vitro* de conformidad (por ejemplo, actividad contra líneas celulares de leucemia y cáncer, efecto sobre células resistentes a múltiples fármacos, toxicidad y eficacia *in vivo* en un modelo de xenoinjerto de leucemia de linfocitos T resistente a múltiples fármacos)
- 20 de acuerdo con protocolos conocidos, por ejemplo, los desvelados en el documento WO 03/048166 A1.

Tabla 1: Se muestran líneas de células tumorales sensibles a tratamiento con CAP7.1. Se indica el tejido de origen. Un signo más (“+”) en la columna “resistencia” indica que la línea celular respectiva es resistente a múltiples fármacos debido a MDR-1 (resistente a MDR-1)

Línea celular	Tejido	Resistencia
Jurkat	Linfocito T, leucemia aguda de linfocitos T	
Raji	Linfoblasto B, linfoma de Burkitt	
RL	Linfoblasto B, linfoma no Hodgkin	
U-937	Macrófago, histiocito, linfoma histiocítico	+
Reh	Leucemia linfoblástica aguda de precursores B	
HT-29	Adenocarcinoma colorrectal	
SW480	Adenocarcinoma de colon	+
A2780	Carcinoma de ovario	
Kelly	Neuroblastoma	+
H69	Carcinoma pulmonar microcítico	+
HVP69	Carcinoma pulmonar microcítico	+

5 Preferentemente, el tumor es resistente a tratamiento con una proteína terapéutica o con un compuesto
seleccionado del grupo que consiste en fármacos quimioterapéuticos distintos de los compuestos de fórmula (I)
como se define anteriormente, es decir, el tratamiento con dicha proteína o fármaco quimioterapéutico ha fracasado.
Las proteínas respectivas se seleccionan preferentemente del grupo que consiste en anticuerpos terapéuticos y
quinasas, y los fármacos quimioterapéuticos respectivos se seleccionan preferentemente del grupo que consiste en
10 agentes alquilantes, agentes basados en platino, agentes intercalantes, antibióticos, inhibidores de la mitosis,
taxanos, inhibidores de topoisomerasa y antimetabolitos. En particular, el fármaco quimioterapéutico se selecciona
del grupo que consiste en ácido retinoico todo trans, azacitida, azatioprina, bleomicina, carboplatino, capecitabina,
cisplatino, clorambucilo, ciclofosfamida, citarabina, daunorrubicina, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina,
epirubicina, epotilona, etopósido, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiaurea, idarrubicina, imatinib, mecloretamina,
15 mercaptopurina, metotrexato, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel, pemetrexed, tenipósido, tioguanina, trofosfamida,
valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina.

Preferentemente, el tumor es un tumor sólido, en particular un cáncer sólido.

En una realización preferida, el tumor se selecciona del grupo que consiste en adenocarcinoma (por ejemplo,
adenocarcinoma de colon y adenocarcinoma colorrectal), cáncer de hipofaringe (por ejemplo, cáncer epidermoide de
20 hipofaringe, especialmente con metástasis pulmonar), cáncer de pulmón (por ejemplo carcinoma de pulmón, cáncer
microcítico de pulmón y cáncer epidermoide de pulmón), linfoma difuso de células grandes, linfoma de Burkitt,
linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, linfoma histiocítico, linfoma linfático, leucemia aguda de linfocitos T,
leucemia linfoblástica aguda de precursores B, cáncer de vesícula biliar (por ejemplo, adenocarcinoma de la vesícula
25 biliar, especialmente con metástasis en ganglios linfáticos), carcinoma de conductos biliares, carcinoma de timo (por
ejemplo, carcinoma sarcomatoide de timo, especialmente con metástasis pulmonar), carcinoma de urotelio, cáncer
testicular (por ejemplo tumor de células germinales testiculares, seminoma y no seminoma, especialmente con
metástasis renal, pulmonar, retroperitoneal, hepática y/o cerebral), cáncer de próstata, cáncer de vejiga, tumor
cerebral, sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, neuroblastoma (en
particular neuroblastoma pediátrico, especialmente neuroblastoma pediátrico avanzado), cáncer de ovario (por
30 ejemplo, tumor de células germinales de ovario, carcinoma de ovario o carcinoma adenomatoso, especialmente con
metástasis abdominal), cáncer de mama y cáncer de origen primario desconocido (síndrome de CUP, por ejemplo,
metástasis microcítica - especialmente en el cerebro- con tumor primario desconocido).

Un tratamiento preferido es un tratamiento que conduce a un estancamiento de crecimiento tumoral o a una remisión
del tumor.

35 Preferentemente, el tratamiento es una dosis diaria del compuesto de fórmula (I) de 350 mg/m² o inferior.
Sorprendentemente se ha observado que los compuestos de fórmula (I), debido a su eficacia, son activos de por sí a
bajas concentraciones, de tal manera que la dosis diaria puede ser más pequeña que una dosis de etopósido
correspondiente. Más preferentemente, la dosis diaria de un compuesto de fórmula (I) es de 250 mg/m² o inferior,
incluso más preferentemente de 150 mg/m² o inferior, aún más preferentemente de 100 mg/m² o inferior y lo más
40 preferentemente de 50 mg/m² o inferior.

En una realización preferida, el tratamiento comprende un primer periodo de administración de un compuesto de
fórmula (I) en diversos días consecutivos (por ejemplo, 4, 5, 6 o 7 días), seguido de un periodo intermitente en el que
no se administra el compuesto de fórmula (I) (el periodo intermitente dura, por ejemplo, de 1 a 4 semanas), seguido
de un segundo periodo de administración de un compuesto de fórmula (I) en diversos días consecutivos (por
45 ejemplo 4, 5, 6 o 7 días). Preferentemente, el primer periodo de administración es de 5 días, el segundo periodo de
administración es de 5 días y/o el periodo intermitente es de 2 a 3 semanas.

Preferentemente, el tratamiento implica una sola unidad de dosificación al día.

Los compuestos de fórmula (I) se administran preferentemente por infusión intravenosa.

Se ha descubierto ahora, que los compuestos de fórmula (I) se transforman enzimáticamente en el etopósido farmacológico quimioterapéutico mediante carboxilesterasas, en particular carboxilesterasas humanas y especialmente CES1 y CES2. Las carboxilesterasas están presentes en un subconjunto de tumores. Por ejemplo, la publicación Xu y col., (2002) Clinical Cancer Research 8, 2605-2611 muestra que CES2 se expresa en el 66 % de los tumores humanos analizados (101 de 154), mientras que se expresan en el 92 % (55 de 60) de los tejidos normales.

Se ha descubierto que, en ratones con altos niveles de las carboxilesterasas correspondientes, la semivida de CAP7.1 es muy corta (menor de 5 minutos), mientras que en primates es más larga y en seres humanos es de 15-30 minutos. El hecho de que CAP7.1 muestre actividad en ratones en un modelo de xenoinjerto de tumores con MDR sugiere que CAP7.1 se distribuye inicialmente en los sitios tumorales.

Con respecto al hecho de que las carboxilesterasas escinden los compuestos de fórmula (I) a etopósido, los compuestos de fórmula (I) pueden considerarse como profármacos.

Sin embargo, los compuestos de fórmula (I) también tienen efectos que son independientes de su conversión a etopósido. Por tanto, tienen un perfil que puede diferenciarse del perfil del etopósido. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) inhiben directamente el producto génico de MDR-1, la glicoproteína P, a diferencia del etopósido, que es ineficaz sobre la glicoproteína P. Por tanto, la salida del sustrato mediado por glicoproteína P se reduce, lo que contribuye a la eficacia de los compuestos de fórmula (I) sobre los tumores resistentes a múltiples fármacos y sobre el efecto de superar la resistencia a múltiples fármacos. Los compuestos de fórmula (I), por ejemplo, CAP7.1, no son un sustrato para la glicoproteína P. El etopósido se bombea fuera de las células, mientras que en cambio, los compuestos de fórmula (I), por ejemplo, CAP7.1, permanecen en las células durante un periodo de tiempo más largo. Esto indica que los compuestos de fórmula (I) inhiben la actividad del bombeo (a través de la unión directa con la glicoproteína P o mediado por la unión con otra proteína). Por tanto, la concentración de los compuestos de fórmula (I) dentro de las células tumorales, es mayor que la concentración del etopósido. Los compuestos de fórmula (I) no muestran resistencia cruzada con el etopósido. Además, los compuestos de fórmula (I) que permanecen en las células pueden ser capaces – a diferencia del etopósido – de inducir una detención en la fase G2 del ciclo celular, y conducir a un efecto retardado (inducción retardada de la apoptosis) en comparación con el etopósido. Las mediciones han mostrado que las células salen de la fase G2 después en una etapa posterior, en la que se induce la apoptosis. En el caso del etopósido, la apoptosis es completa después de 48 h, en comparación con 120 h en el caso de CAP7.1 (un compuesto de fórmula (I)).

Esta apoptosis retardada es posiblemente una razón para una mejor tolerabilidad y/o seguridad en la administración de los compuestos de fórmula (I), en particular CAP7.1, en comparación con el etopósido, porque se impide que se produzca un pico extremadamente tóxico. En estudios preclínicos y clínicos, se ha observado que los compuestos de fórmula (I), particularmente CAP7.1, causan menos efectos secundarios que el etopósido.

Los compuestos de fórmula (I) son eficaces en la inhibición de la topoisomerasa II. A nivel transcripcional, estos compuestos inhiben las enzimas topoisomerasa II, que incluyen la topoisomerasa II α y la topoisomerasa II β .

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico, en el que el tumor expresa CES1 y/o CES2. Preferentemente, en esta realización la fracción de células tumorales que expresan CES1 y/o CES2 es de 50 % o mayor, más preferentemente de 75 % o mayor. De acuerdo con una realización preferida, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico, en el que el tratamiento es una politerapia (terapia de combinación) junto con un segundo fármaco. El segundo fármaco es preferentemente una proteína o un fármaco quimioterapéutico. La politerapia implica preferentemente la administración simultánea o secuencial del compuesto de fórmula (I) y del segundo fármaco.

El segundo fármaco se selecciona preferentemente del grupo que consiste en anticuerpos terapéuticos, quinasas, agentes alquilantes, agentes basados en platino, agentes intercalantes, antibióticos, inhibidores de mitosis, taxanos, inhibidores de topoisomerasa y antimetabolitos. Un fármaco segundo preferido se selecciona del grupo que consiste en ácido retinoico todo trans, azacitida, azatioprina, bleomicina, carboplatino, capecitabina, cisplatino, clorambucilo, ciclofosfamida, citarabina, daunorrubicina, docetaxel, doxifluridina, doxorubicina, epirubicina, epotilona, fluorouracilo, gemcitabina, hidroxiaurea, idarrubicina, imatinib, mecloretamina, mercaptopurina, metotrexato, mitoxantrona, oxaliplatino, paclitaxel, pemetrexed, tenipósido, tioguanina, trofosfamida, valrubicina, vinblastina, vincristina, vindesina y vinorelbina. Particularmente preferido es el carboplatino.

Los tumores preferidos en el caso de una politerapia se seleccionan del grupo que consiste en adenocarcinoma (por ejemplo adenocarcinoma de colon y adenocarcinoma colorrectal), cáncer de hipofaringe (por ejemplo cáncer epidermoide de hipofaringe, especialmente con metástasis pulmonar), cáncer de pulmón (por ejemplo, carcinoma de pulmón, carcinoma microcítico pulmonar y cáncer epidermoide pulmonar), linfoma de células grandes difusas, linfoma de Burkitt, linfoma de Hodgkin, linfoma de no Hodgkin, linfoma histiocítico, linfoma linfático, leucemia aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda de precursores B, cáncer de la vesícula biliar (por ejemplo,

adenocarcinoma de la vesícula biliar, especialmente con metástasis de ganglios linfáticos), carcinoma de conductos biliares, carcinoma de timo (por ejemplo carcinoma sarcomatoide de timo, especialmente con metástasis pulmonar), carcinoma de urotelio, cáncer testicular (por ejemplo tumor de células germinales testiculares, seminoma y no seminoma especialmente con metástasis renal, pulmonar, retroperitoneal, hepática y/o cerebral), cáncer de próstata, 5
cáncer de vejiga, cáncer de cerebro, sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, sarcoma de Ewing, rhabdomyosarcoma, neuroblastoma, cáncer de ovario (por ejemplo tumor de células germinales de ovario, carcinoma de ovario o carcinoma adenomatoso, especialmente con metástasis abdominales), cáncer de mama y cáncer de origen primario desconocido (síndrome de CUP, por ejemplo metástasis microcíticas - especialmente en el cerebro - con tumor primario desconocido). Particularmente, se prefiere el neuroblastoma (en particular neuroblastoma pediátrico, especialmente neuroblastoma pediátrico avanzado). 10

Particularmente preferida es una politerapia que conduce a una potenciación sinérgica de eficacia.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente y un segundo fármaco para su uso en el tratamiento de un paciente que 15
tiene un tumor que es metastásico. Por consiguiente, se aplica lo anteriormente comentado con respecto al segundo fármaco. De manera preferente, la composición farmacéutica también comprende un transportador y/o un excipiente.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de selección *in vitro* de un paciente que tiene un tumor que es metastásico para su tratamiento con un compuesto de fórmula (I), que comprende las etapas de (a) analizar la expresión, de una muestra del tumor, de CES1 y/o CES2 y (b) seleccionar al 20
paciente si se expresa CES1 y/o CES2.

Un procedimiento preferido comprende como etapa (b) seleccionar al paciente si el porcentaje de la fracción de las células tumorales que expresan CES1 y/o CES2 tiene un valor de 50 % o mayor, preferentemente de 75 % o mayor.

De acuerdo con un aspecto alternativo, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente, para el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que expresa CES1 y/o CES2. Correspondiente a este aspecto, la presente invención también se refiere a un procedimiento de selección *in vitro* 25
de un paciente que tiene un tumor para su tratamiento con un compuesto de fórmula (I), como se define anteriormente, que comprende las etapas de (a) analizar la expresión, de una muestra del tumor, de CES1 y/o CES2 y (b) seleccionar al paciente si se expresa CES1 y/o CES2.

La Fig. 1 muestra la conversión dependiente del tiempo de CAP7.1 a etopósido por diferentes carboxilesterasas y mediante suero de ternero fetal.

La Fig. 2 muestra la inhibición de las proteínas topoisomerasa II en células U937 por CAP7.1 y mediante etopósido a nivel transcripcional.

La Fig. 3 muestra la inhibición de actividad MDR-1 en células de Kelly por CAP7.1 en un ensayo funcional con MDR-1.

La Fig. 4 muestra el efecto de CAP7.1 y etopósido sobre el ciclo celular en células U937.

La Fig. 5 muestra la citotoxicidad de CAP7.1 y de etopósido en la línea celular HT-29.

La Fig. 6 muestra la expresión de CES1 y CES2 líneas de células tumorales sensibles a CAP7.1.

En diversas investigaciones (ensayos celulares, modelos animales, estudios clínicos humanos), los compuestos de fórmula (I) y en particular CAP7.1, muestran un perfil quimioterapéutico único dentro de la clase de inhibidores de topoisomerasas: una mayor eficacia (incluso a dosis bajas) en comparación con algunos otros fármacos 40
quimioterapéuticos (especialmente etopósido), una eficacia también en tumores resistentes a otras terapias y en particular tumores resistentes a etopósido (son ejemplos cáncer de hipofaringe, cáncer de vesícula biliar, cáncer de ovario, cáncer de testículo (cáncer testicular), carcinoma de timo, cáncer de origen primario desconocido (CUP) y neuroblastoma), una eficacia en pacientes con cáncer avanzado a una dosis baja, una mejor tolerabilidad/escasos efectos secundarios (incluso a una dosis más alta) en comparación con algunos otros fármacos quimioterapéuticos y una prevención de un aumento inmediato de concentración de etopósido a través de una lenta conversión de los 45
compuestos de fórmula (I).

Ejemplos

Ejemplo 1: Conversión de CAP7.1 a etopósido por carboxilesterasas

La conversión dependiente del tiempo de CAP7.1 a etopósido por diferentes carboxilesterasas y suero de ternero fetal se analizó incubando CAP7.1 con CES1, CES2 y CES3, respectivamente. Se preincubaron 5 μ M de CAP7.1 50
durante 3 min en 999 μ l de fosfato de sodio (NaH_2PO_4 , Roth, Karlsruhe, Alemania) 0,1 mol/l, pH 7,4 a 37 °C. Después de esto, se añadieron CES1, CES2 y CES3 respectivamente. Los controles se incubaron con suero de ternero fetal (FCS, control positivo) al 10 % o en tampón (control negativo). A diferentes momentos, las alícuotas se

sometieron a HPLC para analizar los productos formados.

En la Fig. 1 se representan los niveles del etopósido formado. CES2 (símbolos cuadrados) escinde CAP7.1 de un modo tan eficaz como el control positivo FCS (símbolos X). CES1 (símbolos en rombo) también escinde CAP7.1 de un modo eficaz, mientras que en el caso de CES3 (símbolos en triángulo), se observa que no escinde sustancialmente CAP7.1. El control negativo (símbolos en cruz) muestra que CAP7.1 es estable en las condiciones seleccionadas.

Ejemplo 2: Inhibición de topoisomerasas II a nivel transcripcional por CAP7.1 y por etopósido

Células U937 cultivadas en medio RPMI 1640/DMEM complementadas con suero bovino fetal al 10 %, L-glutamina 2 mmol/l y 100 U/ml / 100 µg/ml de Penicilina/Estreptomicina se lavaron y se resuspendieron a una concentración de 10^6 células/pocillo en placas de 6 pocillos en soluciones que contenían CAP7.1 10^{-4} mol/l y etopósido 10^{-4} mol/l, respectivamente. Uno de los controles implicó el tratamiento de las células con DMSO al 0,05 % (1 µl). Las células no tratadas también se mostraron como un control.

Después de un tiempo de incubación de 24 h, la expresión se analizó determinando los niveles de ARNm mediante PCR en tiempo real. En los carriles respectivos de la Fig. 2, se muestran las bandas para la topoisomerasa II α (322 pb), para la topoisomerasa II β (304 pb) y para el control de GAPDH (358 pb). En el carril de control de H₂O, que muestra los resultados de la muestra de control de H₂O, no se observaron bandas.

Las células no tratadas expresaron la topoisomerasa II tanto α como β a un fuerte nivel. Ambas CAP7.1 y el etopósido condujeron a una disminución significativa de la expresión de la topoisomerasa II tanto α como β .

Ejemplo 3: Inhibición de la actividad MDR-1 por CAP7.1

Mediante un ensayo que utilizó JC-1, la actividad MDR-1 se evaluó en células Kelly que expresaban MDR-1. JC-1 es un colorante de tinción catiónico que captan las células vivas. El producto génico de MDR-1 (glicoproteína P) reconoce el colorante JC-1 y lo bombea hacia el exterior de la célula (salida de sustrato). Por tanto, la actividad MDR-1 se indica por una reducción en la señal de JC-1 intracelular.

Las células Kelly que crecieron en medio RPMI se lavaron y se resuspendieron a una concentración de 10^6 células/ml en soluciones que contenían JC-1 a una concentración final de 50 nmol/l. Las células se incubaron durante 15 min en presencia de CAP7.1 10^{-4} mol/l y etopósido 10^{-4} mol/l, respectivamente. El control contenía DMSO 1 µl (0,05 %). Las células se analizaron para observar la tinción con JC-1 en un citómetro de flujo FACScanto II.

En la Fig. 3, el diagrama superior muestra una señal de JC-1 intracelular en presencia del control negativo (DMSO). La señal de JC-1 intracelular en presencia de etopósido es idéntica (diagrama central). En presencia de CAP7.1, la señal de JC-1 intracelular aumenta (diagrama inferior). Esta acumulación intracelular de JC-1 muestra la inhibición de la salida de sustrato mediada por MDR-1 (mediada por la glicoproteína P) mediante CAP7.1, pero no mediante etopósido.

Ejemplo 4: Efecto de CAP7.1 y de etopósido sobre el ciclo celular

Células U937 resistentes a múltiples fármacos cultivadas en medio RPMI se lavaron y se resuspendieron a una concentración de 10^6 células/ml en PBS que contenía CAP7.1 10^{-4} mol/l, etopósido 10^{-4} mol/l y DMSO 1 µl (0,05 %), respectivamente. Un control no contenía CAP7.1, ni etopósido, ni tampoco DMSO. Las células se incubaron durante 48 h. Después de 18 h, 24 h y 48 h de incubación, respectivamente, se realizó análisis del ciclo celular de la siguiente manera:

Las células se lavaron una vez con CellWash, se fijaron con etanol frío refrigerado al 70 % durante 30 min a 4 °C y se lavaron tres veces. El ARN se digirió con RNasa A (100 µg/ml en PBS) durante 10 min a temperatura ambiente. Las células se lavaron una vez con CellWash y se tiñeron con yoduro de propidio (50 µg/ml en PBS) durante 5 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Las células se analizaron inmediatamente por citometría de flujo usando un aparato FACScanto II.

En la Fig. 4 se muestra el porcentaje de células en la fase G2. Con el incremento de los tiempos de incubación, el etopósido (símbolos X) conduce a una reducción en la fracción de células en fase G2, mientras que CAP7.1 (símbolos en triángulo) conduce a un aumento en la fracción de células en fase G2. Esto es indicativo de una inducción retardada de apoptosis en comparación con el etopósido.

Ejemplo 5: Citotoxicidad de CAP7.1 y de etopósido en la línea celular HT-29

Células HT-29, que no son resistentes a múltiples fármacos, se cultivaron en medio DMEM, suero de ternero fetal al 10 %, glutamina 2 mM y Pen/Strep 100 U/l y después se lavaron. Las células se resuspendieron a una concentración de 10^6 células/ml en medio como se describe anteriormente que contiene diversas concentraciones de CAP7.1 y etopósido, respectivamente, que variaba de 10^{-10} mol/l a 10^{-4} mol/l.

5 Las células se recogieron, se contaron y se inocularon a la concentración apropiada de 10^4 células/pocillo (volumen de 100 μ l) en placas de microtitulación de 96 pocillos. Después de 24 h, los fármacos se aplicaron a pocillos de cultivo por triplicado y los cultivos se incubaron durante tiempos proporcionados a 37 °C. Se preparó XTT a 1 mg/ml en medio (RPMI 1640) sin suero precalentado (37 °C). Se preparó PMS a 5 mmol/l (1,53 mg/ml) en PBS. Se mezclaron el XTT reciente y el PMS conjuntamente a concentraciones apropiadas. Para una solución de XTT-PMS de 25 μ mol/l, se añadieron 25 μ l de la solución de PMS 5 mmol/l por 5 ml de XTT (1 mg/ml). A cada pocillo se añadieron 50 μ l de esta mezcla durante momentos determinados después de la inoculación celular. Después de una incubación a 37 °C, las placas se mezclaron en un agitador de placa mecánico, y la absorbancia se midió con un lector ELISA para determinar la viabilidad celular.

10 La Fig. 5 muestra la viabilidad celular representada gráficamente frente a las concentraciones de CAP7.1 (símbolos cuadrados) y etopósido (símbolos en rombo), respectivamente. El valor CI_{50} de CAP7.1 es a una concentración de 10 veces menor que el valor CI_{50} de etopósido.

Ejemplo 6: Expresión de CES1 y CES2 en líneas de células tumorales

15 Se ensayaron diferentes líneas de células sensibles a los compuestos de fórmula (I) para determinar la expresión endógena de CES1 y CES2. La expresión se cuantificó por PCR en tiempo real.

Las células se recogieron, se contaron y se inocularon a la concentración apropiada de 10^6 células/pocillo (volumen de 2 ml) en placas de 6 pocillos con fármacos durante momentos determinados a 37 °C. Se extrajo ARN y se sintetizó ADNc con hexámeros al azar y transcriptasa inversa TaqMan para usar en PCR en tiempo real en una reacción con mezcla de tampón PCR y cebadores específicos para CES1 y CES2 humanas.

20 En la Fig. 6 se muestran los resultados para CAP7.1 obtenidos en las líneas de células Raji, U-937 y HT-29, que muestra valores Δ CT invertidos.

Las células Raji expresan únicamente CES2. Las células U-937 y HT-29 expresan tanto CES1 como CES2. Por consiguiente, estas células responden al tratamiento con los compuestos de fórmula (I), en particular con CAP7.1.

Ejemplo 7: Efecto de CAP7.1 en estudios con animales

25 El objetivo de este estudio fue evaluar las posibles modificaciones de la función cardiovascular y electrofisiología cardíaca por CAP7.1. Se seleccionó la vía intravenosa, ya que es el modo de administración deseado en el uso terapéutico humano.

30 A un total de cuatro monos cinomolgos (dos machos y dos hembras) se les implantó dispositivos telemétricos y se asignaron a un solo grupo. Recibieron una sola dosis de vehículo (Cremophor/etanol/NaCl) o de CAP7.1 por infusión intravenosa durante 30 minutos. Los parámetros cardiovasculares se monitorizaron hasta 24 horas después de la única infusión. Los parámetros cardiovasculares evaluados en este estudio incluyeron, frecuencia cardíaca, presión arterial media, diastólica y sistólica y duración de los intervalos PQ, QRS y QT. CAP7.1 no indujo modificaciones relevantes en los parámetros electrofisiológicos cardíacos de monos conscientes. No se observaron arritmias.

35 La ausencia de resistencia cruzada contra CAP7.1 de las líneas celulares resistentes a etopósido mediada por MDR *in vitro* se confirmó *in vivo* en ratones portadores de xenoinjertos de tumor NSX2. La administración de CAP7.1 dio como resultado una clara inhibición del crecimiento tumoral en comparación con el control.

40 El perfil de toxicidad de CAP7.1 en animales se corresponde con el de otros inhibidores de topoisomerasa II y en particular etopósido, es decir, la principal toxicidad a dosis subletal es la supresión de la médula ósea que afecta predominantemente a neutrófilos y a glóbulos rojos. Sin embargo, los animales tratados con etopósido experimentan una pérdida de peso significativa mientras que los animales que reciben CAP7.1 no. Los animales que reciben CAP7.1 experimentan daño irreversible en los dientes en el grupo tratado con una dosis elevada. Los estudios toxicológicos con animales han mostrado que el valor DL_{10} de CAP7.1 en ratones es de 120 mg/kg (360 mg/m²) mientras que el valor DL_{10} publicado en la bibliografía para el etopósido dado a ratones es de 34 mg/kg (102 mg/m²) después de administración i.v.

Ejemplo 8: Estudios clínicos

Nueve pacientes sanos previamente tratados participaron en un estudio de seguridad/eficacia combinado en Fase I / IIa. Los pacientes tenían tumores que eran metastásicos y/o que tenían la función reducida de al menos un órgano.

En todos los pacientes, los tumores se evaluaron clínicamente y se registró el historial de la enfermedad. Se determinaron los marcadores tumorales.

50 Cada uno de los pacientes se había tratado antes con diferentes fármacos que cuando se incorporaron en el estudio habían fracasado. Por tanto, los tumores respectivos eran resistentes al tratamiento con los fármacos respectivos (enumerados según "tratamiento previo" para los pacientes respectivos).

Paciente 1: varón, 57 años, con carcinoma epidermoide de hipofaringe con metástasis pulmonar. Tratamiento previo: cisplatino, poloquinasa, cisplatino, 5-fluoruracilo, panitumumab.

Paciente 2 (no respondedor después de dos ciclos de tratamiento): 49 años, con carcinoma epidermoide de orofaringe. Tratamiento previo: cetuximab, cisplatino.

5 Paciente 3: varón, 62 años, con carcinoma sarcomatoide de timo con metástasis pulmonar. Tratamiento previo: inhibidor de tirosina quinasa, trofosfamida, etopósido, doxorubicina (adriamicina).

Paciente 4: mujer, 65 años, adenocarcinoma de la vesícula biliar con metástasis de ganglios linfáticos. Tratamiento previo: cisplatino, gemcitabina.

10 Paciente 5 (no respondedor después de dos ciclos de tratamiento): 65 años, carcinoma de urotelio de vejiga urinaria con metástasis hepática. Tratamiento previo: cisplatino, gemcitabina.

Paciente 6: varón, 50 años, cáncer de origen primario desconocido con metástasis cerebral microcítica. Tratamiento previo: cisplatino, etopósido.

Paciente 7 (no respondedor después de dos ciclos de tratamiento): 64 años, carcinoma epidermoide de amígdala con metástasis en ganglios linfáticos, hígado y pulmón.

15 Paciente 8: varón, 32 años, carcinoma mixto de células germinales de seminoma y no seminoma de los testículos con metástasis renal, pulmonar, retroperitoneal, hepática y cerebral.

Paciente 9: mujer, 67 años, carcinoma adenomatoso de ovario con metástasis abdominal.

20 Un ciclo de tratamiento consistía en la administración de CAP7.1 por infusión durante 5 días consecutivos, seguido de un periodo intermitente de 16 días en el que no se administró CAP7.1. Después de finalizar dicho ciclo, se inició el siguiente ciclo de tratamiento. La primera cohorte (pacientes 1-3, 8 ciclos en total) recibió CAP7.1 a una dosis diaria de 45 mg/m², la segunda cohorte (pacientes 4-6, 9 ciclos en total) a una dosis diaria de 90 mg/m² y la tercera cohorte (pacientes 7-9) a una dosis diaria de 150 mg/m².

25 Las evaluaciones farmacocinéticas se realizaron antes de la administración, a los 30 min. durante la infusión, y después de la infusión a los 15 min, 45 min, 90 min, 3 h, 6 h, 10 h el día 1, y antes de la administración y 15 min después de terminar la infusión durante los días restantes. Las evaluaciones farmacocinéticas mostraron que CAP7.1 se procesó a etopósido de una manera retardada. Gran parte de CAP7.1 se convirtió a etopósido después de 45 min de infusión de CAP7.1.

30 Todos los pacientes toleraron la terapia bien sin reacciones adversas importantes. Los pacientes 1 a 6 no padecieron toxicidad. Por tanto, se tolera una dosis total por ciclo de CAP7.1 de 450 mg/m² sin toxicidad. Esto representa un aumento de 25 % sobre la dosis de etopósido recomendada en cáncer microcítico de pulmón.

Los pacientes 1, 3, 4, 6, 8 y 9 mostraron que el tratamiento con CAP7.1 fue satisfactorio: en cada caso se observó un estancamiento de la enfermedad después del segundo ciclo de tratamiento.

Ejemplo 9: Estudios clínicos de politerapia.

35 CAP7.1 se administró con carboplatino a tres niños con neuroblastoma avanzado previamente muy tratado. Dos de esos pacientes habían recibido previamente etopósido.

40 CAP7.1 se administró el día 1 de cada ciclo comenzando a una dosis de 200 mg/m² (la dosis habitual de etopósido en este régimen) y se aumentó gradualmente en ciclos sucesivos a 400, 600 y 800 mg/m²; se administró carboplatino a una dosis de 150 mg/m² diariamente los días 2, 3, 4 y 5. Los ciclos se repitieron cada 21 días y se administró un total de 4 ciclos a cada paciente. La toxicidad fue principalmente hematológica, de grado 1-2 a 200 mg/m² y aumentó a grado 3-4 en el resto de los ciclos, aunque no fue necesario el retraso del ciclo debido a la toxicidad.

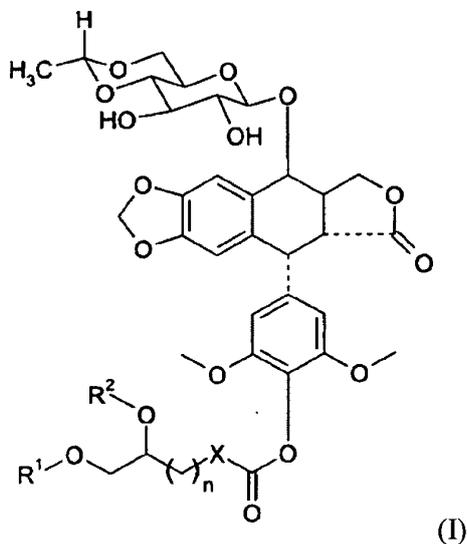
45 En dos de los tres pacientes hubo pruebas de reducción tumoral. Por tanto estas observaciones proporcionan un respaldo indirecto de la ausencia de resistencia cruzada en humanos entre CAP7.1 y etopósido. Adicionalmente el estudio respaldó la buena tolerabilidad de CAP7.1 en pacientes. La semivida en plasma en este estudio, evaluada en uno de los niños tratados fue de 12-30 minutos con una C_{máx} de 3,7 µg/ml.

Ejemplo 10: Formulación de CAP7.1

50 CAP7.1 se formuló como un polvo blanco deshidratado. CAP7.1 se presentó a una concentración de 3 mg como una solución para infusión intravenosa. El principio activo se disolvió en aceite de ricino polietoxilado 20 ml (por ejemplo Cremophor EL®) y etanol (50:50) en viales de vidrio antes de la dilución en cloruro de sodio estéril (0,9 %) para infusión. Se proporcionaron concentraciones de solución final de 1, 2 y 3 mg/ml.

REIVINDICACIONES

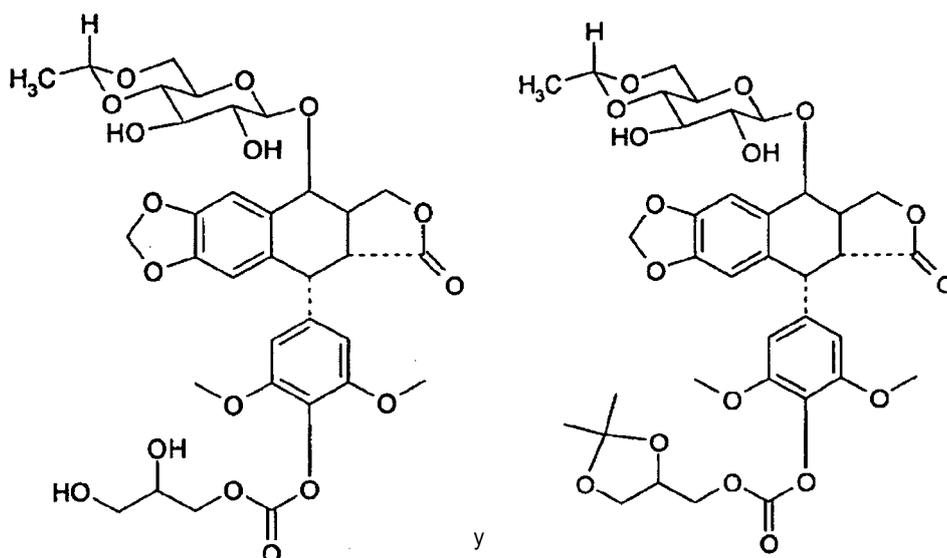
1. Compuesto de fórmula (I)



(I)

- 5 en la que X se selecciona del grupo que consiste en O, NH y S,
 n es 0, 1 o 2, y
 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, metilo y etilo, o forman conjuntamente un grupo CR^3R^4 en donde R^3 y R^4 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, metilo y etilo,
- 10 para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico.

2. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **en donde** el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en



- 15 3. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el paciente es un paciente humano.
4. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tumor tiene un fenotipo resistente a múltiples fármacos que está mediado por MDR-1.

5. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tumor es resistente al tratamiento con una proteína terapéutica o un compuesto seleccionado del grupo que consiste en fármacos quimioterapéuticos distintos de los compuestos de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1.
- 5 6. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tumor es un tumor sólido.
7. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tumor se selecciona del grupo que consiste en adenocarcinoma, cáncer de hipofaringe, cáncer de pulmón, linfoma difuso de células grandes, linfoma de Burkitt, linfoma Hodgkin, linfoma no de Hodgkin, linfoma histiocítico, linfoma linfático, leucemia aguda de linfocitos T, leucemia linfoblástica aguda de precursores B, cáncer de vesícula biliar, carcinoma de conducto biliar, carcinoma de timo, carcinoma de urotelio, cáncer testicular, cáncer de próstata, cáncer de vejiga, tumor cerebral, sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA, sarcoma de Ewing, rabdomiosarcoma, neuroblastoma, cáncer de ovario, cáncer de mama y síndrome de CUP.
- 10 8. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tratamiento conduce a un estancamiento del crecimiento tumoral o a una remisión del tumor.
- 15 9. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tratamiento es una dosis diaria del compuesto de fórmula (I) de 350 mg/m² o inferior.
10. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tratamiento comprende un primer periodo de administración de un compuesto de fórmula (I) durante varios días consecutivos, seguido de un periodo intermitente en el que no se administra el compuesto de fórmula (I), seguido de un segundo periodo de administración de un compuesto de fórmula (I) durante varios días consecutivos.
- 20 11. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tumor expresa CES1 y/o CES2, y en donde la fracción de células tumorales que expresan CES1 y/o CES2 es preferentemente del 50 % o superior.
- 25 12. El compuesto de fórmula (I) para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **en donde** el tratamiento es una terapia de combinación junto con un segundo fármaco.
13. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 y un segundo fármaco para su uso en el tratamiento de un paciente que tiene un tumor que es metastásico.
- 30 14. Procedimiento de selección *in vitro* de un paciente que tiene un tumor que es metastásico para un tratamiento con un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1, que comprende las etapas de (a) analizar la expresión de CES1 y/o CES2 de una muestra del tumor y (b) seleccionar el paciente si se expresa CES1 y/o CES2.
15. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, que comprende como etapa (b) seleccionar al paciente si la fracción de células tumorales que expresan CES1 y/o CES2 es del 50 % o superior.

Fig.1

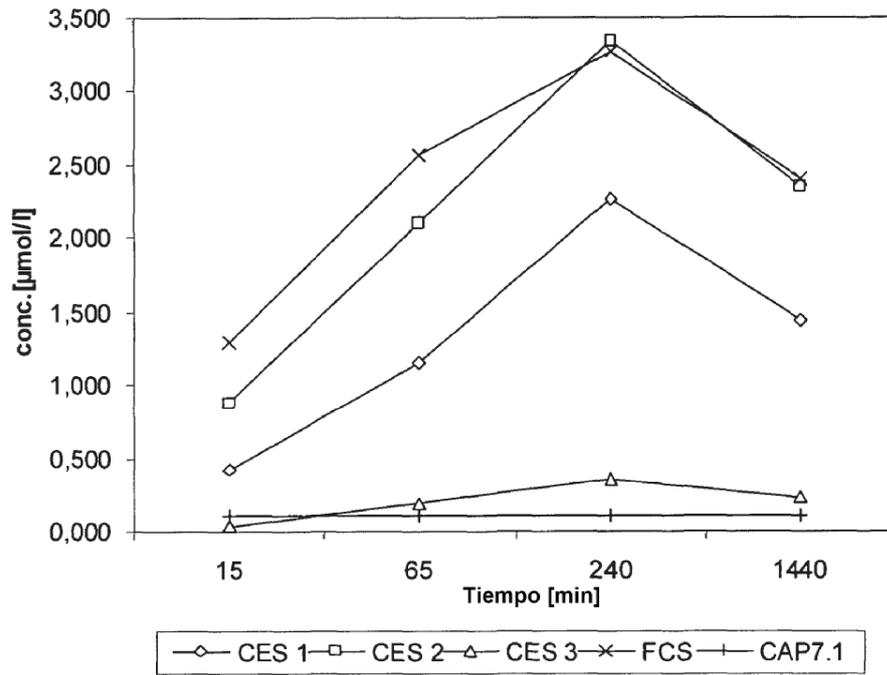


Fig. 2

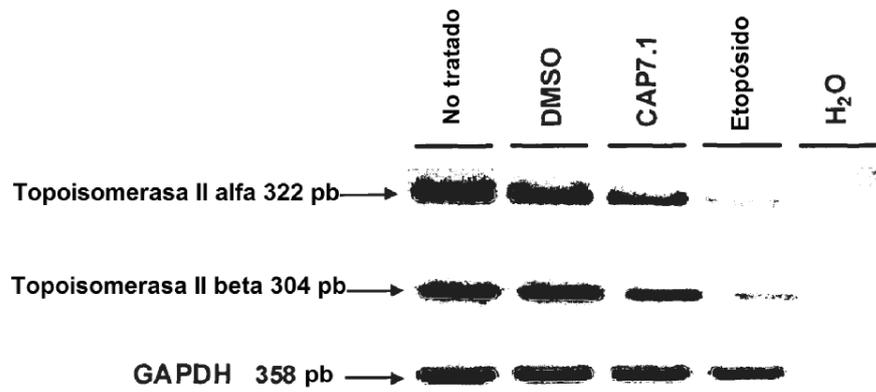


Fig. 3

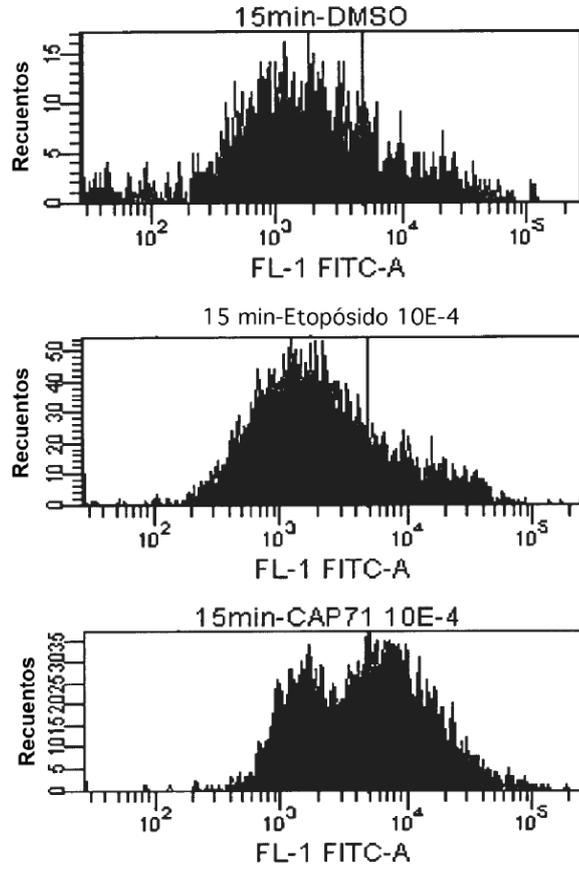


Fig. 4

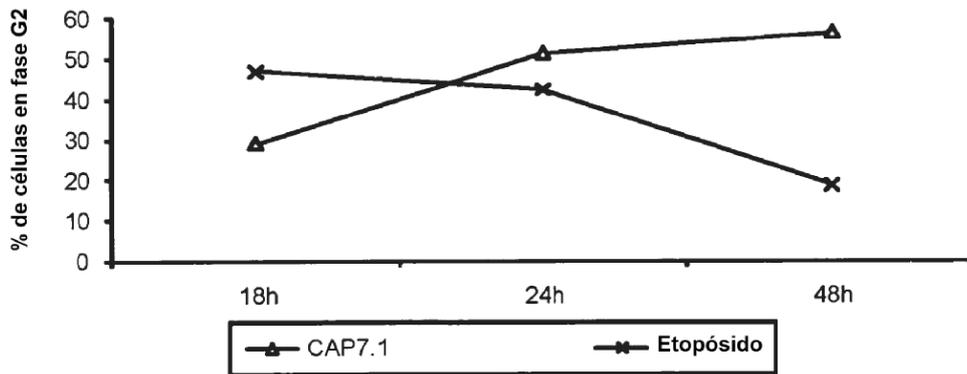


Fig. 5

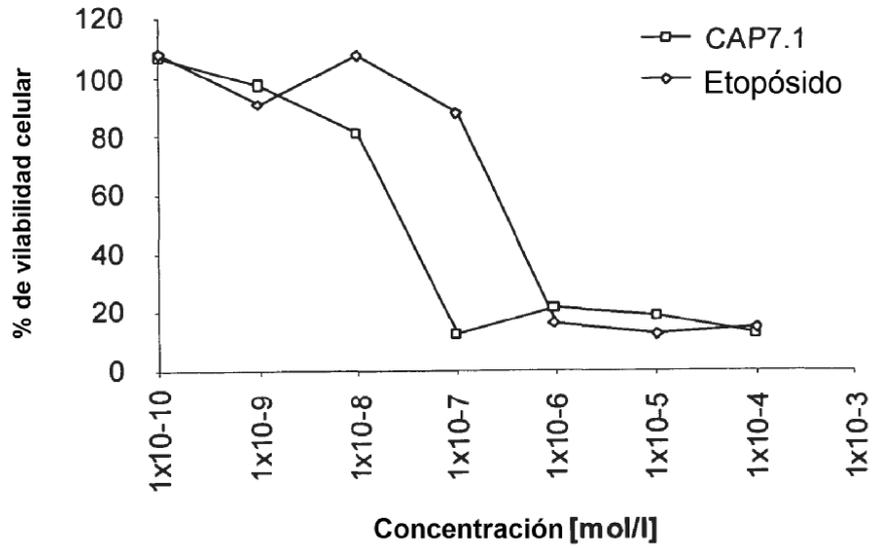


Fig. 6

