

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 609 084**

51 Int. Cl.:

C07C 235/38	(2006.01)	C07D 295/15	(2006.01)
C07C 271/44	(2006.01)	C07D 295/155	(2006.01)
C07C 311/27	(2006.01)	C07F 7/18	(2006.01)
C07C 317/18	(2006.01)		
C07C 317/28	(2006.01)		
C07C 323/41	(2006.01)		
C07C 323/49	(2006.01)		
C07C 323/65	(2006.01)		
C07D 213/02	(2006.01)		
C07D 295/088	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.03.2005 PCT/US2005/008429**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.09.2005 WO05089269**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.03.2005 E 05736001 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2016 EP 1740530**

54 Título: **Derivados de fenoxi y feniltio sustituidos para tratar trastornos proliferativos**

30 Prioridad:

16.03.2004 US 554008 P

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

18.04.2017

73 Titular/es:

**TEMPLE UNIVERSITY - OF THE
COMMONWEALTH SYSTEM OF HIGHER
EDUCATION (50.0%)
BROAD STREET AND MONTGOMERY AVENUE
PHILADELPHIA, PA 19122, US y
ONCONOVA THERAPEUTICS, INC. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**REDDY, E., PREMKUMAR;
REDDY, M., V., RAMANA y
BELL, STANLEY, C.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 609 084 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de fenoxi y fenilitio sustituidos para tratar trastornos proliferativos

Campo de la invención

5 La presente descripción se refiere a composiciones y métodos para el tratamiento de trastornos proliferativos, incluido, aunque si limitarse a ello, el cáncer. La presente descripción se refiere a composiciones para proporcionar protección contra los efectos citotóxicos de la radiación ionizante y de agentes quimioterapéuticos citotóxicos.

Antecedentes de la invención

Compuestos sulfona α,β -insaturados

10 Ciertas sulfonas α,β -insaturadas, particularmente ciertas estilbencil sulfonas, han demostrado poseer actividad antiproliferativa, radioprotectora y quimioprotectora. Se demostró que el efecto quimioprotector protege las células normales de los efectos colaterales citotóxicos de los inhibidores del ciclo celular de fase mitótica e inhibidores de topoisomerasa, utilizados en el tratamiento del cáncer y otros trastornos proliferativos. Véanse las patentes estadounidenses 6.599.932, 6.576.675, 6.548.553, 6.541.475, 6.486.210, 6.414.034, 6.359.013, 6.201.154, 6.665.973y 6.667.346.

15 Compuestos sulfonamida α,β -insaturados

Se ha demostrado que ciertas sulfonamidas α,β -insaturadas, particularmente las estilbencil sulfonamidas, poseen actividad antiproliferativa, radioprotectora y quimioprotectora (que protege a las células normales contra los efectos colaterales citotóxicos de los inhibidores del ciclo celular de fase mitótica e inhibidores de topoisomerasa). Véanse, la patente estadounidense 6.646.009 y la publicación PCT WO 03072063.

20 Compuestos de propenamida aromáticos

Se ha demostrado que ciertas propenamidas aromáticas, particularmente las cinamidas N-aromáticas, poseen actividad antiproliferativa, radioprotectora y quimioprotectora (que protege a las células normales contra los efectos colaterales citotóxicos de los inhibidores del ciclo celular de fase mitótica e inhibidores de topoisomerasa). Véase la publicación PCT WO 04037751.

25 Tratamiento de trastornos proliferativos

30 Se ha demostrado que varios factores de crecimiento cumplen un papel importante en la proliferación y diferenciación celular. Los trastornos proliferativos, particularmente el cáncer, surgen como consecuencia de una progresión de acontecimientos. Dichos acontecimientos pueden incluir la ruptura de la expresión regular de factores de crecimiento o componentes de sus vías de señalización. Los acontecimientos de fosforilación de tirosina iniciados por linasas receptoras, citoplásmicas y nucleares y por fosfatasa reguladas son centrales para estos procesos. La mutación, hiperactivación, translocación y sobreexpresión de las proteína tirosina cinasas están todas asociadas con tumorigénesis.

35 Se ha demostrado que ciertos compuestos son inhibidores de tirosina cinasa. Debido a su capacidad de inhibir la fosforilación de cinasa, estos compuestos pueden tolerar las respuestas celulares, incluidas la proliferación desregulada, a factores de crecimiento u otros procedimientos asociados con la actividad de la tirosina cinasa. La inhibición de tirosina cinasas asociada con las vías de señalización asociadas con trastornos proliferativos pueden ser suficientes para convertir una célula cancerosa de un ciclo celular proliferativo en muerte celular programada, o apoptosis.

40 La inhibición selectiva de tirosina cinasas específicas ofrece un método para dirigir el crecimiento de células cancerosas con un alto grado de especificidad y toxicidad mínima a las células normales. Por lo tanto, los inhibidores específicos de tirosina cinasas tienen gran potencial como tratamientos antineoplásicos clínicos.

La inhibición de tirosina cinasas ofrece un mecanismo mediante el cual se puede inhibir la proliferación celular. El experto en la técnica apreciará que también pueden estar implicados otros mecanismos de inhibición.

Existe la necesidad en la técnica de identificar compuestos que inhiban la proliferación celular.

45 Riesgos sanitarios de la radiación ionizante

La radiación ionizante tiene un efecto adverso sobre las células y los tejidos, principalmente a través de efectos citotóxicos. En seres humanos, la exposición a la radiación ionizante ocurre principalmente a través de técnicas terapéuticas (tales como radioterapia antineoplásica) o a través de la exposición ocupacional y ambiental.

Administración terapéutica de la radiación

Una fuente principal de exposición a la radiación ionizante es la administración de radiación terapéutica en el tratamiento del cáncer u otros trastornos proliferativos. Dependiendo del curso del tratamiento prescrito por el médico, un individuo puede recibir múltiples dosis en el transcurso de varias semanas a varios meses.

5 La radiación terapéutica en general se aplica a un área definida del cuerpo del individuo que contiene tejido proliferativo anormal, con el fin de maximizar la dosis absorbida por el tejido anormal y minimizar la dosis absorbida por el tejido normal aledaño. Sin embargo, es difícil (si no imposible) administrar selectivamente la radiación ionizante terapéutica al tejido anormal. Por lo tanto, el tejido normal próximo al tejido anormal también se expone a dosis potencialmente dañinas de radiación ionizante durante el transcurso del tratamiento.

10 Hay además algunos tratamientos que requieren la exposición de todo el cuerpo del individuo a la radiación, en un procedimiento llamado "irradiación total del cuerpo" o "TBI (por sus siglas en inglés)." La eficacia de las técnicas radioterapéuticas para destruir las células proliferativas anormales se equilibra entonces con los efectos citotóxicos asociados sobre las células normales aledañas. Debido a esto, las técnicas de radioterapia tienen un índice terapéutico inherentemente estrecho que resulta en el tratamiento inadecuado de la mayoría de los tumores. Incluso las mejores técnicas de radioterapia pueden resultar en la reducción incompleta del tumor, la recurrencia del tumor, el aumento de la carga del tumor y la inducción de tumores resistentes a la radiación.

15 Se han diseñado numerosos métodos para reducir el daño al tejido normal y que a la vez proporcionan dosis terapéuticas eficaces de radiación ionizante. Estas técnicas incluyen braquiterapia, dosis fraccionadas e hiperfraccionadas, esquemas de dosificación y sistemas de administración complicados, y terapia de alto voltaje con un acelerador lineal. No obstante, dichas técnicas solamente intentan generar un equilibrio entre los efectos terapéuticos y los no deseados de la radiación, y no se ha alcanzado la eficacia total.

20 Por ejemplo, un tratamiento para individuos con tumores metastásicos implica cosechar sus células madre hematopoyéticas y luego tratar al individuo con altas dosis de radiación ionizante. Este tratamiento está destinado a destruir las células tumorales del individuo, pero tiene el efecto colateral de destruir también sus células hematopoyéticas normales. Por lo tanto, una porción de la médula ósea del individuo (que contiene las células madre hematopoyéticas), también se extrae antes de la radioterapia. Una vez que el individuo ha sido tratado, las células madre hematopoyéticas autólogas son retornadas a su organismo.

25 No obstante, si las células tumorales han producido metástasis fuera del sitio primario del tumor, existe una alta probabilidad de que algunas células tumorales contaminen a la población de células hematopoyéticas cosechadas. La población de células hematopoyéticas cosechadas puede también contener células neoplásicas si el individuo sufre de cáncer de la médula ósea tal como los diversos subtipos francés-americano-británico (FAB) de leucemia mielógena aguda (AML), leucemia mieloide crónica (CML) o leucemia linfocítica aguda (ALL). Por lo tanto, las células tumorales con metástasis o células neoplásicas residentes deben eliminarse o exterminarse antes de reintroducir las células madre al individuo. Si alguna célula tumorigénica o neoplásica se reintroduce en el individuo, puede provocar una recaída.

30 Los métodos de la técnica anterior de eliminar las células tumorigénicas o neoplásicas de la médula ósea cosechada se basan en una estrategia de separación o exterminación de las células tumorales de la población total, lo que habitualmente no extermina ni elimina todas las células malignas contaminantes. Dichos métodos incluyen leucoféresis de células de sangre periférica movilizada, selección o destrucción de células tumorales basada en inmunoafinidad, o uso de agentes citotóxicos o fotosensibilizantes para exterminar selectivamente las células tumorales. En el mejor de los casos, la carga de células malignas puede incluso ser de 1 a 10 células tumorales cada 100.000 células presentes en la cosecha inicial (Lazarus et al. J. of Hematotherapy, 2(4):457-66, 1993).

35 Por lo tanto, existe la necesidad de un método de purga destinado a destruir selectivamente las células malignas presentes en la médula ósea, que a la vez conserve las células madre hematopoyéticas normales necesarias para la reconstitución hematopoyética en el sujeto de trasplante.

Exposición a la radiación ocupacional/ambiental

40 La exposición a la radiación ionizante puede además ocurrir en el ámbito ocupacional. Las dosis ocupacionales de radiación ionizante pueden recibirlas las personas cuyos trabajos implican exposición (o exposición potencial) a radiación, por ejemplo en las industrias de energía nuclear y armas nucleares. Personal militar apostado en buques impulsados por reactores nucleares, o soldados requeridos para operar en áreas contaminadas por efectos radiactivos, se exponen a un riesgo similar de radiación ionizante. La exposición ocupacional puede además ocurrir en personal de rescate y emergencia de guardia para lidiar con acontecimientos catastróficos que implican un reactor nuclear o material radiactivo. Otras fuentes de exposición ocupacional pueden provenir de repuestos de máquinas, plásticos y disolventes remanentes de la fabricación de productos médicos radiactivos, alarmas contra incendio, señales de emergencia y otros productos de consumo. La exposición ocupacional puede también ocurrir en personas que prestan servicio en buques impulsados por energía nuclear, particularmente en aquellos que cuidan los reactores nucleares, en personal militar que opera en áreas contaminadas por los efectos de armas nucleares y personal de emergencia que trata con accidentes nucleares. La exposición ambiental a la radiación

ionizante puede también resultar de detonaciones de bombas nucleares (o bien experimentales o durante una guerra), descargas de actínidos de almacenamiento de desechos nucleares y procesamiento y reprocesamiento de combustible nuclear, y de materiales radiactivos naturales tales como gas radón o uranio. Hay también cada vez más preocupación de que el uso de artillería que contiene uranio resulte en bajos niveles de contaminación radiactiva en áreas de combate.

La exposición a la radiación se puede clasificar como aguda (una única gran exposición) o crónica (una serie de pequeñas exposiciones de bajo nivel o de exposiciones de bajo nivel continuas expandidas en el tiempo). La enfermedad por radiación en general proviene de una exposición aguda de una dosis suficiente, y se presenta con un conjunto característico de síntomas que aparecen en un modo ordenado, incluida alopecia, debilidad, vómitos, diarrea, quemaduras en la piel y hemorragia del tubo digestivo y las membranas mucosas. Los defectos genéticos, esterilidad y neoplasias malignas (particularmente cáncer de médula ósea) a menudo se desarrollan con el transcurso del tiempo. La exposición crónica usualmente se asocia con problemas médicos retrasados tales como cáncer y envejecimiento prematuro. La exposición corporal total aguda de 125.000 milirem puede causar enfermedad por radiación. Las dosis localizadas tales como aquellas utilizadas en la radioterapia pueden no causar enfermedad por radiación, pero también pueden resultar en daño o muerte de las células normales expuestas.

Por ejemplo, una dosis de radiación corporal total aguda de 100.000 - 125.000 milirem (equivalente a 1 Gy) recibida en menos de una semana resultaría en efectos fisiológicos observables tales como quemaduras o sarpullidos en la piel, hemorragia del tubo digestivo y gastrointestinal, náuseas, diarrea y/o fatiga excesiva. Los efectos citotóxicos y genéticos a más largo plazo, tales como destrucción de células hematopoyéticas e inmunocompetentes, pérdida de cabello (alopecia), descamación de las mucosas gastrointestinal y oral, enfermedad venoclusiva del hígado e hiperplasia vascular crónica de los vasos cerebrales, cataratas, neumonía, cambios en la piel y una mayor incidencia de cáncer pueden también manifestarse con el paso del tiempo. Las dosis agudas de menos de 10.000 milirem (equivalentes a 0,1 Gy) por lo general no producen efectos biológicos o fisiológicos observables de inmediato, aunque pueden ocurrir efectos citotóxicos o genéticos a largo plazo.

Una dosis aguda suficientemente grande de radiación ionizante, por ejemplo 500.000 a más de 1 millón de milirem (equivalentes a 5 - 10 Gy), puede matar a un individuo inmediatamente. Las dosis en los cientos de miles de milirems matan dentro de 7 a 21 días de una afección llamada "intoxicación por radiación aguda". Según se informa, algunos de los bomberos de Chernobyl murieron de intoxicación por radiación aguda, habiendo recibido dosis agudas en el intervalo de 200.000 - 600.000 milirem (equivalentes a 2 - 6 Gy). Las dosis agudas debajo de aproximadamente 200.000 no provocan la muerte, pero el individuo expuesto probablemente sufrirá los efectos citotóxicos o genéticos a largo plazo anteriormente analizados.

Las exposiciones ocupacionales agudas usualmente ocurren en trabajadores de plantas de energía nuclear expuestos a liberaciones de radiación accidentales, o en personal de incendios y rescates que responden a acontecimientos catastróficos que implican reactores nucleares u otras fuentes de material radiactivo. Los límites sugeridos para exposiciones ocupacionales agudas en situaciones de emergencia fueron desarrollados por Brookhaven National Laboratories, y se exponen en la Tabla 1.

Tabla 1:

Condiciones de todo el cuerpo para el límite de dosis	Actividad requerida	Condiciones para la exposición
10.000 milirem*	Proteger la propiedad	Voluntarias, cuando la dosis inferior no es práctica
25.000 milirem	Operación de rescate; Proteger al público en general	Voluntarias, cuando la dosis inferior no es práctica
>25.000 milirem	Operación de rescate; Proteger a una gran población	Voluntarias, cuando la dosis inferior no es práctica y el riesgo ha sido claramente explicado
*100.000 milirem equivalen a un sievert (Sv). Para radiación penetrante, tal como radiación gamma, un Sv equivale aproximadamente a un Gray (Gy). Por lo tanto, la dosis en Gy se puede estimar como 1 Gy cada 100.000 milirem.		

Una dosis crónica es un bajo nivel (es decir, 100 - 5000 milirem) de dosis de radiación incremental o continua recibida en el transcurso del tiempo. Los ejemplos de dosis crónicas incluyen una dosis de todo el cuerpo de ~5000 milirem por año, que es la dosis típicamente recibida por un adulto que trabaja en una planta de energía nuclear. En contraste, la Comisión de Energía Atómica recomienda que los miembros del público general no reciban más de 100 milirem por año. Las dosis crónicas pueden causar efectos citotóxicos y genéticos a largo plazo, por ejemplo,

ES 2 609 084 T3

manifestarse como un aumento del riesgo de un cáncer inducido por radiación que se desarrollará con posterioridad. Los límites recomendados para exposición crónica a la radiación ionizante se exponen en la Tabla 2.

Tabla 2:

Órgano o sujeto	Dosis ocupacional anual en milirem
Cuerpo entero	5000
Lente del ojo	15,000
Manos y muñecas	50,000
Cualquier órgano individual	50,000
Trabajadora embarazada	500 /9 meses
Menor de edad (16-18) que recibe instrucción	100

5 A modo comparativo, la Tabla 3 expone las dosis de radiación de fuentes comunes.

Tabla 3:

Fuentes	Dosis en milirem
Televisión	<1/año
Rayos gamma, aviones entre países	1
Vacación en montaña - 2 semanas	3
Efecto de prueba atómica	5
Agua, alimento y aire de EE. UU. (promedio)	30/año
Madera	50/año
Concreto	50/año
Ladrillo	75/año
Radiografía de tórax	100
Radiación cósmica (nivel del mar)	40/año (se suma 1 milirem/100 pie elev.)
Origen natural San Francisco	120/año
Origen natural Denver	50/año
Límite de la Comisión de Energía Atómica para trabajadores	5000/año
Radiografía dental completa	5000
Origen natural en Pocos de Caldras, Brasil	7000/año
Radiografía de diagnóstico de cuerpo entero	100,000

Fuentes	Dosis en milirem
Terapia del cáncer	500.000 (localizados)
Enfermedad por radiación-Nagasaki	125.000 (dosis individuales)
LD ₅₀ Nagasaki e Hiroshima	400.000-500.000 (dosis individuales)

Las dosis crónicas de más de 5000 milirem por año (0,05 Gy por año) pueden resultar en efectos citotóxicos o genéticos a largo plazo similares a aquellos para personas que reciben dosis agudas. Algunos efectos citotóxicos o genéticos adversos pueden también ocurrir en dosis crónicas de significativamente menos de 5000 milirem por año. Para propósitos de protección contra radiación, se supone que cualquier dosis encima de cero puede incrementar el riesgo de cáncer inducido por radiación (es decir, no hay umbral). Los estudios epidemiológicos han descubierto que el riesgo de por vida estimado de morir por cáncer es mayor que aproximadamente 0,04 % por rem de dosis de radiación a todo el cuerpo.

Si bien los trajes antirradiación u otras prendas protectoras pueden ser eficaces para reducir la exposición a la radiación, dichas prendas son costosas, difíciles de manejar y en general no están disponibles al público. Asimismo, las prendas radioprotectoras no protegen al tejido normal adyacente a un tumor por exposición a la radiación durante la radioterapia. Por lo tanto, es necesaria una forma práctica de proteger a los individuos que tienen programado incurrir en, o que conllevan, riesgo de exposición a radiación ionizante. En el contexto de irradiación terapéutica, es conveniente mejorar la protección de células normales y a la vez causar que las células tumorales permanezcan vulnerables a los efectos nocivos de la radiación. Asimismo, es conveniente proporcionar protección sistémica de la irradiación de todo el cuerpo anticipada o inadvertida, como puede ocurrir con exposiciones ocupacionales o ambientales, o con ciertas técnicas terapéuticas.

Los radioprotectores farmacéuticos ofrecen una alternativa rentable, eficaz y fácilmente disponible a las prendas radioprotectoras. No obstante, los intentos previos en la radioprotección de células normales con composiciones farmacéuticas no han sido completamente exitosos. Por ejemplo, las citocinas dirigidas a movilizar las células progenitoras de sangre periférica confieren un efecto mieloprotector cuando se administran antes de la radiación (Neta et al., Semin. Radiat. Oncol. 6:306-320, 1996), pero no confieren protección sistémica. Otros radioprotectores químicos administrados solos o combinados con modificadores de la respuesta biológica han demostrado efectos protectores leves en ratones, pero la aplicación de estos compuestos a grandes mamíferos fue menos exitosa, y se cuestionó si la radioprotección química tenía algún valor (Maisin, J.R., Bacq and Alexander Award Lecture. "Chemical radioprotection: past, present, and future prospects", Int J. Radiat Biol. 73:443-50, 1998). Los sensibilizadores de radiación farmacéutica, que se sabe que potencian preferencialmente los efectos de la radiación en tejidos cancerosos, son claramente inadecuados para la protección sistémica general de tejidos normales contra la exposición a radiación ionizante.

Se necesitan agentes terapéuticos para proteger a individuos que han incurrido, o conllevan riesgo de incurrir, en la exposición a radiación ionizante. En el contexto de irradiación terapéutica, es conveniente mejorar la protección de células normales y a la vez causar que las células tumorales permanezcan vulnerables a los efectos nocivos de la radiación. Asimismo, es conveniente proporcionar protección sistémica de la irradiación de todo el cuerpo anticipada o inadvertida, como puede ocurrir con exposiciones ocupacionales o ambientales, o con ciertas técnicas terapéuticas.

Protección contra efectos colaterales tóxicos de quimioterapia experimental

La quimioterapia experimental ha sido el pilar de tratamiento ofrecido a pacientes diagnosticados con neoplasias malignas avanzadas no extirpables quirúrgicamente, o neoplasias malignas resistentes a la quimioterapia y la radioterapia convencionales. Incluso en las clases de fármacos más eficaces, las propiedades curativas son limitadas. Esto se debe a su índice terapéutico relativamente bajo, a la restricción para la dosificación, tratamientos demorados y una proporción relativamente grande de reducciones del tumor solamente parciales. A este estado por lo general le sigue la recurrencia, el aumento de la carga tumoral y tumores resistentes a los fármacos.

A. Inhibidores de la fase celular mitótica

Los inhibidores de la fase celular mitótica constituyen una clase de compuestos quimioterapéuticos empleados en la terapia contra el cáncer. La descripción habitual del ciclo celular describe el ciclo en términos de una serie de fases - interfase y fase M (mitótica) - y la subdivisión de la interfase en las veces en que procede la síntesis de ADN, conocida como la fase S (por fase de síntesis), y los espacios que separan a la fase S de la mitosis. G1 es el espacio después de la mitosis pero antes de que comience la síntesis de ADN, y G2 es el espacio después de que se completa la síntesis de ADN antes de la mitosis y la división celular. La interfase está entonces compuesta por sucesivas fases G1, S y G2, y normalmente comprende 90% o más del tiempo del ciclo celular total. La fase M

consiste en la división nuclear (mitosis) y la división citoplásmica (citoquinesis). Durante la primera parte de la fase M, los cromosomas replicados se condensan a partir de su condición de interfase extendida. La envoltura nuclear se rompe y cada cromosoma se somete a movimientos que resultan en la separación de pares de cromátidas hermanas a medida que se dividen los contenidos nucleares. Se forman luego dos nuevas envolturas nucleares, y el citoplasma se divide para generar dos células hijas, cada una con un núcleo individual. Este proceso de citoquinesis finaliza la fase M y marca el comienzo de la interfase del siguiente ciclo celular. Las células hijas que resultan de la finalización de la fase M comienzan la interfase de un nuevo ciclo.

5

Un inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica es un agente químico cuyo mecanismo de acción incluye la inhibición de un pasaje celular a través de cualquier porción de la fase M del ciclo celular.

10 B. Inhibidores de topoisomerasas

Un inhibidor de topoisomerasa es un agente químico cuyo mecanismo de acción incluye interferir con la función de una topoisomerasa.

15

Las topoisomerasas constituyen un grupo de enzimas que catalizan la conversión de ADN de una forma topológica a otra, introduciendo quiebres transitorios en una o ambas cadenas de ADN doble. Los isómeros topológicos son moléculas que difieren solamente en su estado de superbobinado. Las topoisomerasas sirven para aliviar el estrés torsional durante la replicación y transcripción. Alteran la estructura del ADN, pero no la secuencia.

20

Se han descrito tres tipos distintos de topoisomerasas en seres humanos. Estas son la topoisomerasa I (monómero de 91 kDa) y la topoisomerasa II, que además se subclasifica como II α (dímero de 170 kDa) y II β (dímero de 180 kDa). Los tres tipos distintos son codificados por genes en tres cromosomas separados. Los organismos más simples poseen solamente topoisomerasa I; no obstante, los organismos superiores tienen los tres tipos de topoisomerasas. Si bien la topoisomerasa II α está presente en todas las eucariotas, II β está presente solamente en vertebrados, y parece estar asociada más estrechamente a la diferenciación celular que a la proliferación. La topoisomerasa II β parece ser altamente homóloga al tipo II α .

25

Las topoisomerasas actúan catalizando la ruptura y volviendo a unir reacciones en el esqueleto de fosfodiéster de las moléculas de ADN. La topoisomerasa I escinde de manera reversible una cadena simple en la molécula de ADN doble, mientras que la topoisomerasa II se rompe y se vuelve a unir a ambas cadenas de ADN. Se cree que estas reacciones proceden mediante intermedios de reacción transitorios, conocidos como "complejos escindibles", en donde las enzimas (o las subunidades enzimáticas) forman enlaces covalentes que implican una tirosina y el enlace de fosfodiéster escindido del esqueleto del sustrato de ADN.

30

En los últimos años, las topoisomerasas se han convertido en importantes dianas quimioterapéuticas para el tratamiento del cáncer. Se describe que la camptotecina y sus derivados actúan específicamente al nivel de la topoisomerasa I - complejo de ADN y estimulan la escisión de ADN. Los agentes tales como β -lapachona, actúan bloqueando la formación del complejo topoisomerasa I - ADN. Se han desarrollado varios compuestos nuevos que pueden dirigir la topoisomerasa I o las isoformas de topoisomerasa II α -II β , o los tres tipos de topoisomerasas. La inhibición de la topoisomerasa II se considera más difícil debido a la complejidad de las interacciones. La mayoría de los inhibidores de topoisomerasa II bloquean la etapa de ligadura, conduciendo a "complejos escindibles" estabilizados entre el ADN y la enzima. La mayoría de los inhibidores de enzimas funcionan acoplándose al sitio activo de la enzima o al sitio alostérico cercano para bloquear la reacción del sustrato normal. La inhibición de la topoisomerasa II implica dos partes: la parte aromática de la molécula del inhibidor se intercala entre los pares de bases del ADN y otra porción más polar interactúa con la topoisomerasa. Debido a que los inhibidores de topoisomerasa II (p. ej., doxorubicina y etopósido) actúan como veneno, en lugar de inhibidores competitivos clásicos, su acción depende del nivel de la enzima en las células. Las células de rápida proliferación, que contienen niveles relativamente altos de topoisomerasa II, parecen ser más sensibles a estos agentes. Por otra parte, las células diferenciadas tienen niveles de topoisomerasa II relativamente bajos y son mucho más resistentes a la acción de estos inhibidores.

35

40

45

C. Agentes citoprotectores

Se han propuesto varios agentes citoprotectores para mejorar el índice terapéutico de los fármacos antineoplásicos. Para toxicidad de metotrexato, dichos agentes incluyen asparaginasa, factor leucovorin, timidina y carbipeptidasa. Debido al amplio uso de antraciclinas, se han propuesto agentes citoprotectores específicos y no específicos que tienen grados de eficacia variables; en los que se incluyen los corticosteroides, desrazoxana y estaurosporina. Esta última es de interés, ya que incluye un bloqueo de restricción de G1/S en células normales. (Chen et al., Proc AACR 39:4436A, 1998).

50

55

El cisplatino se utiliza ampliamente y tiene un pequeño índice terapéutico que ha estimulado la investigación y la búsqueda de citoprotectores. Entre los citoprotectores para el cisplatino con potencial clínico se encuentran mesna, glutatión, tiosulfato sódico y amifostina (Griggs, Leuk. Res. 22 Supl 1:527-33, 1998; List et al., Semin. Oncol. 23(4 Supl 8):58-63, 1996; Taylor et al., Eur. J. Cancer 33(10):1693-8, 1997). Ninguno de estos u otros citoprotectores propuestos tales como ácido oxónico para toxicidad de fluoropirimidina, o prosaptide para toxicidad celular de

paclitaxel PC12, parece funcionar por un mecanismo que torna las células de replicación normal en un estado quiescente.

Se necesitan nuevos agentes citoprotectores eficaces que sean eficaces para proteger a animales, incluidos seres humanos, de los efectos colaterales citotóxicos de los agentes quimioterapéuticos.

5 Definiciones

General

El término "individuo" o "sujeto", incluye a seres humanos y animales no humanos. Con respecto a los métodos radioprotectores y citoprotectores descritos, estos términos hacen referencia, a menos que se indique lo contrario, a un organismo que tiene programado incurrir, o que conlleva riesgo de incurrir, o que ha incurrido, en la exposición a radiación ionizante o a la exposición a uno o más agentes quimioterapéuticos citotóxicos.

La expresión "cantidad eficaz", cuando se usa para describir la terapia a un paciente de un trastorno proliferativo, se refiere a la cantidad de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, de un conjugado de acuerdo con la Fórmula I-L-Ab, que inhibe el crecimiento de células tumorales o alternativamente induce la apoptosis de células cancerosas, preferiblemente células tumorales, que resulta en un efecto citotóxico terapéuticamente útil y selectivo sobre las células proliferativas cuando se administra a un paciente que sufre de cáncer u otro trastorno que manifiesta proliferación celular anormal. La expresión "cantidad eficaz" incluye cantidades de un compuesto de la invención que pueden metabolizarse a un metabolito activo en una cantidad que inhibe el crecimiento de células tumorales o induce la apoptosis de células cancerosas.

El término "anticuerpo", tal como se emplea en la presente memoria, se refiere a inmunoglobulina de longitud total, o a una porción inmunológicamente activa de una inmunoglobulina de longitud total, es decir, una molécula que contiene un sitio de unión al antígeno que se une inmunoespecíficamente a un antígeno de una diana de interés, p. ej., células de proliferación anormal, particularmente células de cáncer. El anticuerpo puede ser de cualquier tipo, p. ej., IgG, IgE, IgM, IgD, IgA o IgY; de cualquier clase, p. ej., IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2, o subclase de inmunoglobulina. El anticuerpo puede derivar de cualquier especie. Preferiblemente, el anticuerpo es humano o murino, más preferiblemente humano. Los anticuerpos pueden incluir anticuerpos policlonales, monoclonales, biespecíficos, humanos, humanizados, quiméricos, monocatenarios, Fv, fragmentos de anticuerpos, p. ej., Fab, F(ab'), F(ab)₂, y fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab.

La expresión "anticuerpo humanizado" se refiere a un anticuerpo que tiene sus regiones determinantes de complementariedad (CDR) derivadas de una inmunoglobulina de una especie no humana, y el resto de la molécula del anticuerpo derivada de una inmunoglobulina humana.

La expresión "anticuerpo quimérico" hace referencia a un anticuerpo monoclonal que comprende una región variable, es decir, una región de unión, de una fuente o especie y por lo menos una porción de una región constante derivada de una fuente o especie distinta.

La expresión "anticuerpo quimérico humanizado" significa un anticuerpo quimérico en el que por lo menos la región constante deriva de un ser humano.

La expresión "anticuerpo policlonal mono-específico" significa una preparación de anticuerpos que comprende múltiples especies de anticuerpos que tienen especificidad para un solo antígeno.

La expresión "trastorno proliferativo" significa un trastorno en el que las células son producidas por el cuerpo a una velocidad atípicamente acelerada.

40 Radioprotección

Tal como se emplea en la presente memoria, "radiación ionizante" es la radiación de energía suficiente que, cuando es absorbida por las células y los tejidos, induce la formación de especies de oxígeno reactivo y daño al ADN. Este tipo de radiación incluye radiografías, rayos gamma y bombardeo de partículas (p. ej., haz de neutrones, haz de electrones, protones, mesones y otro), y se utiliza para pruebas y tratamientos médicos, propósitos científicos, pruebas industriales, manufactura y esterilización, armas y desarrollo de armas, y muchos otros usos. La radiación típicamente se mide en unidades de dosis absorbida, tal como el rad o gray (Gy), en donde 1 rad = 0,01 Gy, o en unidades de equivalencia de dosis, tal como el rem o sievert (Sv), en donde 1 rem = 0,01 Sv.

El Sv es la dosis Gy multiplicada por un factor que incluye daño al tejido. Por ejemplo, la radiación ionizante penetrante (p. ej., radiación gamma y beta) tiene un factor de aproximadamente 1, entonces 1 Sv = ~1 Gy. Los rayos alfa tienen un factor de 20, entonces 1 Gy de radiación alfa = 20 Sv.

Por "cantidad eficaz de radiación ionizante" se entiende una cantidad de radiación ionizante eficaz para exterminar o reducir la proliferación de células de proliferación anormal en un individuo. Tal como se emplea con respecto a purga de la médula ósea, "cantidad eficaz de radiación ionizante" significa una cantidad de radiación ionizante eficaz para destruir o reducir la proliferación de células malignas en una muestra de médula ósea extraída de un individuo.

Por "exposición aguda a radiación ionizante" o "dosis aguda de radiación ionizante" se entiende una dosis de radiación ionizante absorbida por un individuo en menos de 24 horas. La dosis aguda se puede localizar, como en técnicas de radioterapia, o puede ser absorbida por todo el cuerpo del individuo. Las dosis agudas típicamente están por encima de 10.000 milirem (0,1 Gy), pero pueden ser inferiores.

- 5 Por "exposición crónica a radiación ionizante" o "dosis crónica de radiación ionizante" se entiende una dosis de radiación ionizante absorbida por un individuo en un periodo de más de 24 horas. La dosis puede ser intermitente o continua, y se puede localizar o puede ser absorbida por todo el cuerpo del individuo. Las dosis crónicas típicamente son de menos de 10.000 milirem (0,1 Gy), pero pueden ser de más.

- 10 Por "en riesgo de incurrir en exposición a la radiación ionizante" se entiende que un individuo puede intencionalmente, p. ej., tener sesiones de radioterapia programada, o exponerse en forma inadvertida a radiación ionizante en el futuro. La exposición inadvertida incluye la exposición ambiental u ocupacional accidental o no planificada.

- 15 Por "cantidad eficaz de un compuesto radioprotector" se entiende una cantidad de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I eficaz para reducir o eliminar la toxicidad asociada con radiación en células normales del individuo, y además impartir un efecto citotóxico directo a células que proliferan de modo anormal en el individuo. Tal como se emplea con respecto a purga de la médula ósea, "cantidad eficaz" del compuesto radioprotector de acuerdo con la Fórmula I significa una cantidad de un compuesto eficaz para reducir o eliminar la toxicidad asociada con radiación en la médula ósea extirpada de un individuo, y además impartir un efecto citotóxico directo a las células malignas en la médula ósea extirpada del individuo.

20 Citoprotección

Por "inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica" se entiende un agente químico cuyo mecanismo de acción incluye la inhibición de un pasaje celular a través de cualquier porción de la fase mitótica (M) del ciclo celular.

- 25 Por "cantidad eficaz" de un inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica o inhibidor de topoisomerasa se entiende una cantidad de dicho inhibidor eficaz para destruir o reducir la proliferación de células cancerosas en un animal hospedante.

Por "cantidad eficaz" del compuesto citoprotector de acuerdo con la Fórmula I se entiende una cantidad de un compuesto eficaz para reducir la toxicidad del inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica o el inhibidor de topoisomerasa en células normales del animal.

- 30 La expresión "ciclo celular" se refiere a la descripción habitual del desarrollo celular en términos de un ciclo que consiste en una serie de fases - interfase y fase M (mitótica) - y la subdivisión de la interfase en las veces en que procede la síntesis de ADN, conocida como la fase S (por fase de síntesis), y los espacios que separan a la fase S de la mitosis. G1 es el espacio después de la mitosis pero antes de que comience la síntesis de ADN, y G2 es el espacio después de que se completa la síntesis de ADN antes de la mitosis y la división celular. La interfase está entonces compuesta por sucesivas fases G1, S y G2, y normalmente comprende 90% o más del tiempo del ciclo celular total. La fase M consiste en la división nuclear (mitosis) y la división citoplásmica (citoquinesis). Durante la primera parte de la fase M, los cromosomas replicados se condensan a partir de su condición de interfase extendida. La envoltura nuclear se rompe y cada cromosoma se somete a movimientos que resultan en la separación de pares de cromátidas hermanas a medida que se dividen los contenidos nucleares. Se forman luego dos nuevas envolturas nucleares, y el citoplasma se divide para generar dos células hijas, cada una con un núcleo individual. Este proceso de citoquinesis finaliza la fase M y marca el comienzo de la interfase del siguiente ciclo celular. Las células hijas que resultan de la finalización de la fase M comienzan la interfase de un nuevo ciclo.

Por "topoisomerasa" se entiende una enzima que cataliza la conversión de ADN de una forma topológica a otra, introduciendo quiebres transitorios en una o ambas cadenas de ADN doble.

- 45 Por "inhibidor de topoisomerasa" se entiende un agente químico cuyo mecanismo de acción incluye interferir con la función de una topoisomerasa.

Los "isómeros topológicos" son moléculas que difieren solamente en su estado de superbobinado. La topoisomerasa de tipo I corta una cadena de ADN y relaja negativamente el ADN superbobinado, pero no actúa sobre el ADN superbobinado positivamente. La topoisomerasa de tipo II corta ambas cadenas de ADN y aumenta el grado de superbobinado negativo en el ADN.

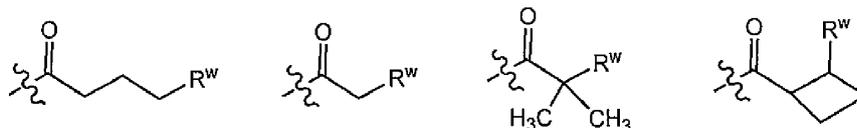
50 Compuestos químicos

El término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, p. ej., alcoxi, haloalquilo o aminoalquilo, se refiere, a menos que se indique lo contrario, a un radical hidrocarbonado saturado que tiene el número de átomos de carbono designado (es decir, C₁-C₆ significa uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis carbonos) e incluye grupos de cadena lineal, ramificada, cíclica y policíclica. Los ejemplos incluyen: metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo,

terc-butilo, pentilo, neopentilo, hexilo, ciclohexilo, norbornilo y ciclopropilmetilo. Los grupos alquilo preferidos son -alquilo (C₁-C₆). El más preferido es alquilo (C₁-C₃), particularmente etilo, metilo e isopropilo.

5 "Alquilo sustituido" significa alquilo, como se definió anteriormente, sustituido con uno, dos o tres sustituyentes preferiblemente independientemente seleccionados del grupo que consiste en halógeno, -OH, -O-alquilo (C₁-C₄), -NH₂, -N(CH₃)₂, -CO₂H, -CO₂-alquilo (C₁-C₄), -CF₃, -CONH₂, -SO₂NH₂, -C(=NH)NH₂, -CN y -NO₂. Más preferiblemente, el alquilo sustituido contiene uno o dos sustituyentes independientemente seleccionados entre halógeno, -OH, NH₂, -N(CH₃)₂, trifluorometilo y -CO₂H; lo más preferiblemente, independientemente seleccionados entre halógeno y -OH. Los ejemplos de alquilos sustituidos incluyen, aunque sin limitarse a ello, 2,2-difluoropropilo, 2-carboxiciclopentilo y 3-cloropropilo.

10 El término "alquilenos", por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, un radical hidrocarbonado de cadena lineal, ramificada o cíclica que tiene el número designado de carbonos. Una sustitución de otro grupo en alquilenos puede ser en cualquier carbono sustituible, es decir, la expresión -C(=O)(alquilenos C₁-C₄)R^W incluiría, por ejemplo:



15 El término "alcoxi" empleado solo o combinado con otros términos significa, a menos que se indique lo contrario, un grupo alquilo que tiene el número designado de átomos de carbono, como se definió anteriormente, conectado al resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno, tal como, por ejemplo, metoxi, etoxi, 1-propoxi, 2-propoxi (isopropoxi) y los homólogos e isómeros superiores. Se prefieren alcoxi (C₁-C₃), particularmente etoxi y metoxi.

20 El término "amina" o "amino" se refiere a radicales de la fórmula general -NRR', en donde R y R' se seleccionan independientemente entre hidrógeno o un radical hidrocarbilo, o en donde R y R' combinados forman un heterociclo. Los ejemplos de grupos amino incluyen: -NH₂, metilamino, dietilamino, anilino, bencil amino, piperidinilo, piperazinilo e indolinilo.

25 La expresión "base acuosa", tal como se emplea para una reacción de hidrólisis, se refiere a una base contenida en un medio disolvente que puede ser agua o puede ser una mezcla de agua y por lo menos un disolvente orgánico miscible en agua tal como, por ejemplo, metanol, etanol o tetrahidrofurano.

El término "aromático" hace referencia a un carbociclo o heterociclo que tiene uno o más anillos polinsaturados que tienen carácter aromático ((4n + 2) electrones deslocalizados π (pi)).

30 El término "arilo" empleado solo o en combinación con otros términos significa, a menos que se indique lo contrario, un sistema aromático carbocíclico que contiene uno o más anillos (típicamente uno, dos o tres anillos) en donde dichos anillos pueden conectarse entre sí en un modo colgante, tal como un bifenilo, o se pueden condensar, tal como naftaleno. Los ejemplos incluyen fenilo; antracilo; y naftilo. Se prefieren fenilo y naftilo, más preferiblemente fenilo.

35 La expresión "aril-alquilo (C₁-C₃)" significa un radical en el que en una cadena alquilenos de uno a tres carbonos está unida a un grupo arilo, p. ej., -CH₂CH₂-fenilo. Se prefieren -(CH₂)arilo y -(CH(CH₃))arilo. La expresión "aril-alquilo (C₁-C₃) sustituido" significa un radical aril-alquilo (C₁-C₃) en el que el grupo arilo está sustituido. Se prefiere -(CH₂)arilo sustituido. De modo similar, la expresión "heteroaril-alquilo (C₁-C₃)" significa un radical en el que en una cadena alquilenos de uno a tres carbonos está conectada a un grupo heteroarilo, p. ej., -CH₂CH₂-piridilo. Se prefiere -(CH₂)heteroarilo. La expresión "heteroaril-alquilo (C₁-C₃) sustituido" significa un radical heteroaril-alquilo (C₁-C₃) en el que el grupo heteroarilo está sustituido. Se prefiere -(CH₂)heteroarilo sustituido.

40 El término "arileno", por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, un radical arilo divalente. Se prefieren los radicales fenilo divalentes, particularmente los radicales fenilo 1,4-divalentes.

El término "cicloalquilo" se refiere a radicales alquilo que contienen anillos. Los ejemplos incluyen ciclohexilo, ciclopentilo, ciclopropilmetilo y norbornilo.

45 La expresión "doble enlace exocíclico", a menos que se indique lo contrario, se refiere en este documento a un doble enlace carbono-carbono externo a una estructura anular química. Específicamente, la expresión se refiere al doble enlace carbono-carbono en compuestos de la invención, que no está contenido en el anillo fenilo ni el anillo aromático, Q, pero en cambio es el doble enlace que es alfa al anillo aromático, Q;

50 Los términos "halo" o "halógeno" por sí mismos o como parte de otro sustituyente, p. ej., haloalquilo, significan, a menos que se indique otra cosa, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor, cloro o bromo, más preferiblemente fluoro o cloro.

El término "haloalquilo" significa, a menos que se indique otra cosa, un grupo alquilo tal como se define en este documento, que contiene por lo menos un sustituyente de halógeno y ningún sustituyente distinto de halógeno. Los sustituyentes de halógeno múltiples, hasta la sustitución de todos los hidrógenos sustituibles en el grupo alquilo pueden ser los mismos o diferentes. Los grupos haloalquilo preferidos incluyen, por ejemplo, perfluoro-alquilo (C₁-C₄), gem-difluoro-alquilo (C₁-C₄) y cloro-alquilo (C₁-C₄). Los grupos haloalquilo más preferidos incluyen, por ejemplo, -CF₃, -C₂F₅, -CH₂CF₃, -CHF₂, -CF₂CH₃ y -CH₂Cl.

El término "heteroalquilo" por sí mismo o en combinación con otro término significa, a menos que se indique otra cosa, un radical de cadena lineal o ramificada estable que consiste en el número especificado de átomos de carbono y uno o dos heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S, y en donde, en los heteroátomos de azufre, puede estar opcionalmente oxidado y en los heteroátomos de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado u oxidado. Los oxígenos enlazados a azufre oxidado o nitrógeno pueden estar presentes además de uno o dos heteroátomos en el grupo heteroalquilo. El heteroátomo(s) puede estar dispuesto en cualquier posición del grupo heteroalquilo, incluido entre el resto del grupo heteroalquilo y el fragmento al cual está unido, así como también al átomo de carbono más distal en el grupo heteroalquilo. Los ejemplos incluyen: -O-CH₂-CH₂-CH₃, -CH₂-CH₂-CH₂-OH, -CH₂-CH₂-NH-CH₃, -CH₂-SO₂-NH-CH₃, -CH₂-S-CH₂-CH₃ y -CH₂-CH₂-S(=O)-CH₃. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tal como, por ejemplo, -CH₂-NH-OCH₃ o -CH₂-CH₂-S-S-CH₃.

El término "heterociclo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, un sistema de anillo no sustituido o sustituido, estable, mono- o multicíclico que consiste en átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O y S, y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. El sistema heterocíclico puede estar conectado, a menos que se indique lo contrario, en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que proporcione una estructura estable.

El término "heteroarilo" o "heteroaromático" hace referencia a un heterociclo que tiene un carácter aromático. Un grupo heteroarilo monocíclico es un anillo de 5, 6 o 7 miembros cuyos ejemplos son pirrolilo, furilo, tienilo, piridilo, pirimidinilo y pirazinilo. Un heteroarilo policíclico puede comprender múltiples anillos aromáticos o puede incluir uno o más anillos que están parcialmente saturados. Los ejemplos de grupos heteroarilo policíclicos que contienen un anillo parcialmente saturado incluyen tetrahydroquinolilo y 2,3-dihydrobenzofurilo. Para compuestos de Fórmula I, se entiende que el punto de sujeción en el anillo Q es en un átomo que es parte de un anillo monocíclico aromático o un componente anular de un aromático policíclico que es en sí mismo un anillo aromático. El punto de sujeción en el anillo Q puede ser un carbono del anillo o un nitrógeno del anillo e incluye la sujeción para formar sales de amonio cuaternario aromáticas tales como piridinio.

Los ejemplos de heterociclos no aromáticos incluyen grupos monocíclicos tales como: aziridina, oxirano, tiirano, azetidina, oxetano, tietano, pirrolidina, pirrolina, imidazolina, pirazolidina, dioxolano, sulfolano, 2,3-dihydrofurano, 2,5-dihydrofurano, tetrahydrofurano, tiofano, piperidina, 1,2,3,6-tetrahydropiridina, 1,4-dihydropiridina, piperazina, morfolina, tiomorfolina, pirano, 2,3-dihydropirano, tetrahydropirano, 1,4-dioxano, 1,3-dioxano, homopiperazina, homopiperidina, 1,3-dioxepano, 4,7-dihidro-1,3-dioxepin y hexametilenoóxido.

Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen: piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, particularmente 2- y 4-pirimidilo, piridazinilo, tienilo, furilo, pirrolilo, particularmente 2-pirrolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, pirazolilo, particularmente 3- y 5-pirazolilo, isotiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,2,4-triazolilo, 1,3,4-triazolilo, tetrazolilo, 1,2,3-tiadiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo y 1,3,4-oxadiazolilo.

Los ejemplos de heterociclos policíclicos incluyen: indolilo, particularmente 3-, 4-, 5-, 6- y 7-idol 1 indolinilo, quinolilo, tetrahydroquinolilo, isoquinolilo, particularmente 1- y 5-isoquinolilo, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolilo, cinnolinilo, quinoxalinilo, particularmente 2- y 5-quinoxalinilo, quinazolinilo, ftalazinilo, 1,8-naftiridinilo, 1,4-benzodioxanilo, cumarina, dihidroocumarina, benzofurilo, particularmente 3-, 4-, 1,5-naftiridinilo, 5-, 6- y 7-benzofurilo, 2,3-dihydrobenzofurilo, 1,2-bencisoxazolilo, benzotienilo, particularmente 3-, 4-, 5-, 6- y 7-benzotienilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, particularmente 2-benzotiazolilo y 5-benzotiazolilo, purinilo, bencimidazolilo, particularmente 2-bencimidazolilo, benzotriazolilo, tioxantinilo, carbazolilo, carbolinilo, acridinilo, pirrolizidinilo y quinolizidinilo.

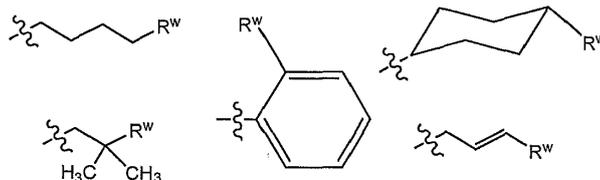
El término "heteroarileno", por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, un radical heteroarilo divalente. Se prefiere heteroarileno monocíclico de cinco o seis miembros. Los que más se prefieren son los restos heteroarileno que comprenden anillos heteroarileno divalentes seleccionados entre piridina, piperazina, pirimidina, pirazina, furano, tiofeno, pirrol, tiazol, imidazol y oxazol.

Para compuestos de Fórmula I, cuando un anillo aromático o heteroaromático está unido a una posición y el anillo comprende un anillo policíclico parcialmente saturado, el punto de sujeción en el anillo aromático o heteroaromático está en un átomo del anillo de un componente del anillo aromático del anillo policíclico. Por ejemplo, en el anillo heteroaromático parcialmente saturado 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolina, los puntos de sujeción son los átomos del anillo en las posiciones 5, 6, 7 y 8.

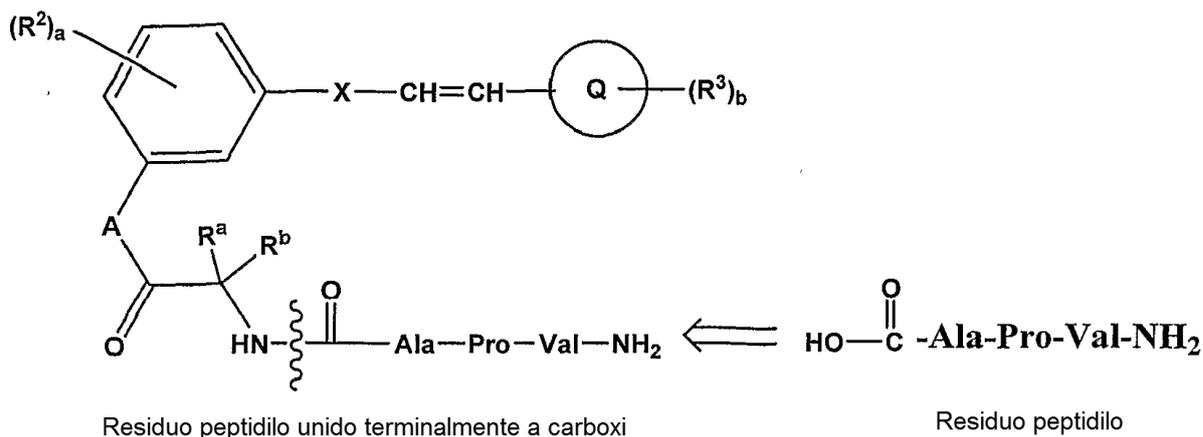
La lista anteriormente mencionada de restos heterociclilo y heteroarilo tiene como fin ser representativa, no limitativa.

El término "hidrocarbilo" se refiere a cualquier resto que comprenda solamente átomos de carbono e hidrógeno. Los grupos hidrocarbilo preferidos son hidrocarbilo (C₁-C₁₂), se prefieren más hidrocarbilo (C₁-C₇), incluso más bencilo y alquilo (C₁-C₆).

El término "hidrocarbilenos" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa, a menos que se indique lo contrario, un resto divalente que comprende solamente átomos de carbono e hidrógeno. Una sustitución de otro grupo en hidrocarbilenos puede ser en cualquier carbono sustituible, es decir, la expresión -(hidrocarbilenos C₁-C₆)R^W incluiría, por ejemplo:



La expresión "residuo peptídico unido terminalmente a carboxi" se refiere a un radical peptídico como un sustituyente en una molécula de la Fórmula I. El radical está unido a través de la funcionalidad carboxilo de un residuo peptídico para formar una carboxamida, éster carboxílico o sulfuro de acilo (-S-C(=O)-). El esquema 1 ilustra el modo en que el residuo peptídico ilustrativo puede estar unido en forma terminal a carboxi como un sustituyente en un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.



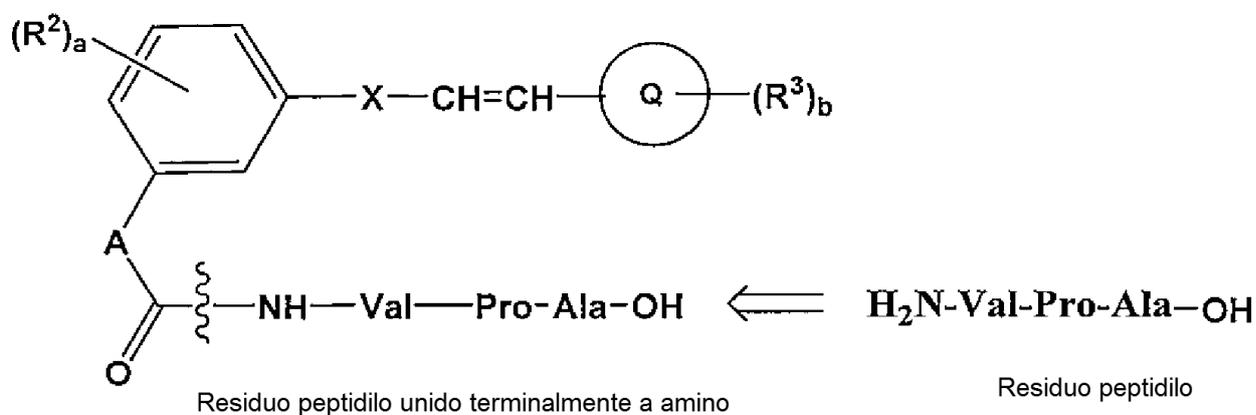
Esquema 1

Los residuos aminoácido que comprenden el residuo unido en forma terminal a carboxi pueden comprender aminoácidos naturales o no naturales o sus combinaciones. Los aminoácidos no naturales son aminoácidos distintos de los veinte aminoácidos esenciales. Un ejemplo de aminoácido no natural es un D-aminoácido, es decir, un aminoácido que tiene una estereoquímica opuesta a la estereoquímica de los L-aminoácidos naturales. Otro ejemplo de un aminoácido no natural es un aminoácido que tiene una cadena lateral que difiere de las cadenas laterales que ocurren en los aminoácidos naturales, por ejemplo, α-etil glicina o α-fenil glicina. Un tercer ejemplo es un aminoácido que tiene una variación del esqueleto. Los ejemplos de variaciones del esqueleto de aminoácidos incluyen miméticos de β-alanina y β-turn tales como lactama de Freidinger. Véanse Freidinger et al., Science, 1980, 210, 656. Un cuarto ejemplo de un aminoácido no natural es un aminoácido que tiene dos α-sustituyentes, p. ej., α,α-dimetil glicina.

El término amino del residuo peptídico unido en forma terminal a carboxi puede ser un grupo amino no sustituido o sustituido. Las sustituciones en el término amino incluyen mono- y di-(alquilo C₁-C₆), -C(=O)(alquilo C₁-C₆), -C(=O)O(hidrocarbilo (C₁-C₇)) y grupos protectores de nitrógeno comúnmente empleados tales como *tert*-butoxicarbonilo (BOC), carbobenciloxi (CBZ), 2,4-dimetoxibencilo y fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).

La expresión "residuo peptídico unido terminalmente a amino" se refiere a un radical peptídico como un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. El radical está unido a través de la funcionalidad amino terminal del residuo peptídico para formar una carboxamida, sulfonamida, urea o tiourea. El esquema 2 ilustra el modo en que el residuo peptídico

ilustrativo puede estar unido en forma terminal a amino como un sustituyente en un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.



Esquema 2

- 5 El término carboxi del residuo peptídico unido en forma terminal a amino puede ser un grupo carboxilo libre o su sal, o puede derivar como un éster o amida. Los ésteres adecuados incluyen alquilo, preferiblemente alquilo (C₁-C₆); y arilalquilo, preferiblemente ésteres bencílicos. Las amidas adecuadas incluyen la amida primaria y las amidas secundarias y terciarias que comprenden uno o dos sustituyentes en la nitrógeno amida independientemente seleccionados entre alquilo (C₁-C₃), preferiblemente metilo o etilo; arilo, preferiblemente fenilo; y grupos arilalquilo (C₁-C₃), preferiblemente bencilo o bencilo sustituido.
- 10 Como con los residuos peptídico unidos en forma terminal a carboxi, los aminoácidos que comprenden el residuo peptídico unido en forma terminal a amino pueden comprender aminoácidos naturales o no naturales o sus combinaciones.
- 15 La expresión "perfluoroalquilo (C_x-C_y)", en donde x < y, significa un grupo alquilo con un mínimo de x átomos de carbono y un máximo de y átomos de carbono, en donde todos los átomos de hidrógeno se reemplazan con átomos de flúor. Se prefiere perfluoroalquilo -(C₁-C₆), más preferiblemente perfluoroalquilo -(C₁-C₃), lo más preferiblemente -CF₃.
- La expresión "trifluoro-alquilo (C_x-C_y)" significa un grupo alquilo con un mínimo de x átomos de carbono y un máximo de y átomos de carbono, en donde los tres átomos de hidrógeno en el carbono terminal (-CH₃) se reemplazan con átomos de flúor. Los ejemplos incluyen -CH₂CF₃, -(CH₂)₂-CF₃ y -CH(CH₃)-CF₃.
- 20 La expresión "difluoro-alquilo (C_x-C_y)" significa un grupo alquilo con un mínimo de x átomos de carbono y un máximo de y átomos de carbono, en donde un átomo de carbono está germinalmente sustituido con dos átomos de flúor. El carbono sustituido con flúor puede ser cualquier carbono de la cadena que tenga por lo menos dos hidrógenos sustituibles, incluido un grupo -CH₃ terminal y el carbono proximal a través del cual el difluoroalquilo (C_x-C_y) está unido al resto de la molécula. Los ejemplos incluyen -CH₂CF₂H, -(CH₂)₂-CF₂H y -CF₂-CH₃ y 3,3-difluorociclohexilo.
- 25 El término "sustituido" significa que un átomo o grupo de átomos ha reemplazado el hidrógeno como el sustituyente conectado a otro grupo. Para grupos arilo y heteroarilo, el término "sustituido" hace referencia a cualquier nivel de sustitución, a saber mono-, di-, tri-, tetra- o penta-sustitución, en donde dicha sustitución está permitida. Los sustituyentes se seleccionan independientemente, y la sustitución puede ser en cualquier posición químicamente accesible.
- 30 La expresión "isómero óptico aislado" significa un compuesto que ha sido sustancialmente purificado del correspondiente isómero(s) óptico de la misma fórmula. Preferiblemente, el isómero aislado tiene por lo menos aproximadamente 80%, más preferiblemente por lo menos 90% de pureza, incluso más preferiblemente por lo menos 98% de pureza, lo más preferiblemente por lo menos aproximadamente 99% de pureza, en peso.
- 35 El nombre de los compuestos descritos en este documento se obtuvo empleando los programas de nombres de estructuras incluidos en los paquetes de software CHEMDRAW®. Los compuestos, excepto las sulfonamidas α,β-insaturadas, se nombraron usando el programa "Structure to Name" dentro de ChemDraw Ultra Version 8.0 (© 1985-2003, CambridgeSoft Corporation, 100 Cambridgepark Drive, Cambridge, MA 02140 USA). Las estructuras de las sulfonamidas α,β-insaturadas descritas en este documento se nombraron usando el nomenclador Plug-in para ChemDraw 7.0.

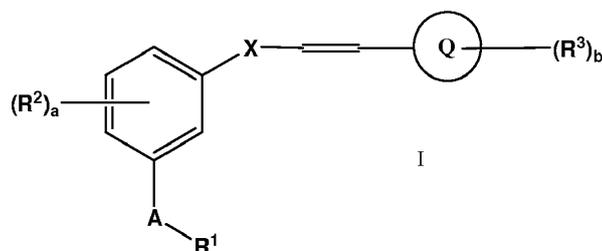
Compendio de la invención y posterior descripción

- 5 Es un objeto de la presente invención proveer compuestos, conjugados, composiciones farmacéuticas y métodos terapéuticos. Los compuestos biológicamente activos tienen la forma de olefinas aromáticas, estructuralmente unidas mediante un enlazador metileno-sulfona opcionalmente sustituido, un enlazador sulfonamida opcionalmente *N*-sustituido o un enlazador carboxamida opcionalmente *N*-sustituido, a una funcionalidad fenol o tiofenol, o un derivado de dicha funcionalidad fenol o tiofenol.
- 10 Es un objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos, conjugados, composiciones y métodos para el tratamiento y/o la prevención de cáncer y otros trastornos proliferativos.
- Es un objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos y conjugados que sean selectivos para exterminar células tumorales a concentraciones terapéuticamente útiles.
- Es un objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos, conjugados, composiciones y métodos para inducir a las células neoplásicas a someterse selectivamente a apoptosis.
- 15 Es otro objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos, conjugados, métodos y composiciones que permitan el tratamiento profiláctico de trastornos proliferativos.
- 20 Es otro objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos, composiciones y métodos para proteger células y tejidos normales contra los efectos citotóxicos y genéticos de la exposición a la radiación ionizante, en individuos que hayan incurrido, incurrirán en el futuro o conlleven riesgo de incurrir en la exposición a la radiación ionizante. La exposición a la radiación ionizante puede ocurrir en dosis controladas durante el tratamiento del cáncer y otros trastornos proliferativos. Alternativamente, la exposición a la radiación ionizante puede ocurrir en dosis no controladas más allá de la norma aceptada para la población en general durante actividades o exposiciones ambientales de alto riesgo.
- 25 Es un objeto de la presente descripción dar a conocer compuestos, composiciones y métodos para proteger a individuos contra los efectos colaterales citotóxicos de los inhibidores del ciclo celular de la fase mitótica y de los inhibidores de topoisomerasa, utilizados en el tratamiento del cáncer y otros trastornos proliferativos.
- Es un objeto de la presente descripción dar a conocer un método para tratar el cáncer u otros trastornos proliferativos, que reduce o elimina los efectos citotóxicos en las células normales.
- Es un objeto de la presente descripción mejorar los efectos de los inhibidores del ciclo celular de la fase mitótica y de los inhibidores de topoisomerasa, que se usan para el tratamiento del cáncer u otros trastornos proliferativos.
- 30 Es un objeto de la presente descripción dar a conocer un programa terapéutico para tratar el cáncer u otro trastorno proliferativo, que incluye la administración de un compuesto citoprotector antes de la administración de un agente quimioterapéutico, en donde el compuesto citoprotector induce un estado quiescente reversible en tejidos no tumorales.
- 35 Es un objeto de la presente descripción dar a conocer un método para aumentar de modo seguro la dosis de los inhibidores del ciclo celular de la fase mitótica y de los inhibidores de topoisomerasa, que se usan para el tratamiento del cáncer y otros trastornos proliferativos.

La parte de la presente descripción que forma la invención se define en las reivindicaciones.

I. Compuestos de acuerdo con la Fórmula I

Se describen en este documento compuestos de acuerdo con la Fórmula I:



40 en donde,

A es -S- u -O-;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en -C(=O)R^w; -S(=O)R^w; -SO₂R^w y -P(=O)(OR^v)₂;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H e hidrocarbilo -(C₁-C₇), preferiblemente bencilo y -alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente bencilo y -alquilo (C₁-C₃), lo más preferiblemente -CH₃ o -C₂H₅;

5 R^w se selecciona del grupo que consiste en -hidrocarbilo (C₁-C₇), preferiblemente -alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente -alquilo (C₁-C₃), lo más preferiblemente -CH₃ o -C₂H₅; -NR^v₂; -OR^v; halo-(alquilo C₁-C₃), preferiblemente cloro(alquilo C₁-C₃) y trifluoro(alquilo C₁-C₃); -NR^vCR^aR^a-C(=O)-Rⁿ; -CR^vR^a-N(R^v)-R^c; arilo sustituido o no sustituido, preferiblemente fenilo sustituido o no sustituido; aril(alquilo C₁-C₃) sustituido o no sustituido, preferiblemente fenil(alquilo C₁-C₃) sustituido o no sustituido; heteroarilo sustituido o no sustituido, preferiblemente heteroarilo monocíclico sustituido o no sustituido; heteroaril(alquilo C₁-C₃) sustituido o no sustituido, preferiblemente heteroaril(alquilo C₁-C₃) monocíclico sustituido y no sustituido; heterociclilo sustituido o no sustituido; heterocicli-

10 -alquilo (C₁-C₃) sustituido o no sustituido; -(alquilenos C₁-C₃)P(=O)(OR^v)₂; -perfluoroalquilenos (C₁-C₃)-N(CH₃)₂; -alquilenos (C₁-C₃)-N(alquilo (C₁-C₃))₂; -alquilenos (C₁-C₃)-N⁺(CH₂CH₂OH)₃; -(alquilenos C₁-C₄)-C(=O)-halógeno; -perfluoroalquilenos (C₁-C₄)-CO₂R^v; -(alquilenos C₁-C₃)C(=O)OR^v; y - (alquilenos C₁-C₃)OC(=O)-(alquilenos C₁-C₃)C(=O)R^v;

R^y se selecciona del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂ y -alquilo (C₁-C₆);

15 cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H; -alquilo (C₁-C₆); -heteroalquilo (C₁-C₆), particularmente -CH₂SH, -(CH₂)₂C(=O)-NH₂, -CH₂-OH, -CH(OH)-CH₃, -(CH₂)₄-NH₂ y -(CH₂)₂-S-CH₃; -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)(=NH); -CH₂C(=O)NH₂; -CH₂COOH; -(CH₂)₂COOH; arilo sustituido o no sustituido, preferiblemente fenilo sustituido o no sustituido; aril-alquilo (C₁-C₃) sustituido o no sustituido, preferiblemente fenil-alquilo (C₁-C₃) sustituido y no sustituido, más preferiblemente bencilo sustituido y no sustituido, particularmente 4-hidroxibencilo; heterociclilo sustituido y no sustituido, preferiblemente heteroarilo sustituido y no sustituido, más preferiblemente heteroarilo monocíclico sustituido y no sustituido; y heterocicli-

20 -alquilo (C₁-C₃) sustituido o no sustituido, particularmente -CH₂-(3-indolilo), más preferiblemente heteroaril-alquilo (C₁-C₃) monocíclico sustituido o no sustituido, lo más preferiblemente heteroaril-CH₂- monocíclico sustituido o no sustituido, particularmente -CH₂-imidazolilo;

25 cada Rⁿ se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -CO₂R^v y -C(=O)NR^v₂;

30 cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H y un residuo peptídico unido en forma terminal a carboxi que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo amino terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -NH₂; -NHC(=O)-alquilo (C₁-C₆); -NH-alquilo (C₁-C₆); y -NHC(=O)O(C₁-C₇)hidrocarbilo, preferiblemente -NHC(=O)O-alquilo (C₁-C₆) y -NHC(=O)O-bencilo;

Q es arilo o heteroarilo;

35 cada R² y R³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno; -hidrocarbilo (C₁-C₇), preferiblemente -alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente -alquilo (C₁-C₃), lo más preferiblemente -CH₃ y -C₂H₅; -C(=O)R^v; -NR^v₂; -NHC(=O)R^v; -NHSO₂R^v; -NHR^a; -NHCR^aR^a-C(=O)Rⁿ; -NHSO₂R^v; -C(=O)OR^v; -C(=O)NHR^v; -NO₂; -CN; -OR^v; -P(=O)(OR^v)₂; -C(=NH)NH₂, dimetilamino(alcoxi C₂-C₆); -NHC(=NR^v)NHR^v; -haloalquilo (C₁-C₆), preferiblemente trifluoro-alquilo (C₁-C₆) y difluoro-alquilo (C₁-C₆), más preferiblemente trifluoro-alquilo (C₁-C₃) y difluoro-alquilo (C₁-C₃), lo más preferiblemente -CF₃ y -CHF₂; y haloalcoxi -(C₁-C₆), preferiblemente trifluoro-alcoxi (C₁-C₆) y difluoro-alcoxi (C₁-C₆), más preferiblemente trifluoro-alcoxi (C₁-C₃) y difluoro-alcoxi (C₁-C₃), lo más preferiblemente -OCF₃ y -OCHF₂;

40 los dos grupos R^v en -P(=O)(OR^v)₂ y -NR^v₂ pueden opcionalmente formar juntos un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, preferiblemente un anillo de cinco miembros, que puede además condensarse opcionalmente a un anillo arilo o carbocíclico, preferiblemente un anillo arilo, más preferiblemente un anillo fenilo;

a es 0, 1, 2 o 3;

b es 0, 1, 2 o 3;

45 en donde la suma de a y b es preferiblemente por lo menos 1;

la configuración de los sustituyentes en el doble enlace carbono-carbono exocíclico es o bien E- o Z-;

X es -C^{*}H(R^x)Y-;

Y es -S(=O)- o -SO₂-;

50 R^x se selecciona del grupo que consiste en -H; -alquilo (C₁-C₆), preferiblemente -alquilo (C₁-C₃), más preferiblemente metilo y etilo; y -C(=O)-alquilo (C₁-C₆), preferiblemente -C(=O)alquilo (C₁-C₃), más preferiblemente acetilo y propionilo; y

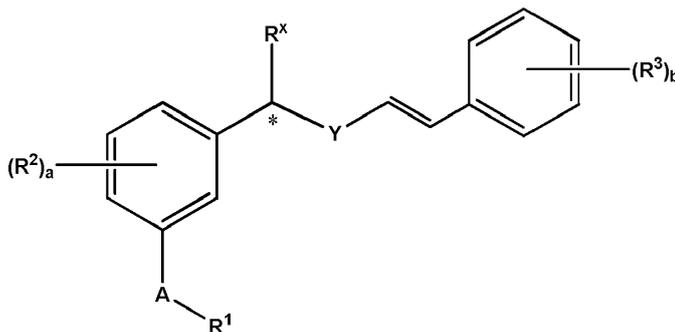
* indica que, cuando R^x es distinto de -H, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es (*R*)-, (*S*)- o cualquier mezcla de (*R*)- y (*S*)-; o una sal de dicho compuesto, preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto;

siempre que:

5 cuando A es -O-:

R^w es distinto de -hidrocarbilo (C_1 - C_7).

Según un primer aspecto de la invención, se da a conocer un compuesto de acuerdo con la fórmula:



en donde:

10 A es -S- u -O-;

R^1 es -P(=O)(OR^v)₂;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en H e -hidrocarbilo (C_1 - C_7);

15 cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -alquilo (C_1 - C_6), -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)(=NH), -CH₂C(=O)NH₂, -CH₂COOH, -(CH₂)₂COOH, arilo sustituido y no sustituido, aril-alquilo (C_1 - C_3) en donde el grupo arilo es heterociclilo opcionalmente sustituido, sustituido y no sustituido, y heterociclil-alquilo (C_1 - C_3) sustituido y no sustituido;

cada R^n se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -CO₂R^v y -C(=O)NR^v₂;

20 cada R^2 y R^3 se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C_1 - C_7), -C(=O)R^v, -NR^v₂, -NHC(=O)R^v, -NHSO₂R^v, -NHR^a, -NHCR^vR^aC(=O)Rⁿ, -NHSO₂R^v, -C(=O)OR^v, -C(=O)NHR^v, -NO₂, -CN, -OR^v, -P(=O)(OR^v)₂, -C(=NH)NH₂, dimetilamino-alcoxi (C_2 - C_6), -NHC(=NR^v)NHR^v, -haloalquilo (C_1 - C_6) y -haloalcoxi (C_1 - C_6);

25 los dos grupos R^v en -P(=O)(OR^v)₂ y -NR^v₂ pueden opcionalmente formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, que puede además opcionalmente estar condensado a un anillo arilo o carbocíclico;

a es 0, 1, 2 o 3;

b es 0, 1, 2 o 3;

Y es -S(=O)- o -SO₂-;

R^x se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo (C_1 - C_6) y -C(=O)-alquilo (C_1 - C_6); y

30 * indica que, cuando R^x es distinto de -H, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es (*R*)-, (*S*)- o cualquier mezcla de (*R*)- y (*S*)-, o una sal de dicho compuesto;

en donde el término alquilo por sí mismo o como parte de otro radical significa un radical hidrocarbonado saturado e incluye grupos de cadena lineal, ramificada y cíclicos;

35 el término alcoxi, solo o en combinación con otro término, significa un grupo alquilo conectado al resto de la molécula a la que está unido mediante un átomo de oxígeno.

Preferiblemente, los anillos de arilo sustituidos en los grupos R^a son mono-, di-, o tri-sustituidos, más preferiblemente mono- o di-sustituidos con sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno; hidrocarbilo (C_1 - C_7), preferiblemente bencilo y alquilo (C_1 - C_6), más preferiblemente bencilo y alquilo (C_1 - C_3), lo más preferiblemente

bencilo, metilo y etilo; $-NR^v_2$; $-NO_2$; $-CN$; heterociclilo, preferiblemente N-metilpiperazinilo, morfolinilo y tiomorfolinilo; $-OR^v$ y $-O$ -hidrocarbilo (C_1-C_7), preferiblemente $-O$ -alquilo (C_1-C_6) y $-O$ -bencilo, más preferiblemente $-O$ -alquilo (C_1-C_3), lo más preferiblemente bencilo, metoxi y etoxi.

5 Más preferiblemente, los anillos de arilo sustituidos en los grupos R^a son mono-, di-, o tri-sustituidos, más preferiblemente mono- o di-sustituidos con sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cloro; fluoro; bromo; $-alquilo$ (C_1-C_6), preferiblemente $-alquilo$ (C_1-C_3), más preferiblemente metilo y etilo; $-NH_2$; $-NO_2$; $-CN$; heterociclilo, preferiblemente N-metilpiperazinilo, morfolinilo y tiomorfolinilo; $-OH$; y $-O$ -alquilo (C_1-C_6), preferiblemente $-O$ -alquilo (C_1-C_3), más preferiblemente metoxi y etoxi.

10 De acuerdo con algunas realizaciones de la invención, la suma de a y b es por lo menos 2. De acuerdo con otras realizaciones de la invención, la suma de a y b es por lo menos 3. De acuerdo incluso con otras realizaciones de la invención, la suma de a y b es por lo menos 4. De acuerdo con algunas realizaciones de la invención, tanto a como b es por lo menos 1. De acuerdo con otras realizaciones de la invención, a es por lo menos 1 y b es por lo menos 2. De acuerdo con otras realizaciones de la invención, b es por lo menos 1 y a es por lo menos 2. De acuerdo incluso con otras realizaciones de la invención, tanto a como b es por lo menos 2.

15 Para los compuestos de Fórmula I:

cuando b es 1, la sustitución de los grupos R^3 en Q puede ser, por ejemplo, en la posición *orto*- o *para*-;

cuando b es 2, la sustitución de los grupos R^3 en Q puede ser, por ejemplo, o bien en las posiciones *orto*- y *para*-, o en ambas posiciones *orto*-; y

20 cuando b es 3, la sustitución de los grupos R^3 en Q puede ser, por ejemplo, en la posición *para*- y en ambas posiciones *orto*-.

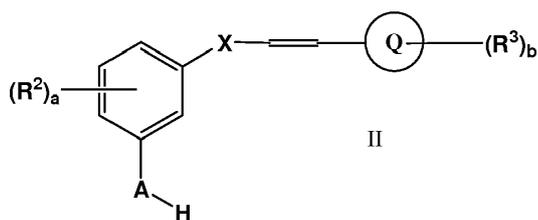
Para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I, Q puede ser, por ejemplo, arilo; b puede ser, por ejemplo, 1, 2 o 3; y cada R^2 puede ser, por ejemplo, $-OR^v$ o halógeno, en donde múltiples grupos $-OR^v$ o halógenos pueden ser iguales o diferentes.

25 Por ejemplo, para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I, Q puede ser, por ejemplo, fenilo; b puede ser, por ejemplo, 2 o 3; y cada R^2 puede ser, por ejemplo, $-OR^v$, en donde múltiples grupos $-OR^v$ pueden ser iguales o diferentes. Por ejemplo, cada R^2 puede ser $-OCH_3$.

30 También se describen en este documento opciones para la Fórmula I, descritas a continuación en las Fórmulas II y III. También se ha de entender que las opciones definidas anteriormente para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I son también opciones de los compuestos de acuerdo con las Fórmulas II y III, como se describe a continuación.

II. Compuestos de acuerdo con la Fórmula II

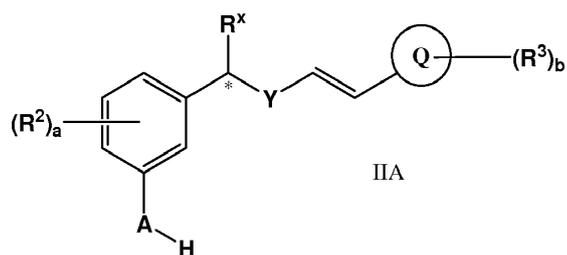
También se describen en este documento compuestos de acuerdo con la Fórmula II:



35 en donde R^2 , R^3 , A, a, b, X y Q son como se definieron anteriormente para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I; o su sal.

A. Compuestos de acuerdo con la Fórmula IIA

De acuerdo con un subconjunto de los compuestos de acuerdo con la Fórmula II, se describen compuestos de acuerdo con la Fórmula IIA:



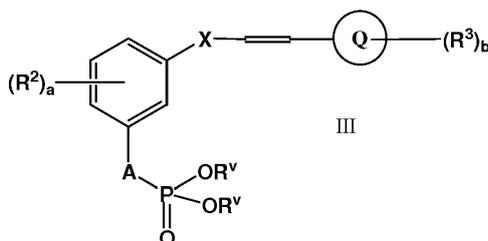
en donde R^2 , R^3 , R^x , a, b, A, Y, Q y * son como se definieron anteriormente en este documento para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I, y el doble enlace exocíclico carbono-carbono está en la configuración (E)-.

De acuerdo con algunas realizaciones de los compuestos de acuerdo con la Fórmula IIA, R^x es -H.

- 5 Los compuestos según la Fórmula IIA pueden incluir, por ejemplo: (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenol; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxibencenotiol; (E)-5-((2,4,6-tri-metoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenol; (E)-5-((2,4,6-trimetoxi-estirilsulfonyl)metil)-2-metoxibencenotiol; y sus sales.

II. Compuestos de acuerdo con la Fórmula III

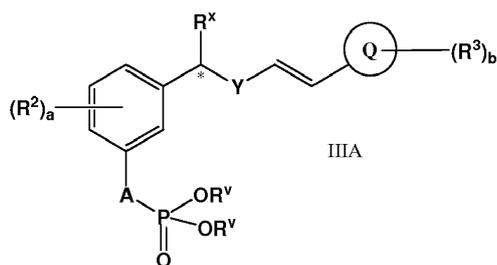
- 10 De acuerdo con otra realización de los compuestos de acuerdo con la Fórmula I, se dan a conocer compuestos de acuerdo con la Fórmula III:



en donde R^2 , R^3 , R^v , A, a, b, X y Q son como se definieron anteriormente para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I; o su sal.

A. Compuestos de acuerdo con la Fórmula IIIA

- 15 De acuerdo con una realización de los compuestos de acuerdo con la Fórmula III, se dan a conocer compuestos de acuerdo con la Fórmula IIIA:



en donde R^2 , R^3 , R^v , R^x , a, b, A, Y, Q y * son como se definieron anteriormente en este documento para los compuestos de acuerdo con la Fórmula I, y el doble enlace exocíclico carbono-carbono está en la configuración (E)-.

- 20 De acuerdo con un subconjunto de los compuestos de acuerdo con la Fórmula IIIA, R^x es -H.

- Los compuestos según la Fórmula IIA incluyen, por ejemplo: (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dimetil fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dietil fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dibencil fosfato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonyl)metil)-2-metoxifenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonyl)metil)-2-metoxifenil-O,O-dimetil fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonyl)metil)-2-metoxifenil-O,O-dietil fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonyl)metil)-2-metoxifenil-O,O-dibencil fosforotioato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dimetil fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dietil fosfato; (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil dibencil fosfato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonyl)metil)-2-metoxifenil-
- 25
- 30

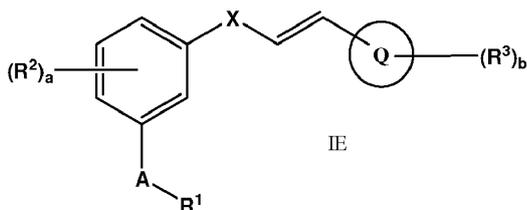
O,O-dimetil fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxi-estirilsulfinil)metil)-2-metoxifenil-O,O-dietil fosforotioato; (E)-S-5-((2,4,6-trimetoxi-estiril-sulfinil)metil)-2-metoxifenil-O,O-dibencil fosforotioato; y sus sales.

III. Nuevos intermedios sintéticos

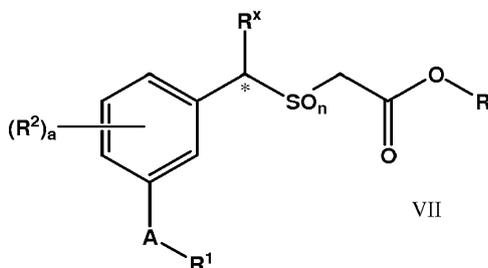
La invención también se refiere a intermedios útiles en la preparación de ciertos compuestos de la invención.

5 A. Intermedios en la preparación de los compuestos de Fórmula IE en donde X es -C*R^XY-

De acuerdo con algunas realizaciones de la invención, se dan a conocer intermedios sintéticos útiles en la preparación de compuestos de Fórmula IE:



Los compuestos intermedios sintéticos tienen la Fórmula VII:



10

y son como se definen en la reivindicación 8, o una sal de dicho compuesto.

De acuerdo con una realización de los compuestos de Fórmula VII, A es -O-. De acuerdo con otra realización de los compuestos de Fórmula VII, R^X es H.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula VII, en donde n es 1, incluyen, por ejemplo:

15 O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinil-metil)fenil dihidrógeno fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetil-sulfinilmetil)fenil dimetil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dietil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dibencil fosfato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dimetil fosforo-tioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dietil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dibencil fosforotioato; y sus sales.

20 Los compuestos de acuerdo con la Fórmula VII, en donde n es 2, incluyen, por ejemplo:

25 O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonil-metil)fenil dihidrógeno fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetil-sulfonilmetil)fenil dimetil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil dietil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil dibencil fosfato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil-O,O-dimetil fósforo-tioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil-O,O-dietil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfonilmetil)fenil-O,O-dibencil fosforotioato; y sus sales.

Los compuestos de Fórmula VII, en donde n es 1 o 2, y R es -alquilo (C₁-C₆) incluyen, por ejemplo, metil y etil ésteres de los compuestos ilustrativos de Fórmula VII mencionados anteriormente.

30 Los compuestos de Fórmula VII, en donde R es -H, se pueden preparar, por ejemplo: (1) sometiendo a reacción el compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde R es -alquilo (C₁-C₆), bajo condiciones capaces de hidrolizar un éster de ácido carboxílico al correspondiente ácido carboxílico, preferiblemente en una base acuosa tal como, por ejemplo, hidróxido de litio acuoso, hidróxido de sodio acuoso o hidróxido de potasio acuoso; y (2) aislando un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde R es -H, de la mezcla de reacción.

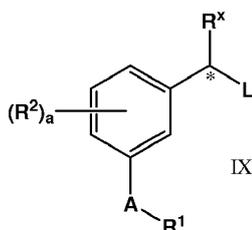
35 Los compuestos de la Fórmula VII, en donde n es 1 y A es -O-, se pueden preparar, por ejemplo: (1) sometiendo a reacción un intermedio de Fórmula VII, en donde n es 0 y A es -O-, o su sal, con un agente oxidante capaz de oxidar un sulfuro a un sulfóxido; y (2) aislando un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde n es 1, de los productos de reacción.

Los compuestos de Fórmula VII, en donde n es 2 y A es -O- se pueden preparar, por ejemplo, sometiendo a reacción (1) o bien (a) un intermedio de Fórmula VII, en donde n es 0 y A es -O-, con un agente oxidante capaz de oxidar un sulfuro a una sulfona; o (b) un intermedio de Fórmula VII, en donde n es 1 y A es -O-, con un agente oxidante capaz de oxidar un sulfóxido a una sulfona; y (2) aislando un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde n es 2, de los productos de reacción.

5

Los compuestos de Fórmula VII, en donde n es 1 o 2 y A es -S- u -O-, o sus sales, se pueden preparar, por ejemplo

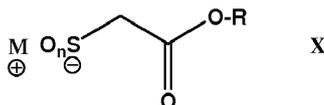
(a) sometiendo a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula IX:



en donde:

10 R¹, R², R^x, A, a y * son como se definieron para los compuestos de Fórmula VII, siempre que R¹ sea distinto de -H; y L es un grupo saliente, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en halógeno, tosilo, nosilo, trifilo y mesilo;

con un compuesto de acuerdo con la Fórmula X:



15 en donde:

R es -alquilo (C₁-C₆), preferiblemente metilo o etilo; n es 1 o 2; y M⁺ es un contraión, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en metales alcalinos, preferiblemente litio, sodio y potasio; sales de metales alcalino-térreos, preferiblemente calcio y magnesio; y metales de transición, preferiblemente zinc, hierro, níquel, cobre, titanio, manganeso, cadmio y estaño.

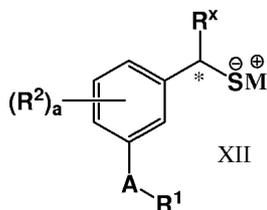
20 (b) aislando un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde, n es 1 o 2, y R es -alquilo (C₁-C₆), de los productos de reacción;

(c) sometiendo a reacción el compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, aislado en la etapa (b). bajo condiciones capaces de hidrolizar un éster de ácido carboxílico al correspondiente ácido carboxílico, preferiblemente en una base acuosa tal como, por ejemplo, hidróxido de litio acuoso, hidróxido de sodio acuoso o hidróxido de potasio acuoso; y

25

y (d) aislando un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII, en donde n es 1 o 2, de la mezcla de reacción.

También se describen en este documento compuestos intermedios sintéticos que tienen la Fórmula XII:



en donde:

30 R¹, R², R^x, A, a y * son como se definen en este documento para los compuestos de Fórmula IX; y M⁺ es un contraión, preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en metales alcalinos, más preferiblemente litio, sodio y potasio; sales de metales alcalino-térreos, más preferiblemente calcio y magnesio; y metales de transición, más preferiblemente zinc, hierro, níquel, cobre, titanio, manganeso, cadmio y estaño.

De acuerdo con un subconjunto de compuestos de Fórmula XIIA, R^x es -H.

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula XII incluyen, por ejemplo sales de metal alcalino y metal alcalino térreo de: (2-metoxi-5-mercaptometilfenoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano; (3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-4-metoxifenil)-metanotiol; (3-((*tert*-butildimetilsilil)sulfanil)-4-metoxifenil)metano-tiol; 2-metoxi-5-(mercaptometil)fenil dimetil fosfato; 2-metoxi-5-(mercaptometil)fenil dietil fosfato; 2-metoxi-5-(mercapto-metil)fenil dibencil fosfato; 2-metoxi-5-(mercaptometil)-fenil dihidrógeno fosfato; 5-(mercaptometil)-2-metoxifenil dietil fosfato; 5-(mercaptometil)-2-metoxifenil dibencil fosfato; S-5-(mercaptometil)-2-metoxifenil-O,O-dimetil fosforotioato; S-5-(mercaptometil)-2-metoxifenil-O,O-dietil fosforotioato; S-5-(mercaptometil)-2-metoxifenil-O,O-dibencil fosforo-tioato; y S-5-(mercaptometil)-2-metoxifenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato.

IV. Procedimientos para preparar los compuestos de Fórmula I

10 Según otro aspecto de la invención, se dan a conocer procedimientos para preparar compuestos según la invención.

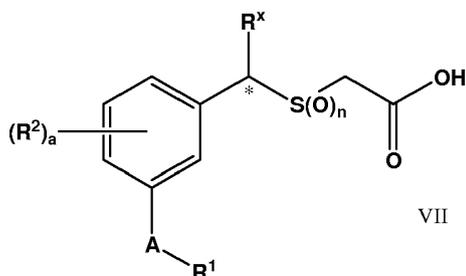
En un aspecto de la invención, se da a conocer el procedimiento según la reivindicación 11.

En otro aspecto de la invención, se da a conocer el procedimiento según la reivindicación 12.

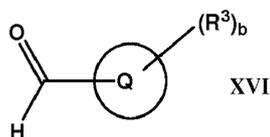
A. Preparación de compuestos de Fórmula IE, en donde X es -CH^{*}R^x-Y-En un aspecto de la invención, se da a conocer un procedimiento según la reivindicación 10.

15 Por lo tanto, de acuerdo con una realización, un compuesto según la reivindicación 1 o su sal se puede preparar:

(a) sometiendo a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII:



o su sal, en donde n es 1 o 2 y R, A, R¹, R^v, R^a, Rⁿ, R², a y R^x son como se definen en la reivindicación 10, con un compuesto de acuerdo con la Fórmula XVI:



20 en donde Q es fenilo y R³ y b son como se definen la reivindicación 10; y

(b) aislando un compuesto según la reivindicación 1, o su sal, de los productos de reacción.

V. Conjugados de los compuestos de la invención

25 De acuerdo con otra realización de la invención, se da a conocer un conjugado de la Fórmula I-L-Ab, en donde I es un compuesto de la invención; Ab es un anticuerpo; y -L- es un enlace sencillo o un grupo enlazador que enlaza covalentemente dicho compuesto a dicho anticuerpo.

En una sub-realización preferida de los conjugados anteriormente mencionados, el anticuerpo (Ab) es un anticuerpo monoclonal o un anticuerpo policlonal mono-específico.

30 En sub-realizaciones más preferidas de los conjugados anteriormente mencionados, el anticuerpo (Ab) es un anticuerpo específico de tumores.

VI. Composiciones farmacéuticas

De acuerdo con otra realización de la invención, se dan a conocer las composiciones farmacéuticas definidas en la reivindicación 14.

35 También se dan a conocer composiciones farmacéuticas que comprenden un vehículo farmacéuticamente aceptable y por lo menos un conjugado de acuerdo con la reivindicación 13.

VII. Métodos de tratamiento

- 5 Se describe en este documento un método para tratar a un individuo por un trastorno proliferativo, particularmente cáncer, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o por lo menos un conjugado de la Fórmula I-L-Ab, solo o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- Se describe además un método para inducir la apoptosis de las células tumorales en un individuo que padece cáncer, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula II o por lo menos un conjugado de la Fórmula I-L-Ab, o bien solo o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 Se describe además un método para inhibir el crecimiento de las células tumorales en un individuo que padece cáncer, que comprende administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula II o por lo menos un conjugado de la Fórmula I-L-Ab, o bien solo o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 Se describe además un método para reducir o eliminar los efectos de ionizar la radiación en células normales en un individuo que ha incurrido o conlleva riesgo de incurrir en exposición a radiación ionizante. Este método comprende administrar al individuo o bien antes o después de la exposición a la radiación ionizante, por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, solo o combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 También se describe un método para aumentar de modo seguro la dosis de radiación ionizante terapéutica utilizada en el tratamiento de cáncer u otro trastorno proliferativo, que comprende administrar una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radiactivo de acuerdo con la Fórmula I, solo o combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Sin desear estar influenciados por la teoría, se cree que el compuesto radiactivo induce un fenotipo radiorresistente temporal en el tejido normal del individuo.
- 25 También se describe un método para tratar a un individuo que ha incurrido, o conlleva riesgo de incurrir, en daño por radiación remediable provocado por la exposición a radiación ionizante. Este método comprende administrar una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector de acuerdo con la Fórmula I, solo o combinado con un vehículo farmacéuticamente aceptable, o bien antes o después de que el individuo incurra en daño por radiación remediable por exposición a radiación ionizante.
- También se describe un método para tratar a un individuo por un trastorno proliferativo, particularmente cáncer, que comprende:
- 30 (1) administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector de acuerdo con la Fórmula I, o por lo menos un conjugado de Fórmula I-L-Ab; y
- (2) administrar una cantidad eficaz de radiación ionizante terapéutica.
- También se describe un método para reducir el número de células malignas en la médula ósea de un individuo, que comprende:
- 35 (1) extraer una porción de la médula ósea del individuo;
- (2) administrar una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector de acuerdo con la Fórmula I, a la médula ósea extirpada; e
- (3) irradiar la médula ósea extirpada con una cantidad eficaz de radiación ionizante.
- 40 De acuerdo con un subconjunto, se describe el método anterior de reducir el número de células malignas en la médula ósea de un individuo, que además comprende reemplazar la médula ósea extirpada con la médula ósea irradiada.
- También se describe un método para proteger a un individuo contra los efectos colaterales citotóxicos de la administración de un agente citotóxico, particularmente un inhibidor del ciclo de la fase celular mitótica o un inhibidor de topoisomerasa, que comprende administrar al individuo, antes de la administración del agente citotóxico, una
- 45 cantidad eficaz de por lo menos un compuesto citoprotector de acuerdo con la Fórmula I; en donde el inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica o el inhibidor de topoisomerasa no es un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.
- También se describe el método anterior en el que el agente citotóxico es un inhibidor de topoisomerasa.
- 50 Los inhibidores de topoisomerasa pueden ser inhibidores de topoisomerasa I, topoisomerasa II o ambos. Los inhibidores de topoisomerasa I incluyen, aunque sin limitarse a ello, adriamicina y etopósido. Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, aunque sin limitarse a ello, camptotecina, irinotecán, topotecán y mitoxantrona.

También se describe un método para tratar a un individuo por un trastorno proliferativo, particularmente cáncer, que comprende:

(1) administrar al individuo una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto citoprotector de acuerdo con la Fórmula I, o por lo menos un conjugado de Fórmula I-L-Ab; y

- 5 (2) administrar una cantidad eficaz de por lo menos un inhibidor de la fase celular mitótica o un inhibidor de topoisomerasa después de la administración de por lo menos un compuesto citoprotector de acuerdo con la Fórmula I, o por lo menos un conjugado de Fórmula I-L-Ab.

De acuerdo con otras realizaciones de la presente descripción, se da a conocer el uso de por lo menos un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o por lo menos un conjugado de acuerdo con la Fórmula I-L-Ab, o bien solo o como parte de una composición farmacéutica, para la preparación de un medicamento para:

- 10 (a) tratar un trastorno proliferativo en un individuo que padece un trastorno proliferativo;
- (b) inhibir el crecimiento de células tumorales en un individuo que padece cáncer;
- (b) inducir la apoptosis de células tumorales en un individuo que padece cáncer;
- 15 (d) tratar a un individuo que ha incurrido, o conlleva riesgo de incurrir, en daño por radiación remediable debido a la exposición a radiación ionizante;
- (e) reducir o eliminar los efectos de ionizar la radiación en células normales en un individuo que ha incurrido o conlleva riesgo de incurrir en exposición a radiación ionizante.
- (f) aumentar de modo seguro la dosis de radiación ionizante terapéutica utilizada en el tratamiento del cáncer u otro trastorno proliferativo; o
- 20 (g) proteger a un individuo contra los efectos colaterales citotóxicos de la administración de un agente citotóxico.

También se da a conocer un compuesto de la invención para uso en medicina, según la reivindicación 15.

Breve descripción de la Figura

La Fig. 1 muestra la curva de dosis y respuesta para el compuesto (E)-5-((2,4,6-trimetoxiestirillsulfonil)metil)-2-metoxifenol (Ejemplo 1) en seis líneas de células de cáncer distintas.

25 Descripción detallada de la invención

I. Tratamiento de trastornos proliferativos

De acuerdo con la presente invención, se cree que los compuestos de la invención y sus sales y conjugados de acuerdo con la Fórmula I-L-Ab inhiben selectivamente la proliferación de células cancerosas, y destruyen diversos tipos de células tumorales (o destruyen menos) las células normales. Se cree que las células se destruyen a concentraciones en las que se puede detener el crecimiento temporal en las células normales pero sin exterminarlas

A. Tratamiento del cáncer

Los compuestos de la invención se pueden administrar a individuos (mamíferos, incluidos animales y seres humanos) afectados con cáncer.

35 Se cree que los compuestos y conjugados de la invención inhiben la proliferación de células tumorales y, para algunos compuestos o conjugados, inducen la muerte celular. Se cree que la muerte celular resulta de la inducción de la apoptosis. Se cree que los compuestos y conjugados son eficaces contra un amplio intervalo de tipos de tumores, incluidos, aunque sin limitarse a ello, los siguientes: cáncer de ovario; cáncer de cuello uterino; cáncer de mama; cáncer de próstata; cáncer de testículo, cáncer de pulmón, cáncer renal; cáncer colorrectal; cáncer de piel; 40 cáncer de cerebro; leucemia, incluida leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfocítica aguda y leucemia linfocítica crónica.

Más particularmente, los tipos de cáncer que se pueden tratar con los compuestos, conjugados y composiciones de la invención incluyen, aunque sin limitarse a ello, los siguientes:

cáncer cardíaco, incluido por ejemplo sarcoma, p. ej., angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomioma y liposarcoma; mixoma; rhabdomioma; fibroma; lipoma y teratoma;

45 cáncer de pulmón, incluido por ejemplo, carcinoma broncogénico, p. ej., de células escamosas, de células pequeñas no diferenciadas, de células grandes no diferenciadas y adenocarcinoma; carcinoma alveolar y bronquiolar; adenoma bronquial; sarcoma; linfoma; hamartoma condromatoso; y mesotelioma;

5 cáncer gastrointestinal, incluido por ejemplo cáncer de esófago, p. ej., carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomiomasarcoma y linfoma; cáncer de estómago, p. ej., carcinoma, linfoma y leiomiomasarcoma; cáncer de páncreas, p. ej., adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoideos y vipoma; cáncer de intestino delgado, p. ej., adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoideos, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma y fibroma; cáncer de intestino grueso, p. ej., adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma y leiomioma;

10 cáncer de las vías genitourinarias, incluidos por ejemplo, cáncer de riñón, p. ej., adenocarcinoma, tumor de Wilm (nefroblastoma), linfoma y leucemia; cáncer de vejiga y uretra, p. ej., carcinoma de células escamosas, carcinoma de células de transición y adenocarcinoma; cáncer de la próstata, p. ej., adenocarcinoma y sarcoma; cáncer de testículo, p. ej., seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoideos y lipoma;

cáncer de hígado, incluido por ejemplo hepatoma, p. ej., carcinoma hepatocelular; colangiocarcinoma; hepatoblastoma; angiosarcoma; adenoma hepatocelular; y hemangioma;

15 cáncer óseo que incluye, por ejemplo, sarcoma osteogénico (osteosarcoma), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, cordoma de tumores celulares gigantes malignos, osteocronfoma (exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes;

20 cáncer del sistema nervioso que incluye, por ejemplo, cáncer del cráneo, p. ej., osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma y osteítis deformante; cáncer de las meninges, p. ej., meningioma, meningiosarcoma y gliomatosis; cáncer del cerebro, p. ej., astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma (pinealoma), glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma y tumores congénitos; y cáncer de la médula espinal, p. ej., neurofibroma, meningioma, glioma y sarcoma;

25 cáncer ginecológico incluidos, por ejemplo, cáncer de útero, p. ej., carcinoma endometrial; cáncer de cuello uterino, p. ej., carcinoma de cuello uterino y displasia de cuello uterino pre-tumoral; cáncer de ovarios, p. ej., carcinoma de ovario, incluido cistoadenocarcinoma seroso, cistoadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado, tumores de células granulosas y tecales, tumores de células Sertoli-Leydig, disgerminoma y teratoma maligno; cáncer de la vulva, p. ej., carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma y melanoma; cáncer de la vagina, p. ej., carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botriode y rbdomiosarcoma embrionario; y cáncer de las trompas de falopio, p. ej., carcinoma;

30 cáncer hematológico incluidos, por ejemplo, cáncer de la sangre, p. ej., leucemia mieloide aguda, leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple y síndrome mielodisplásico, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (linfoma maligno) y macroglobulinemia de Waldenström;

35 cáncer de piel. incluido por ejemplo melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, nevo displásico, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis; y

cáncer de las glándulas suprarrenales, incluido, por ejemplo, neuroblastoma.

El cáncer puede consistir en tumores sólidos que pueden o no ser metastásicos. El cáncer puede también ocurrir, como en la leucemia, como un tejido difuso. Por lo tanto, el término "célula tumoral", tal como se emplea en la presente memoria, incluye una célula afectada por uno cualquiera de los trastornos previamente identificados.

40 De acuerdo con una realización de la invención, el trastorno proliferativo tratado es hepatoma. De acuerdo con otra realización de la invención, el trastorno proliferativo tratado es cáncer de mama.

B. Tratamiento de trastornos proliferativos no cancerosos

45 También se cree que los compuestos y conjugados de la invención son útiles en el tratamiento de trastornos proliferativos no cancerosos, es decir, trastornos proliferativos que se caracterizan por indicaciones benignas. Dichos trastornos pueden también ser conocidos como "citoproliferativos" o "hiperproliferativos" en el sentido que las células son elaboradas por el cuerpo a una velocidad atípicamente elevada. Los trastornos proliferativos no cancerosos que se cree son tratables con los compuestos y conjugados de la invención incluyen, por ejemplo: hemangiomatosis en recién nacidos, esclerosis múltiple progresiva secundaria, aterosclerosis, enfermedad mielodegenerativa progresiva crónica, neurofibromatosis, ganglioneuromatosis, formación de queloides, enfermedad de Paget del hueso, enfermedad fibroquística de la mama, fibroide uterina, fibrosis de Peyronie y Dupuytren, restenosis, enfermedad de mama proliferativa benigna, hiperplasia prostática benigna, trastorno linfoproliferativo unido en X (enfermedad Duncan), trastorno proliferativo post-trasplante (PTLD), degeneración macular y retinopatías, tales como retinopatías diabéticas y vitreorretinopatía proliferativa (PVR)

55 Otros trastornos proliferativos no cancerosos que se cree son tratables con los compuestos y conjugados de la invención incluyen la presencia de células linfoproliferativas pre-cancerosas asociadas con un riesgo elevado de

progresión a un trastorno canceroso. Muchos trastornos linfoproliferativos no cancerosos se asocian con infecciones víricas latentes tales como virus de Epstein-Barr (EBV) y Hepatitis C. Estos trastornos a menudo comienzan como una patología benigna y progresan a neoplasia linfoidea como una función del tiempo.

5 Se cree que el tratamiento de células tumorales con los compuestos y conjugados de la invención conduce a la inhibición de la proliferación celular y a la inducción de muerte celular apoptótica.

II. Tratamiento radioprotector

Se cree que los compuestos de Fórmula I protegen las células y los tejidos normales de los efectos de la exposición aguda y crónica a la radiación ionizante.

10 Los individuos pueden estar expuestos a la radiación ionizante cuando se someten a irradiación terapéutica para el tratamiento de trastornos proliferativos. Se cree que los compuestos son eficaces en proteger a las células normales durante la irradiación terapéutica de tejidos anormales. También se cree que los compuestos son útiles para proteger a las células normales durante el tratamiento de radiación para leucemia, especialmente en purgar las células malignas de injertos de médula ósea autóloga con radiación ionizante.

15 La radiación ionizante terapéutica se puede administrar a un individuo en cualquier esquema y en cualquier dosis concordante con el curso del tratamiento prescrito, siempre y cuando el compuesto radioprotector de acuerdo con la invención se administre antes de la radiación. El curso del tratamiento difiere de uno individuo a otro, y los expertos en la técnica pueden determinar fácilmente la dosis y el esquema apropiados de radiación terapéutica en una situación clínica determinada.

III. Tratamiento quimioterapéutico

20 Asimismo, se cree que los compuestos de Fórmula I protegen a las células y tejidos normales contra los efectos de la exposición a los inhibidores del ciclo celular de la fase mitótica y a los inhibidores de topoisomerasa.

25 Los inhibidores de la fase celular mitótica incluyen, aunque sin limitarse a ello, vinca alcaloides, p. ej., vincristina y vinblastina, particularmente vincristina; estramustina; taxanos, p. ej., paclitaxel y análogos de paclitaxel, particularmente paclitaxel; macrólidos naturales, p. ej., rizoxina, maitansina, ansamitocin P-3, phomopsin A, dolastatina 10 y halicrondina B; colquicina y derivados de colquicina.

Paclitaxel es un fármaco antimitótico que se ha utilizado como tratamiento inicial para cáncer de ovario, mama y pulmón, con éxito moderado. Vincristina es un fármaco antimitótico bien consolidado ampliamente utilizado para el tratamiento de cáncer de mama, linfoma de Hodgkin y cáncer de la infancia.

30 Los inhibidores de topoisomerasa incluyen compuestos que inhiben la topoisomerasa I, compuestos que inhiben la topoisomerasa II y compuestos que inhiben tanto la topoisomerasa I y II.

Los inhibidores de topoisomerasa I incluyen, por ejemplo, adriamicina, etopósido, β -lapachona (Calbiochem No. 428022), AG-555 (Calbiochem No. 112270), 10-hidroxicamptotecina (Calbiochem No. 390238), AG-1387 (Calbiochem No. 658520), rebeccamicina (Calbiochem No. 553700), nogalamicina (Calbiochem No. 488200) y topotecán (Calbiochem No. 614800).

35 Los inhibidores de topoisomerasa II incluyen, por ejemplo, camptotecina, irinotecán y topotecán, amsacrina (Calbiochem No. 171350), ácido aurintricarboxílico (Calbiochem No. 189400), bruneomicina (Calbiochem No. 571120), elipticina (Calbiochem No. 324688), epirubicina (Calbiochem No. 324905), etopósido (Calbiochem No. 341205), genisteína (Calbiochem No. 345834) y merbarona (Calbiochem No. 445800)..

40 Los inhibidores de topoisomerasa I y II incluyen, por ejemplo, aclarubicina (Calbiochem No. 112270), congocidina (Calbiochem No. 480676), daunomicina (Calbiochem No. 251800), ácido elágico (Calbiochem No. 324683) y suramin (Calbiochem No. 574625).

45 Se cree que los compuestos de la presente invención no solamente protegen a las células normales, sino que además son operativamente citotóxicos en las células tumorales. En las células normales, se cree que los compuestos citoprotectores de la invención inducen un estado de reposo reversible que torna las células normales relativamente resistentes al efecto citotóxico de los inhibidores del ciclo celular de la fase mitótica y de los inhibidores de topoisomerasa.

IV. Compuestos de Fórmula I

A. Sustitución de anillos

50 El patrón de sustitución para hidrógenos de anillos del anillo fenilo y el anillo aromático Q de Fórmula I pueden comprender cualquier patrón de sustitución, siempre y cuando la funcionalidad -A-R¹ esté posicionada en la posición 3 del anillo fenilo, en relación a -X-. Por ejemplo, cuando el anillo Q es fenilo, la tri-sustitución en Q puede comprender la sustitución en las posiciones 2, 3 y 4, en las posiciones 2, 4 y 5, en las posiciones 3, 4 y 5, en las

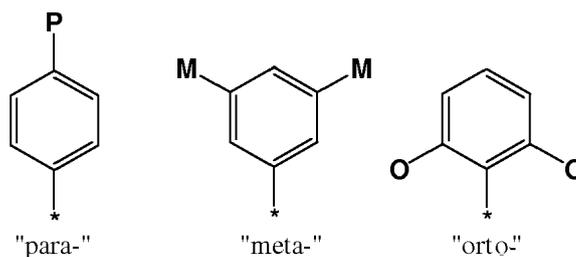
posiciones 2, 5 y 6 o en las posiciones 2, 4 y 6. la disustitución de un fenilo Q puede comprender la sustitución, por ejemplo, en las posiciones 2 y 3, en las posiciones 2 y 4, en las posiciones 2 y 5, en las posiciones 2 y 6, en las posiciones 3 y 4, en las posiciones 3 y 5 o en las posiciones 3 y 6.

5 El patrón de sustitución en un anillo Q del heteroarilo de cinco miembros debe también justificar el número de heteroátomos contenido en el anillo heteroaromático y el punto de sujeción del anillo heteroarilo. La sustitución en un anillo heteroaromático de cinco miembros que contiene un heteroátomo, en donde el anillo heteroarilo unido mediante su posición 2 sirve para ejemplificar la variedad de patrones de sustitución. La sustitución en el anillo Q heteroarilo de cinco miembros anteriormente mencionado puede ser, por ejemplo, en la posición 3, 4 o 5 para la mono-sustitución; y en la posición 3 y 4, las posiciones 3 y 5, o las posiciones 4 y 5 para la di-sustitución.

10 Cuando b es 1 en la Fórmula I, R^3 está preferiblemente ubicado en la posición *orto*- o *para*-. Cuando b es 2, los sustituyentes R^3 están preferiblemente ubicados en las posiciones *orto*- y *para*-, o en ambas posiciones *orto*-. Cuando b es 3, los sustituyentes R^3 están preferiblemente ubicados en la posición *para*- y por lo menos en una posición *orto*-, más preferiblemente en la posición *para*- y en ambas posiciones *orto*-.

15 Cuando a es 1 en la Fórmula I, R^2 está preferiblemente ubicado en *para*- a -X o *para*- a -A- R^1 ; más preferiblemente, *para*- a -X. Cuando a es 2 o 3, los sustituyentes R^2 están preferiblemente ubicados en *para*- a -X o *para*- a -A- R^1 .

20 Los términos de las posiciones de sustitución "*para*-", "*meta*-" y "*orto*-" en un anillo también se representan con un sistema de numeración. No obstante, los sistemas de numeración a menudo no concuerdan entre los distintos sistemas de anillos. En sistemas aromáticos de seis miembros, las disposiciones espaciales se especifican como se describió anteriormente por la nomenclatura común "*para*-" para la sustitución 1,4, "*meta*-" para la sustitución 1,3 y "*orto*-" para la sustitución 1,2 como se muestra a continuación en el Esquema 3.

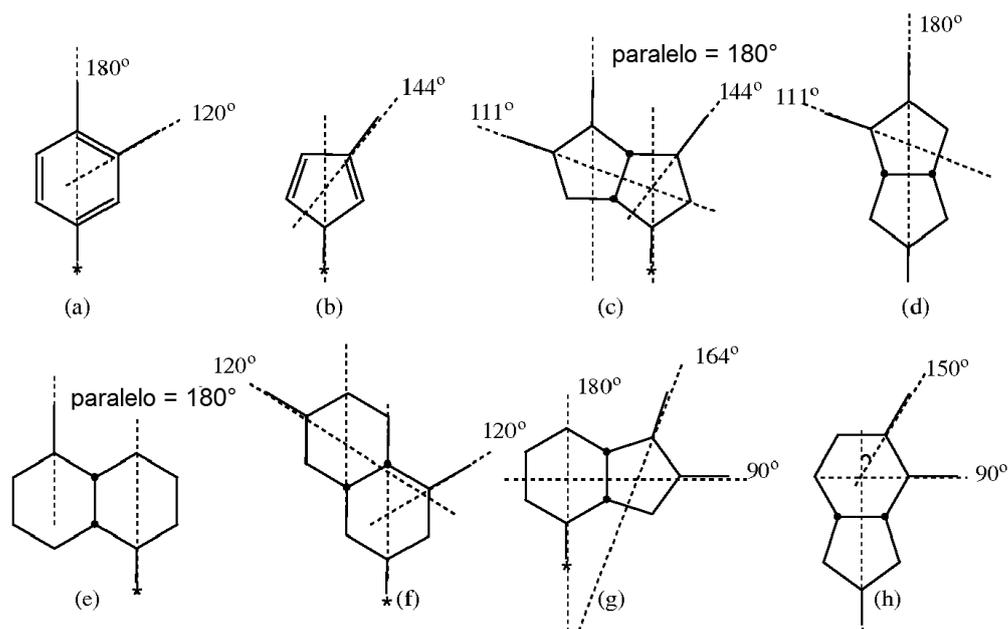


Esquema 3

25 Dado que los anillos aromáticos son esencialmente planos, las designaciones *orto*-, *meta*- y *para*- definen esencialmente las posiciones geométricas en un anillo de seis miembros que se correlacionan geoméricamente a los ángulos planos. Por lo tanto, un sustituyente *orto* forma un ángulo plano de 60° con un sustituyente de referencia al cual se denomina *orto*-. Asimismo, un sustituyente *meta*- define un ángulo plano de 120° y un sustituyente *para*- define un ángulo de 180°.

30 La designación de patrones de sustituyentes como nomenclatura *orto*-, *meta*- y *para* como ángulos de 60, 120 y 180 es descriptiva para monociclos de seis miembros. No hay sustituyente en un anillo aromático de cinco miembros o un anillo bicíclico que forma un ángulo de 60, 120 o 180°. No obstante, la definición de un ángulo plano o un intervalo de ángulos planos entre dos sustituyentes es una convención que fácilmente comunica una sustitución particular que es independiente de la naturaleza del anillo particular implicado. Un sustituyente *para* en un anillo aromático de seis miembros es aproximado en otros anillos mono o bicíclicos planos por cualquier sustituyente que, con el sustituyente de referencia, forma un ángulo plano de aproximadamente 144° a aproximadamente 180°.

35 Asimismo, un sustituyente *meta* en un anillo aromático de seis miembros es aproximado en otros anillos mono o bicíclicos planos por cualquier sustituyente que, con el sustituyente de referencia, forma un ángulo plano de aproximadamente 90° a aproximadamente 144°. Varios ejemplos de patrones de sustituyentes que podrían comunicarse en este modo se representan en el Esquema 4.



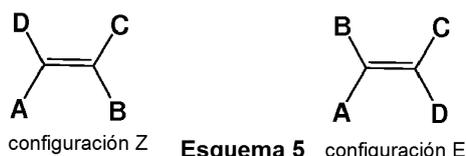
Esquema 4

En algunos casos, no se forma un ángulo verdadero entre un sustituyente y un sustituyente de referencia. Un ejemplo de esto es un sistema de naftaleno sustituido en las posiciones 1 y 5 como se muestra en la estructura (e) anterior. En la estructura (e) no hay intersección geométrica entre las líneas definidas por los enlaces de las posiciones 1 y 5. No obstante, es razonable considerar estos enlaces "paralelos" definiendo un ángulo de 180° y aproximando así la para-disposición de un anillo plano de seis miembros.

Por lo tanto, para las preferencias anteriormente descritas para las posiciones de los sustituyentes R^2 y R^3 , la preferencia de para-sustitución corresponde a sustituyentes que forman un ángulo plano de aproximadamente 144° y aproximadamente 180°, o los enlaces son paralelos como en la estructura (e) del Esquema 4. Asimismo, las preferencias de *meta*-sustitución corresponden a sustituyentes que forman un ángulo plano entre aproximadamente 90° y aproximadamente 144°. Las preferencias de *orto*-sustitución siempre se refieren a un sustituyente en una posición adyacente a la posición utilizada como posición de referencia.

B. Isomería E-Z en los compuestos de Fórmula I

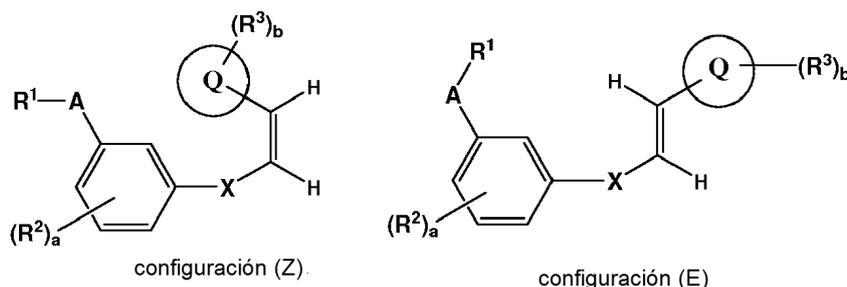
Los compuestos de Fórmula I se caracterizan por isomería resultante de la presencia de un doble enlace carbono-carbono exocíclico. Esta isomería comúnmente se denomina isomería cis-trans, pero la convención de nombres más integral emplea designaciones *E* y *Z*. Los compuestos se denominan de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog, las recomendaciones IUPAC 1974, Sección E: Stereochemistry, en Nomenclature of Organic Chemistry, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, NY, 4ta ed., 1992, pág. 127-138. Usando este sistema de nomenclatura, los cuatro grupos alrededor de un doble enlace se priorizan de acuerdo con una serie de normas. Luego, ese isómero con los dos grupos de categoría superior en el mismo lado del doble enlace se designa *Z* (por la palabra alemana "zusammen", que significa juntos). El otro isómero, en el que los grupos de categoría superior están en laterales opuestos del doble enlace, se designa *E* (por la palabra alemana "entgegen", que significa "opuestos"). Por lo tanto, si los cuatro grupos en un doble enlace carbono-carbono están clasificados, en donde A está en la categoría más baja y D en la más alta, $A > B > C > D$, los isómeros se nombrarían como en el Esquema 5.



Esquema 5

25

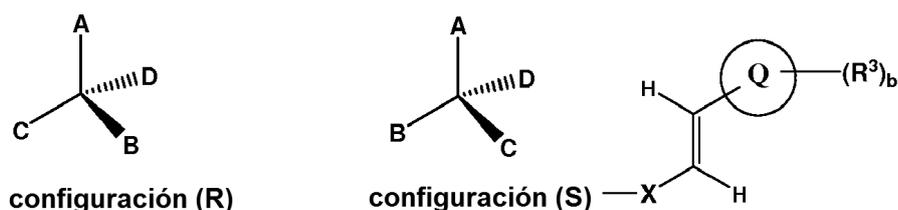
A menos que se indique lo contrario, ambas configuraciones, descritas a continuación en el Esquema 6, y sus mezclas, se incluyen en el alcance de los compuestos de Fórmula I.



Esquema 6

C. Isomería óptica

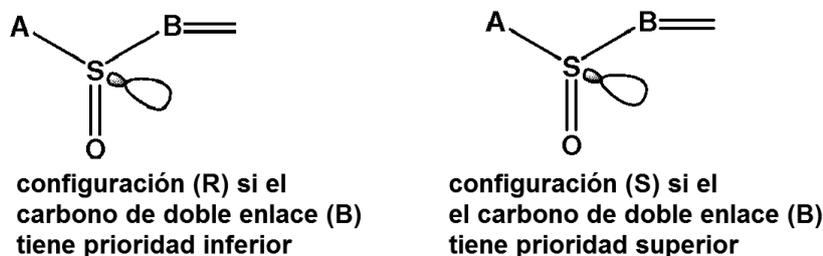
- La presente descripción también describe isómeros ópticos aislados de compuestos de acuerdo con la Fórmula I. Los isómeros que resultan de la presencia de un centro quiral comprenden un par de isómeros no superponibles denominados "enantiómeros." Los enantiómeros individuales de un compuesto puro son ópticamente activos, es decir, son capaces de rotar el plano de la luz polarizada del plano. Los enantiómeros individuales se designan de acuerdo con el sistema *Cahn-Ingold-Prelog*. Véase March, *Advanced Organic Chemistry*, 4ta Ed., (1992), p. 109. Una vez que se determina la categoría de prioridad de los cuatro grupos, la molécula se orienta de modo que el grupo de la menor categoría se orienta fuera del alcance del observador. Luego, si el orden de la categoría descendente de los otros grupos procede en sentido horario, la molécula se designa (R) y si la categoría descendente de los otros grupos procede en sentido antihorario, la molécula se designa (S). En el ejemplo del Esquema 7, la categoría *Cahn-Ingold-Prelog* es $A > B > C > D$. El átomo del menor rango, D se orienta fuera del observador.



Esquema 7

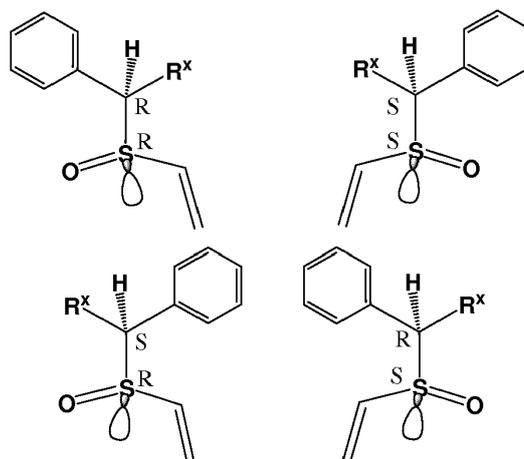
- Los sulfóxidos de Fórmula I (p. ej., los sulfóxidos de las Fórmulas IIB, IIIB, IVB, VB y VIB) tienen por lo menos un centro quiral que es el átomo de azufre del sulfóxido. Además, para los compuestos de Fórmula I, en donde X es $-C^*H(R^x)SO_2-$ o $-C^*H(R^x)SO-$, y R^x es distinto de hidrógeno, el átomo de carbono (C^*) al que R^x está unido es un centro quiral.

- Para el centro quiral de sulfóxidos presente en los compuestos de la presente descripción (Compuestos de Fórmula I, en donde Y es $-S(=O)-$), los átomos de la prioridad inferior (un orbital vacío) y la prioridad superior (el oxígeno de sulfóxido) alrededor del azufre quiral están fijos. Por lo tanto, la configuración absoluta de los compuestos de la presente descripción depende de la categoría de prioridad de los átomos de carbono enlazados al grupo sulfóxido como se muestra en el Esquema 8.



Esquema 8

- Ciertos compuestos de Fórmula I pueden tener más de un centro quiral, p. ej., cuando X es $-C^*H(R^x)SO_2-$ o $-C^*H(R^x)SO-$, y R^x es distinto de $-H$. Si un compuesto tiene más de un centro quiral, la isomería diastereomérica resulta, como se ejemplifica en el Esquema 9, mediante las estructuras truncadas de Fórmula I.



Esquema 9

La presente descripción tiene como fin abarcar diastereómeros además de sus formas racémicas y resueltas, diastereomérica y enantioméricamente puros, y sus sales. Los pares diastereoméricos se pueden resolver por técnicas de separación conocidas que incluyen cromatografía de fase normal e inversa, y cristalización.

5 Los isómeros ópticos aislados se pueden purificar a partir de mezclas racémicas por técnicas de separación quiral conocida. De acuerdo con dicho método, una mezcla racémica de un compuesto que tiene la estructura de Fórmula I, o su intermedio quiral, se separa en 99% en peso.% isómeros ópticos puros por HPLC usando una columna quiral adecuada, tal como un miembro de la serie de la familia de columnas DAICEL CHIRALPAK (Daicel Chemical Industries, Ltd., Tokio, Japón). La columna se opera de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

10 V. Preparación de los compuestos de la invención

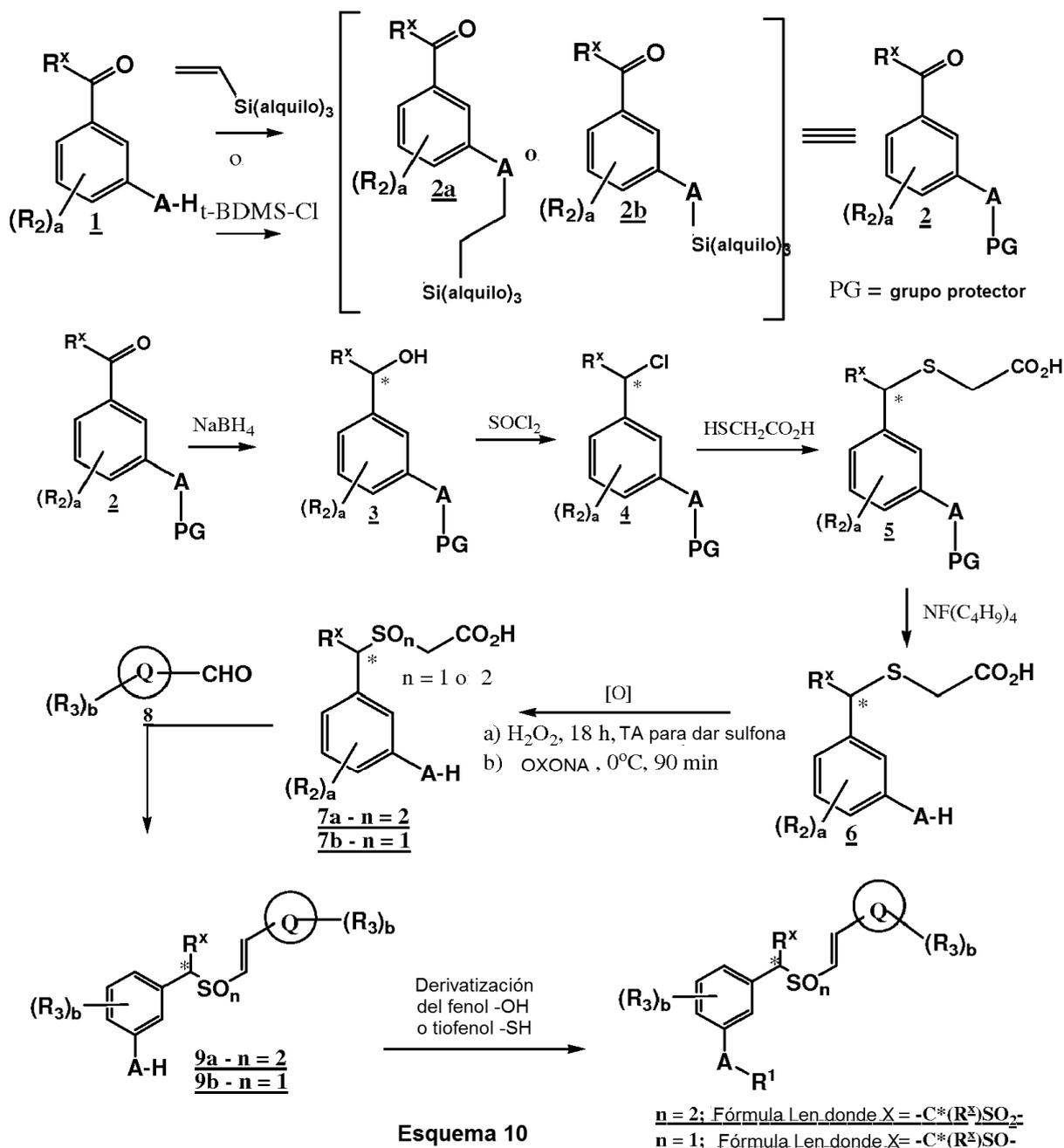
Los compuestos de Fórmula I se pueden preparar por métodos de química orgánica sintética dentro de la capacidad de un químico experto en la técnica. Los compuestos de Fórmula I en donde el doble enlace carbono-carbono exocíclico es (*E*)- preferiblemente se preparan por procedimientos que son selectivos para la preparación de (*E*)-olefinas.

15 A. Preparación de sulfóxidos y sulfonas α,β -insaturadas de Fórmula I

(I)Preparación de los compuestos de Fórmula IE

Una preparación preferida de compuestos (*E*) de Fórmula I en donde X es $-\text{C}^*\text{H}(\text{R}^x)\text{SO}-$ o $-\text{C}^*\text{H}(\text{R}^x)\text{SO}_2-$, es por una condensación Knoevenagel de Q-aldehídos 8 con ácidos fenil- $(\text{CHR}^x)_n$ -sulfinil acéticos 7b sustituidos, o ácidos fenil- $(\text{CHR}^x)_n$ -sulfonilacéticos 7a sustituidos, respectivamente, de acuerdo con el Esquema 10 a continuación, en donde

20 $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^x, \text{A}, \text{Q}, \text{a}, \text{b}, \text{n}$ y * son como se definen en este documento para la Fórmula I.



5 La ruta de síntesis ilustrada en el Esquema 10 sirve para producir compuestos de Fórmulas **9a** y **9b**, que en sí mismos son los compuestos de la Fórmula I. Además, los compuestos de las Fórmulas **9a** y **9b** sirven como intermediarios avanzados que pueden además derivarse para proveer nuevos compuestos adicionales de la Fórmula I mediante derivatización del resto 3-hidroxi o 3-mercapto.

10 De acuerdo con el Esquema 10, un fenol o tiofenol de partida **1**, se deriva primero para proteger el resto fenol o tiofenol. Los compuestos fenol y tiofenol, **1** se someten a reacción con un trialquilsilil haluro, preferiblemente cloruro de *tert*-butildimetilsililo (t-BDMS-Cl), o con un viniltrialquilsilano, preferiblemente vinil *tert*-butildimetilsilano o vinil trimetilsilano, para producir el correspondiente fenol o tiofenol protegido con trialquilsililetilo, **2**.

15 El compuesto protegido, **2**, se trata con un agente reductor capaz de reducir una cetona o aldehído al correspondiente alcohol. Los agentes reductores adecuados incluyen agentes reductores de hidruro, p. ej., $NaBH_4$ y $NaBH_3CN$. Preferiblemente, la reacción se lleva a cabo en un disolvente, p. ej., tetrahidrofurano (THF). La reducción proporciona el derivado de alcohol bencílico, **3**.

El alcohol bencílico, **3**, se somete a reacción con un agente halogenante, p. ej., cloruro de tionilo, para dar a conocer el derivado de bencil haluro, **4**.

De acuerdo con el Esquema 10, el compuesto de ácido bencilmercaptoacético 5 se forma por la reacción de ácido mercaptoacético (o su sal) con 4, en donde R^2 , R^x y son como se define en este documento para la Fórmula I y L es un grupo saliente. Las sales de ácido mercaptoacético adecuado incluyen sales de metal alcalino tales como sales de sodio y potasio. Los grupos salientes adecuados para 4 incluyen, por ejemplo, halógeno, tosilo, nosilo, trifilo o mesilo. La reacción preferiblemente se lleva a cabo en un disolvente apolar, más preferiblemente un alquil alcohol (C_1 - C_4), p. ej., metanol. La reacción preferiblemente se lleva a cabo a temperatura ambiente o superior, más preferiblemente mayor que $50^\circ C$, lo más preferiblemente a temperatura de reflujo del disolvente.

El compuesto de ácido bencilmercaptoacético 5 luego se desprotege para eliminar el grupo protector de tiofenol o fenol, PG, para dar 3-hidroxi o ácido 3-mercapto bencilmercaptoacético, 6. Los reactivos de desprotección adecuados incluyen TBAF y trihidrofluoruro de trietilamina.

El compuesto desprotegido 6, luego se oxida con un agente oxidante adecuado para dar un compuesto de ácido sulfinil acético correspondiente 7b, o un compuesto de ácido sulfonil acético, 7a. Un agente oxidante adecuado es cualquier oxidante capaz de oxidar selectivamente un sulfuro a un sulfóxido (p. ej., 7a), o capaz de oxidar selectivamente un sulfuro a una sulfona (p. ej., 7b). Los ejemplos incluyen ácido 3-cloroperbenzo (MCPBA) (Aldrich 27,303-1) y peroximonosulfato de potasio (Aldrich 22,803-6). La oxidación para formar el sulfóxido, 7b preferiblemente se lleva a cabo a baja temperatura, preferiblemente entre $-40^\circ C$ y $0^\circ C$. La oxidación para formar la sulfona, 7a preferiblemente se lleva a cabo a temperatura ambiente o superior, más preferiblemente entre $30^\circ C$ y $50^\circ C$. La reacción preferiblemente se lleva a cabo en un disolvente adecuado. Los disolventes adecuados son preferiblemente disolventes orgánicos no polares, más preferiblemente disolventes halogenados, p. ej., diclorometano (DCM).

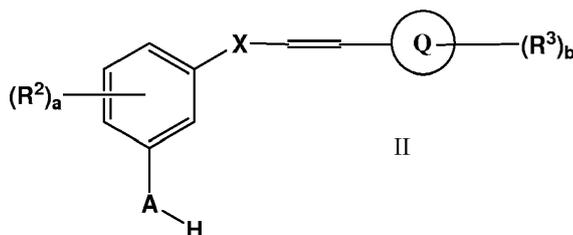
La condensación de sulfóxido 7b o sulfona 7a con los Q-aldehídos 8 mediante una reacción Knoevenagel en presencia de bencilamina y ácido glaciario produce el sulfóxido (*E*)- α,β -insaturado deseado 9b o la sulfona (*E*)- α,β -insaturada, 9a, respectivamente.

Los compuestos 9b o 9a, son compuestos de Fórmula I en los que R^1 es -H. Los compuestos 9b y 9a pueden subsiguientemente derivarse para proveer compuestos adicionales de Fórmula I como se describe en este documento.

B. Preparación de compuestos de Fórmula I por derivación de compuestos tiofenol o fenol de Fórmula II.

Los compuestos de Fórmula II se derivan sometiendo a reacción el resto 3-hidroxi o 3-mercapto de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en donde R^1 es -H, con distintos reactivos para producir distintos compuestos de Fórmula I.

Por lo tanto, de acuerdo con otra realización de la presente descripción, se da a conocer un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. o su sal, por derivación de un resto 3-hidroxi o 3-mercapto de un compuesto tal como, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula II:



que comprende someter a reacción el compuesto de acuerdo con la Fórmula II, o su sal, con un compuesto electrófilo de acuerdo con la Fórmula XXI:



en donde R^1 es como se define en este documento para los compuestos de Fórmula I, siempre que R^1 no sea -H; y

L comprende un grupo saliente tal como el reactivo XXI que se someterá a reacción con el grupo fenol o tiofenol del compuesto de acuerdo con la Fórmula II, derivando así su grupo tiofenol o fenol y formando un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en donde R^1 es distinto de -H.

Los compuestos de Fórmula XXI incluyen, por ejemplo:

(a) compuestos en donde R^1 es alquilo funcionalizado por el grupo saliente L;

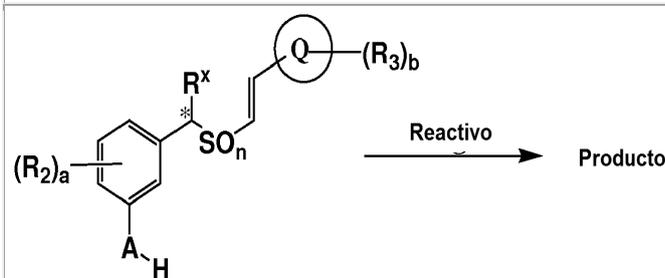
(b) compuestos en donde R^1 es arilo o heteroarilo funcionalizado por el grupo saliente L, en donde L es distinto de acilo;

(c) compuestos en donde R^1 es un ácido carboxílico activado por el grupo saliente L;

- (d) compuestos en donde R¹ es un ácido sulfónico activado por el grupo saliente L;
- (e) compuestos en donde R¹ es un ácido carbámico activado por el grupo saliente L;
- (f) compuestos en donde R¹ es un grupo trialquilsililo activado por el grupo saliente L; o
- (g) compuestos en donde R¹ es un grupo dihidrocarbilsfosfito activado por el grupo saliente L;

- 5 Los grupos salientes L adecuados incluyen grupos, por ejemplo, halógeno, mesilo, tosilo, nosilo, trifilo y acilo. Los compuestos de Fórmula XXI incluyen, por ejemplo, sililhaluros, tales como t-BDMS-Cl; alquil y arilalquil haluros tales como alquil bromuros y bencil bromuros; acil haluros, tales como acetil cloruro y otros cloruros de ácido; sulfonil haluros, tales como sulfonil cloruros; anhídridos ácidos, anhídridos sulfónicos; alcanos sustituidos que tienen un grupo saliente sulfonato tal como mesilo o tosilo; y ésteres de fosfito, tales como dietil fosfitos.
- 10 Los ejemplos representativos de los tipos de derivaciones que se pueden emplear para generar los compuestos de Fórmula I, incluidos los compuestos de la invención, tales como los compuestos de acuerdo con las Fórmulas III, se exponen en la Tabla 4.

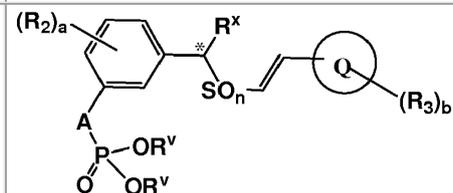
Tabla 4:



Reactivo

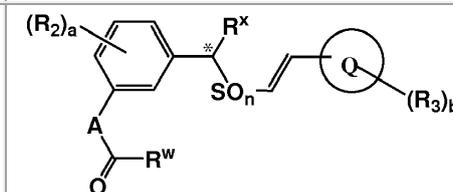
Producto

Un halo dialquil fosfito, o un halodibencil fosfito producido in situ sometiendo a reacción el dialquil o dibencil fosfito con CBr₄ o CCl₄ en presencia de una base tal como trietilamina.



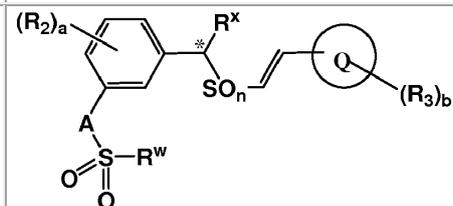
Compuestos fosfato de Fórmula I, y IIA.

Ácidos carboxílicos, ácidos carbámicos o ácidos carbónicos activados; incluidos ácidos carboxílicos o aminoácidos en combinación con reactivos de acoplamiento de amida.

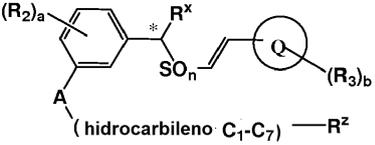


Compuestos éster, carbamato, carbonato de Fórmula I y IIIA.

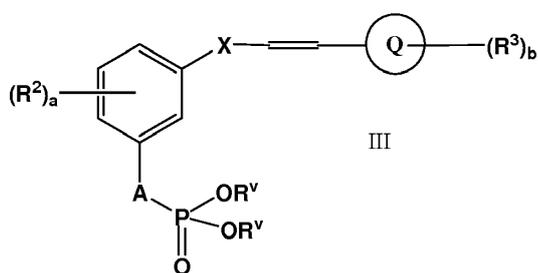
Ácidos sulfónicos o sulfámicos activados



Compuestos sulfonato de Fórmula I.

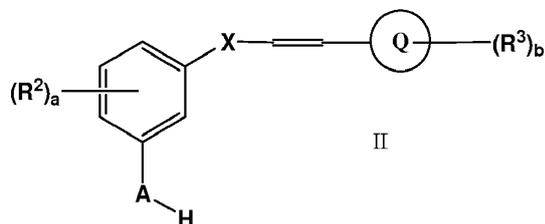
<p>Tabla 4:</p>	
<p>Compuesto alquilo activado con un grupo saliente L.</p>	
	<p>Éteres o tioéteres de Fórmula I.</p>

Por consiguiente, se da a conocer un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la Fórmula III, o su sal:

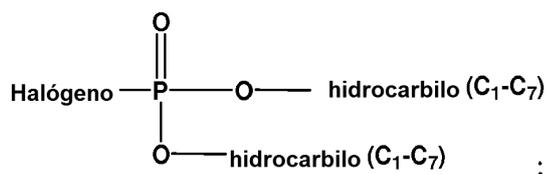


- 5 en donde R^2 , R^3 , X, A, Q, a y b son como se definen en este documento para los compuestos de Fórmula I; y R^v es -hidrocarbilo (C₁-C₇). El método comprende las etapas de:

(a) someter a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula II:



- 10 en donde R^2 , R^3 , X, A, Q, a y b son como se definen en este documento para los compuestos de Fórmula I, con un haluro de dihidrocarbilsfosfito:

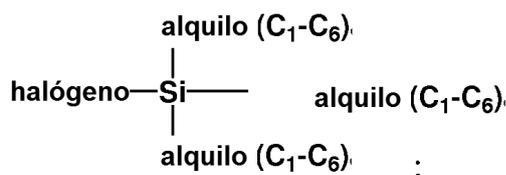


y

(b) aislar de los productos de reacción un compuesto de Fórmula III, o su sal, en donde R^v es -hidrocarbilo (C₁-C₇).

- 15 Se da a conocer un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la Fórmula III, o su sal, en donde R^2 , R^3 , X, A, Q, a y b son como se definieron para los compuestos de Fórmula I; y R^v es -H. El método comprende las etapas de:

(a) someter a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula III, en donde R^v es -hidrocarbilo (C₁-C₇), con un halotrialkilsilano:



y

(b) aislar de los productos de reacción un compuesto de Fórmula III, o su sal, en donde R^v es -H.

5 Preferiblemente, el trihaloalquilsilano se selecciona entre cloruros de trialquilsililo y bromuros de trialquilsililo, más preferiblemente trimetilsililbromuro.

VI. Conjugados de los compuestos de Fórmula I

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I se pueden someter a reacción para formar conjugados con un anticuerpo (Ab). El anticuerpo actúa para suministrar la molécula del fármaco terapéuticamente activa a la población celular diana particular con la que reacciona el anticuerpo.

10 A. Anticuerpos adecuados para conjugación con los compuestos de Fórmula I

El anticuerpo puede ser cualquier anticuerpo que se una a, forme complejo o reaccione con un receptor, antígeno u otro resto receptivo asociado con una población celular anormalmente proliferativa que se busca tratar y que posee por lo menos un resto químicamente activo, preferiblemente un sulfhidrilo reactivo libre (-SH), grupo amino (-NH₂) grupo carboxilo (-CO₂H). Los anticuerpos particularmente preferidos son aquellos que pueden reconocer un antígeno asociado al tumor.

El anticuerpo puede pertenecer a cualquier clase o subclase reconocida de inmunoglobulinas tales como IgG, IgA, IgM, IgD o IgE. El anticuerpo puede derivar de cualquier especie. Preferiblemente, no obstante, el anticuerpo es de origen humano, murino o de conejo, lo más preferiblemente de origen humano. El anticuerpo puede ser policlonal o monoclonal, preferiblemente monoclonal.

20 La invención también abarca el uso de fragmentos de anticuerpos que reconocen el antígeno. Dichos fragmentos pueden incluir, por ejemplo, los fragmentos Fab', F(ab')₂, F_v o Fab, u otros fragmentos de anticuerpos que reconocen antígenos.

Dichos fragmentos de anticuerpos se pueden preparar, por ejemplo, por digestión enzimática proteolítica, por ejemplo, por digestión de pepsina o papaína, alquilación reductora o técnicas recombinantes. Los anticuerpos monoclonales (Mabs) pueden escindir-se ventajosamente por enzimas proteolíticas para generar fragmentos que tienen el sitio de unión al antígeno. Por ejemplo, el tratamiento proteolítico de anticuerpos IgG con papaína a pH neturo genera dos fragmentos "Fab" idénticos, en donde cada uno contiene una cadena ligera intacta unida por disulfuro a un fragmento de la cadena pesada (Fd). Cada fragmento Fab contiene un sitio de unión al antígeno. La porción restante de la molécula de IgG es un dímero conocido como "Fc". De modo similar, la escisión de pepsina a pH 4 resulta en un fragmento F(ab')₂. Los materiales y métodos para preparar dichos fragmentos se conocen en la técnica. Véanse, en general, Parham, J. Immunology, 131, 2895 (1983); Lamoyi et al., J. Immunological Methods, 56, 235 (1983); Parham, Id., 53, 133 (1982); Goding, Monoclonal Antibodies Principles and Practice, Academic Press (1983), pág. 119-123; y Matthew et al., Id., 50, 239 (1982).

El anticuerpo puede ser un anticuerpo de cadena sencilla ("SCA"). Estos pueden consistir en fragmentos F_v de cadena sencilla ("scFv") en los dominios ligeros variables (V_L) y pesados variables (V_H) unidos por un puente peptídico o por enlaces disulfuro. El anticuerpo puede consistir en dominios V_H sencillos (dAbs) que poseen actividad de unión al antígeno. Véanse, p. ej., G. Winter y C. Milstein, Nature, 349, 295 (1991); R. Glockshuber et al., Biochemistry 29, 1362 (1990); y E. S. Ward et al., Nature 341, 544 (1989).

Además, el anticuerpo puede ser un anticuerpo "bifuncional" o "híbrido", es decir, un anticuerpo que puede tener un brazo que tiene una especificidad para un sitio antigénico, tal como un antígeno asociado a un tumor mientras que el otro brazo reconoce una diana diferente, por ejemplo, un hapteno que es o que está unido a un agente letal para la célula tumoral que porta el antígeno. Alternativamente, un anticuerpo bifuncional puede ser uno en el que el brazo tenga especificidad hacia un epitopo diferente de un antígeno asociado al tumor de la célula anormalmente proliferativa que se ha de tratar.

45 Los anticuerpos bifuncionales se describen, por ejemplo, en la publicación de patente europea, EP 0105360. Dichos anticuerpos híbridos o bifuncionales pueden derivar, biológicamente, por técnicas de fusión celular, o químicamente, particularmente con agentes de reticulación o reactivos que forman puentes disulfuro. Los anticuerpos bifuncionales pueden comprender anticuerpos enteros y sus fragmentos. Los métodos para obtener dichos anticuerpos híbridos se

describen, por ejemplo, en la solicitud PCT WO83/03679, publicada el 27 de octubre de 1983, y en la solicitud europea EPA 0 217 577, publicada el 8 de abril de 1987.

5 El anticuerpo puede ser un anticuerpo quimérico. Los anticuerpos monoclonales animales-humanos quiméricos se pueden preparar por técnicas de transfección de ADN y genes recombinantes convencionales conocidas en el campo. Los genes de región variable de una línea celular de mieloma que produce anticuerpos de ratón de especificidad de unión a antígenos conocida, se unen con genes de la región constante de inmunoglobulina humana. Cuando dichos constructos de genes se transfectan en células de mieloma de ratón, se producen los anticuerpos que son mayormente humanos pero que contienen especificidades de unión a antígenos generadas en ratones. Como lo demostraron Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 6851-6855, 1984, el exón de la región de cadena pesada quimérica V (VH)-los genes de la región de la cadena pesada humana C y el exón de la región de la cadena ligera de ratón quimérica V (V*)-constructos de genes de cadena ligera humana * se pueden expresar cuando se transfectan a líneas celulares de mieloma de ratón. Cuando ambos genes de cadena pesada y ligera se transfectan a la misma célula de mieloma, se produce un anticuerpo quimérico intacto H₂L₂. La metodología para producir dichos anticuerpos quiméricos combinando clones genómicos de los genes de las regiones V y C se describe en el documento anteriormente mencionado de Morrison et al., y de Boulianne et al., Nature 312, 642-646, 1984. Véase también Tan et al., J. Immunol. 135, 3564-3567, 1985 para una descripción de expresión de alto nivel de un promotor de la cadena pesada humana de una cadena quimérica de ser humano-ratón después de la transfección de células de mieloma de ratón. Como una alternativa a combinar clones de ADN genómico, se puede combinar ADNc de las regiones V y C relevantes para producción de anticuerpos quiméricos, como lo describen Whitte et al., Protein Eng. 1, 499-505, 1987 y Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 3439-3443, 1987.

Para ejemplos de la preparación de anticuerpos quiméricos, véanse las siguientes patentes de EE.U.U.: 5.292.867; 5.091.313; 5.204.244; 5.202.238; y 5.169.939. La invención no se interpretará como limitada en alcance por ningún método particular de producción de un anticuerpo, ya sea bifuncional, quimérico, bifuncional-quimérico, humanizado, o su fragmento o derivado de reconocimiento del antígeno.

25 Para reducir más la inmunogenicidad de los anticuerpos murinos, se han construido anticuerpos "humanizados" en los que solamente las partes mínimas necesarias de un anticuerpo de ratón, las regiones determinantes de complementaridad (CDR), se combinan con marcos de la región V humana y de las regiones C humanas (Jones et al., Nature 321, 522-525, 1986; Verhoeyen et al., Science 239, 1534-1536, 1988; Reichmann et al., 322, 323-327, 1988; Hale et al., Lancet 2, 1394-1399, 1988; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033, 1989). Esta técnica resulta en la reducción al mínimo de los elementos xenogéneos en el anticuerpo humanizado. Los sitios de unión al antígeno de roedores se construyen directamente en anticuerpos humanos trasplantando solamente el sitio de unión al antígeno, en lugar de todo el dominio variable, de un anticuerpo de roedor. Esta técnica está disponible para producción de anticuerpos de roedores quiméricos/seres humanos de inmunogenicidad humana reducida.

35 Los anticuerpos representativos y sus fragmentos de unión al antígeno que dirigen los antígenos del tumor diana o los antígenos asociados al tumor, y que están comúnmente disponibles, incluyen: Satumomab Pendetide (por Cytogen, un Mab murino dirigido contra TAG-72); Igovomab (por CIS Bio, un fragmento de Mab, Fab2 dirigido contra el antígeno asociado a un tumor CA 125); Arcitumomab (por Immunomedics, un fragmento de Mab, Fab dirigido contra el antígeno carcinoembrionario humano CEA); Capromab Pentetate (por Cytogen, un Mab murino dirigido contra el antígeno de superficie de tumor PSMA); Tecnemab KI (por Sorin, fragmentos de Mab murinos (Fab/Fab2 mix) dirigidos contra HMW-MAA); Nofetumomab (por Boehringer Ingelheim/NeoRx, fragmentos de Mab murinos (Fab) dirigidos contra el antígeno asociado al carcinoma); Rituximab (por Genentech/IDEC Pharmaceuticals, un Mab quimérico dirigido contra el antígeno CD20 en la superficie de los linfocitos B); Trastuzumab (por Genintech, un anticuerpo humanizado dirigido contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER 2)); Votumumab (por Organon Teknika, un Mab humano dirigido contra el antígeno asociado al tumor de citoqueratina); Ontak (por Seragen/Ligand Pharmaceuticals, una proteína de fusión de la toxina de IL-2-diferencia que dirige las células exhibiendo un receptor de IL-2 superficial); IMC-C225 (por Imclone, un anticuerpo monoclonal quimerizado que se une a EGFR); LCG-Mab (por Cytoclonal Pharmaceuticals Monoclonal, anticuerpo dirigido contra el gen del cáncer de pulmón LCG); ABX-EGF (por Abgenix, un anticuerpo monoclonal totalmente humano contra el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFr)); y Epratuzumab (por Immunomedics, un anticuerpo monoclonal, anti-CD22 humanizado).

De acuerdo con una realización de la invención, el anticuerpo comprende un anticuerpo específico de tumores, preferiblemente un anticuerpo monoclonal específico de tumores o un anticuerpo policlonal mono-específico, específico de tumores. Los anticuerpos monoclonales particularmente preferidos para uso en la presente invención, que reconocen antígenos asociados a tumores incluyen, por ejemplo, aquellos enumerados en la Tabla 1.

55

ES 2 609 084 T3

Tabla 5

Antígeno reconocido por el sitio	Anticuerpos monoclonales	Referencia
Tumores pulmonares	KS1/4	N. M. Varki, et al., Cancer Res., 44:681, 1984
	534, F8; 604A9	F. Cuttitta, et al., in: G. L. Wright (ed) Monoclonal Antibodies and Cancer, Marcel Dekker, Inc., NY., pág. 161, 1984.
Pulmón escamoso	G1, LuCa2, LuCa3, LuCa4	Kyoizumi et al., Cancer Res., 45:3274, 1985.
Pulmón de células pequeñas	TFS-2	Okabe et al., Cancer Res. Cancer, 45:1930, 1985.
Cáncer de colon	11.285.14, 14.95.55	G. Rowland, et al., Cancer, Immunol. Immunother., 19:1, 1985
	NS-3a-22, NS-10, NS-19-9, NS-33a, NS-52a, 17-1A	Z. Steplewski, et al., Cancer, Res., 41:2723, 1981.
Carcinoembrionario	MoAb 35 o ZCE025	Acolla, R. S. et al., Proc., Natl. Acad. Sci., (EE. UU.), 77:563, 1980.
Melanoma	9.2.27	T. F. Bumol y R. A. Reisfeld, Proc. Natl. Acad. Sci., (EE. UU.), 79:1245, 1982.
p97	96.5	K. E. Hellstrom, et al., Monoclonal Antibodies and Cancer, loc. cit. pág. 31.
Antígeno T65	T101	Boehringer-Mannheim, P.O. Box 50816, Indianápolis, IN 46250
Ferritina	Antiferrina	Boehringer-Mannheim, P.O. Box 50816, Indianápolis, IN 46250
	R24	W. G. Dippold, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (EE. UU.), 77:6114, 1980
Neuroblastoma	P1 153/3	R. H. Kennet y F. Gilbert, Science, 203:1120, 1979.
	MIN 1	J. T. Kemshead in Monoclonal, Antibodies and Cancer, loc. cit., pág. 49.
	UJ13A	Goldman et al., Pediatrics, 105:252, 1984.
Glioma	BF7, GE2, CG12	N. de Tribolet, <i>et al.</i> , en Monoclonal Antibodies and Cancer, <i>loc. cit.</i> pág. 81.
Gangliósido	L6	I. Hellstrom et al., Proc. Natl Acad. Sci. (EE. UU.), 83:7059 (1986); patentes de EE. UU. núm. 4.906.562 y 4.935.495.
	L6 quimérico	publicación de patente PCT, WO 88/03145 y patente de EE. UU. núm. 5.242.824
Lewis Y	BR64	patente de EE. UU. 5.242.824
Lewis Y fucosilado	BR96, BR96 quimérico	publicación de patente PCT, WO 91/00295.
Cáncer de mama	B6.2, B72.3	D. Colcher, et al., en Monoclonal Antibodies and Cancer, loc. cit.

Antígeno reconocido por el sitio	Anticuerpos monoclonales	Referencia
		pág. 121.
Osteogénico	791T/48	M. J. Embleton, <i>ibid</i> , pág. 181
Sarcoma	791T/36	
Leucemia	CALL 2	C. T. Teng, et al., <i>Lancet</i> , 1:01, 1982.
	anti-idiotipo	R. A. Miller, et al., <i>N. Eng. J. Med.</i> , 306:517, 1982
Cáncer de ovario	OC 125	R. C. Bast, et al., <i>J. Clin. Invest.</i> , 68:1331, 1981.
Cáncer de próstata	D83.21, P6.2, Turp-27	J. J. Starling, et al., en <i>Monoclonal Antibodies and Cancer</i> , loc. cit., pág. 253.
Cáncer renal	A6H, D5D	P. H. Lange, et al., <i>Surgery</i> , 98:143, 1985.

B. Unión de un compuesto de Fórmula I a un anticuerpo (Ab)

5 Un anticuerpo puede estar covalentemente unido a un compuesto de Fórmula I, mediante un enlazador covalente (L) para formar un conjugado de la Fórmula I-L-Ab. Los componentes estructurales de los sustituyentes en los anillos fenilo o Q de los compuestos de Fórmula I (p. ej., -OH, -SH, y los sustituyentes que comprenden restos aminoácido o peptídico) proporcionan los puntos de sujeción mediante los cuales un anticuerpo puede estar conectado a un compuesto de Fórmula I a través de un enlace de unión L.

10 Los compuestos de Fórmula I pueden unirse covalentemente a anticuerpos mediante un enlazador bifuncional adecuado (-L-) para dar un conjugado de la Fórmula general, I-L-Ab. Además, los compuestos de las Fórmulas IIA, IIB, IIIA, IIIB, IVA, IVB, VA, VB, VIA y VIB pueden unirse covalentemente a anticuerpos (Ab) mediante un enlazador bifuncional (-L-) para dar los conjugados de la Fórmula general, IIA-L-Ab, IIB-L-Ab, IIIA-L-Ab, IIIB-L-Ab, IVA-L-Ab, IVB-L-Ab, VA-L-Ab, VB-L-Ab, VIA-L-Ab y VIB-L-Ab.

15 El enlazador covalente (L) provisto entre un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y un anticuerpo (Ab) para formar un conjugado de la Fórmula I-L-Ab puede, en su forma más simple, comprender un enlace covalente sencillo que conecta el compuesto de acuerdo con la Fórmula I al anticuerpo.

20 Un ejemplo de un enlace covalente formado como un enlazador entre un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y un anticuerpo es un enlace disulfuro. Un enlace disulfuro puede formarse por la oxidación de un anticuerpo y un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, en donde un sustituyente en el anillo fenilo o el anillo Q de Fórmula I comprende un resto peptídico que contiene uno o más aminoácidos cisteína. Los residuos cisteína se pueden oxidar para formar enlaces disulfuro disolviendo 1 mg del compuesto adecuado de acuerdo con la Fórmula I y 0,5 equivalentes del anticuerpo deseado en 1,5 ml de 0,1% (v/v) ácido acético 17,5 mM, pH 8,4, seguido de lavado con nitrógeno y luego $K_2Fe(CN)_6$ 0,01M. Después de la incubación durante una hora a temperatura ambiente, el aducto de péptido se purifica, p. ej., por HPLC.

25 Otro ejemplo de un enlace covalente adecuado formado como un enlazador entre un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y un anticuerpo es un enlace amida. Un enlace amida se puede formar sometiendo a reacción un grupo amino en un compuesto de la invención con un grupo ácido carboxílico que forma parte de la estructura primaria del anticuerpo (Ab) (p. ej., un residuo de aminoácido glutámico o aspártico). Alternativamente, un enlace amida se puede formar si se revirtieron los restos sometidos a reacción, es decir, el compuesto de acuerdo con la Fórmula I contiene una funcionalidad ácido carboxílico y reacciona con una funcionalidad amino dentro de la estructura Ab.

30 Más comúnmente, el compuesto de acuerdo con la Fórmula I se conecta al anticuerpo usando un reactivo de unión bifuncional adecuado. La expresión "reactivo de unión bifuncional" se refiere a una molécula que comprende dos restos reactivos que se conectan mediante un elemento espaciador. La expresión "restos reactivos" en este contexto, hace referencia a grupos funcionales químicos capaces de acoplarse con un anticuerpo o un compuesto de acuerdo con la Fórmula I sometiendo a reacción con grupos funcionales en el anticuerpo y el compuesto de acuerdo con la Fórmula I. Por lo tanto, de acuerdo con una realización de la invención, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, en donde un sustituyente en el anillo fenilo o el anillo Q de Fórmula I comprende un resto -OH, -

NH₂ o -SH, se acopla a un anticuerpo usando un reactivo de unión bifuncional. Los procedimientos de preparación de inmunoconjugados que usan estos enlazadores se detallan en *Toxin-Targeted Design for Anticancer Therapy. II. Preparation and Biological Comparison of Different Chemically Linked Gelonin-Antibody Conjugates* (Cattel, et al, J. Pharm. Sci., 82:7, pág. 699-704, 1993).

5 Los conjugados de acuerdo con la invención se pueden preparar utilizando reactivos enlazadores homobifuncionales (en donde los dos restos reactivos en el reactivo enlazador bifuncional son iguales), tal como, por ejemplo, disuccinimidil tartrato, disuccinimidil suberato, etilenglicol-bis-(succinimidil succinato), 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno ("DFNB"), estilbeno de ácido 4,4'-diisotiociano-2,2'-disulfónico ("DIDS") y bis-maleimidohexano ("BMH"). La reacción de unión ocurre en forma aleatoria entre el Ab y un compuesto de acuerdo con la Fórmula I que tiene un resto peptídico como parte de por lo menos un sustituyente en el anillo fenilo o el anillo Q de la Fórmula I.

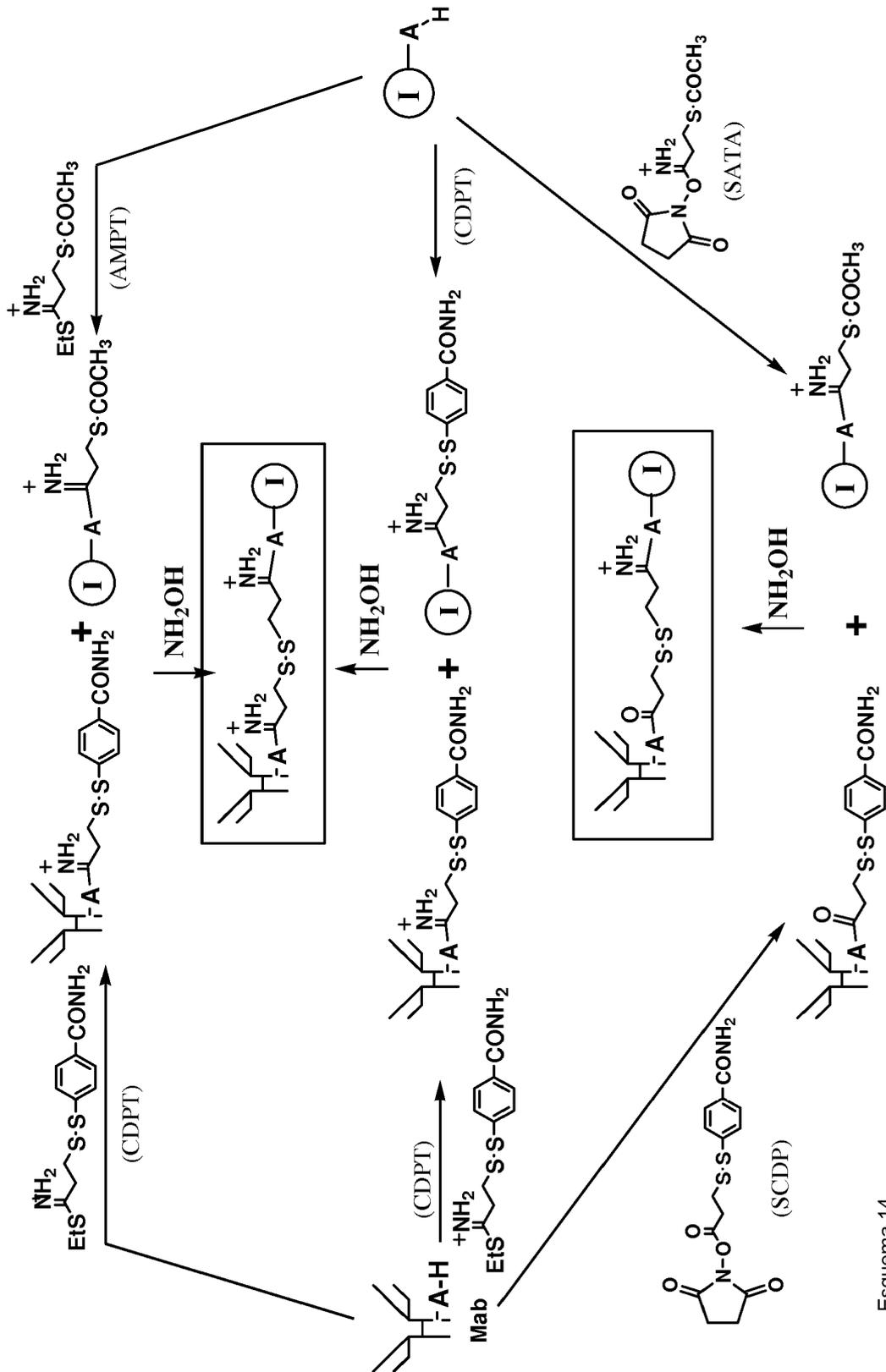
10 Los reactivos de unión hetero-bifuncionales (en donde los dos restos reactivos en el reactivo de unión bifuncional son distintos) pueden también emplearse en la preparación de conjugados de acuerdo con la invención. Para unión hetero-bifuncional, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se deriva con, por ejemplo, la porción N-hidroxisuccinimidilo del reactivo bifuncional, y el compuesto de Fórmula I derivado resultante se purifica por cromatografía. Luego, se somete a reacción un anticuerpo adecuado con el segundo grupo funcional del reactivo de unión bifuncional, asegurando una secuencia dirigida de reacción entre el compuesto de Fórmula I y el anticuerpo (Ab).

15 Los agentes de unión heterobifuncionales típicos para formar conjugados entre un compuesto y un anticuerpo tienen un éster amino-reactivo N-hidroxisuccinimida (NHS-éster) como un grupo funcional y un grupo reactivo sulfhidrilo como el otro grupo funcional. En primer lugar los grupos amino del compuesto de Fórmula I se acilan con el grupo NHS-éster del agente de reticulación. El anticuerpo, que posee los grupos sulfhidrilo libres, se somete a reacción con el grupo reactivo sulfhidrilo del agente de reticulación para formar un dímero covalentemente reticulado. Los grupos reactivos tiol comunes incluyen, por ejemplo, maleimidas, piridil disulfuros y halógenos activos. Por ejemplo, MBS contiene un NHS-éster como el grupo amino reactivo, y un resto maleimida como el grupo reactivo sulfhidrilo.

20 Existen numerosos enlazadores bifuncionales útiles como enlazadores (-L-), que se han utilizado específicamente para acoplar moléculas pequeñas a anticuerpos monoclonales. Muchos de estos enlazadores se comercializan. Los ejemplos incluyen N-succinimidil-3-(2-piridilditio)-propionato (SPDP), 2-iminotiolano (2-IT), 3-(4-carboxamidofenilditio)propiontioimidato (CDPT), N-succinimidil-acetiltioacetato (SATA), etil-S-acetil-propiontioimidato (AMPT) y N-succinimidil-3-(4-carboxamidofenilditio)propionato (SCDP), sulfosuccinimidil-2-(p-azidosalicilamido)etil-1-3'-ditiopropionato ("SASD", Pierce Chemical Company, Rockford, IL), éster de N-maleimidobenzoil-N-hidroxisuccinimidilo ("MBS"), éster de m-maleimidobenzoil-sulfosuccinimida ("sulfo-MBS"), N-succinimidil(4-iodoacetil)aminobenzoato ("SIAB"), succinimidil 4-(N-maleimidometil)-ciclohexano-1-carboxilato ("SMCC"), succinimidil-4-(p-maleimidofenil)butirato ("SMPB"), sulfosuccinimidil(4-iodo-acetil)amino-benzoato ("sulfo-SIAB"), sulfosuccinimidil 4-(N-maleimido-metil)ciclohexano-1-carboxilato ("sulfo-SMCC"), sulfosuccinimidil 4-(p-maleimidofenil)-butirato ("sulfo-SMPB"), éster de bromoacetil-p-aminobenzoil-N-hidroxisuccinimidilo y éster de yodoacetil-N-hidroxisuccinimidilo.

25 Los reactivos de unión heterobifuncionales fotoactivos, p. ej., fenilazidas fotorreactivas, también pueden emplearse. Uno de dichos reactivos, SASD, puede unirse, mediante su grupo NHS-éster, o bien a un anticuerpo o a un compuesto de Fórmula I en donde por lo menos un sustituyente en Q o el anillo fenilo de Fórmula I comprende un resto peptídico. La reacción de conjugación se lleva a cabo a pH 7 a temperatura ambiente durante aproximadamente 10 minutos. Se pueden usar relaciones molares entre aproximadamente 1 y aproximadamente 20 del agente de reticulación a los compuestos a los que se unirán.

30 Las rutas sintéticas ilustrativas para preparar conjugados de la presente descripción de Fórmula general I-L-Ab se exponen en el Esquema 14. De acuerdo con el Esquema 14, un anticuerpo monoclonal Mab, en el que A es -NH- o -S-, deriva por reacción con el reactivo enlazador CDPT o SCDP. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, en donde A es -NH- o -S-, deriva por reacción con el reactivo enlazador CDPT, SATA o AMPT. El acoplamiento del compuesto derivado de Fórmula I con el anticuerpo monoclonal derivado produce un conjugado de acuerdo con la Fórmula I-L-Ab.



Esquema 14

VII. Sales de los compuestos de la invención

Los compuestos de la presente invención pueden tomar la forma de sales. El término "sales", abarca sales comúnmente utilizadas para formar sales de metal alcalino y para formar sales de adición de ácido de los ácidos libres o las bases libres. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que poseen perfiles de toxicidad dentro de un intervalo como para tener utilidad en aplicaciones farmacéuticas. Las sales

farmacéuticamente aceptables pueden no obstante poseer propiedades tales como alta cristalinidad, que tienen utilidad en la práctica de la presente invención, tal como por ejemplo utilidad en un procedimiento sintético. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas se pueden preparar a partir de ácido inorgánico o de un ácido orgánico. Los ejemplos de dichos ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, carbónico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos apropiados se pueden seleccionar entre las clases de alifático, cicloalifático, aromático, aralifático, heterocíclico, carboxílico y sulfónico de ácidos orgánicos, cuyos ejemplos son ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, glucurónico, maleico, fumárico, pirúvico, aspártico, glutámico, benzoico, antranílico, mesílico, 4-hidroxibenzoico, fenilacético, mandélico, embónico (pamoico), metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, pantoténico, 2-hidroxietanosulfónico, toluenosulfónico, sulfanílico, ciclohexilaminosulfónico, esteárico, alginico, B-hidroxibutírico, salicílico, galactárico y galacturónico. Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, percloratos y tetrafluoroboratos.

Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas de la invención incluyen, por ejemplo, sales metálicas de calcio, magnesio, potasio, sodio y zinc, o sales orgánicas elaboradas a partir de *N,N*-dibenciletilenodiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilenodiamina, meglumina (*N*-metilglucamina) y procaína. Los ejemplos de sales farmacéuticamente inaceptables incluyen sales de litio y sales de cianato. Todas estas sales se pueden preparar por medios convencionales a partir del correspondiente compuesto de acuerdo con la Fórmula I, sometiendo a reacción, por ejemplo, el ácido o la base apropiada con el compuesto de acuerdo con la Fórmula I.

VIII. Administración de compuestos y conjugados de la invención

Los compuestos y conjugados de la invención se pueden administrar por cualquier ruta, incluida la administración parenteral. La administración parenteral incluye, por ejemplo, la administración intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intranasal, rectal, intravaginal, intravesical (p. ej., a la vejiga), intradérmica, tópica o subcutánea. También se contempla dentro del alcance de la invención la instilación del fármaco en el cuerpo del paciente en una formulación controlada, con liberación sistémica o local del fármaco en un momento posterior. Por ejemplo, el fármaco puede localizarse en un depósito para la liberación controlada a la circulación, o para liberación a un sitio local de crecimiento de tumores.

Se pueden administrar uno o más compuestos o conjugados, útiles en la práctica de las presentes invenciones, simultáneamente por las mismas rutas o por rutas distintas, o durante distintos momentos del tratamiento.

Para administración parenteral, el agente activo se puede mezclar con un vehículo o diluyente adecuado tal como agua, un aceite (particularmente un aceite vegetal), etanol, disolución salina, dextrosa acuosa (glucosa) y disoluciones de azúcar relacionadas, glicerol, o un glicol tal como propilenglicol o polietilenglicol. Las disoluciones para administración parenteral preferiblemente contienen una sal soluble en agua del agente activo. También se pueden añadir agentes estabilizantes, agentes antioxidantes y conservantes. Los agentes antioxidantes adecuados incluyen sulfito, ácido ascórbico, ácido cítrico y sus sales, y EDTA sódico. Los conservantes adecuados incluyen cloruro de benzalconio, metil o propil parabeno y clorbutanol. La composición para administración parenteral puede tomar la forma de una disolución acuosa o no acuosa, dispersión, suspensión o emulsión.

Para administración oral, el agente activo se puede combinar con uno o más ingredientes inactivos sólidos para la preparación de comprimidos, cápsulas, pastillas, polvos, gránulos u otras formas de dosificación oral adecuadas. Por ejemplo, el agente activo se puede combinar con por lo menos un excipiente tal como cargas, aglutinantes, humectantes, agentes desintegrantes, retardantes de disolución, aceleradores de absorción, agentes humectantes, absorbentes o lubricantes. De acuerdo con una realización de comprimidos, el agente activo se puede combinar con carboximetilcelulosa cálcica, estearato de magnesio, manitol y almidón, y luego formarse en comprimidos por métodos de formación de comprimidos convencionales.

La dosis específica de un compuesto de acuerdo con la invención para obtener beneficio terapéutico para el tratamiento de un trastorno proliferativo será determinada, desde ya, por las circunstancias particulares del paciente individual que incluye el tamaño, el peso, la edad y el sexo del paciente, la naturaleza y la etapa del trastorno proliferativo, la agresividad del trastorno proliferativo, y la ruta de administración del compuesto.

Por ejemplo, se puede utilizar una dosis diaria de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 mg/kg/día. Las dosis superiores o inferiores también se contemplan.

A. Radioprotección

La dosis específica del compuesto de acuerdo con la invención para obtener el beneficio terapéutico para radioprotección será determinada por las circunstancias particulares del paciente individual incluidos la talla, el peso, la edad y el sexo del paciente, el tipo, la dosis, y el tiempo de radiación ionizante, y la ruta de administración del compuesto de la invención.

Por ejemplo, se puede utilizar una dosis diaria de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 mg/kg/día. Las dosis superiores o inferiores también se contemplan.

La exposición a la radiación por un individuo puede comprender radiación terapéutica administrada al individuo o en algunas indicaciones, a la médula ósea extirpada del individuo.

5 Un individuo puede también exponerse a radiación ionizante de fuentes ocupacionales o ambientales, como se analizó anteriormente en Antecedentes de la invención. Para los propósitos de la invención, la fuente de la radiación no es tan importante como el tipo (es decir, agudo o crónico) y el nivel de dosis absorbida por el individuo. Se ha de entender que el siguiente análisis abarca exposiciones a radiación ionizante tanto de fuentes ocupacionales como ambientales.

10 Se dice que los individuos que padecen efectos de exposición aguda o crónica a la radiación ionizante que no son inmediatamente fatales tienen daños de radiación remediables. Dichos daños de radiación remediables se pueden reducir o eliminar mediante los compuestos y métodos de la presente invención.

15 Una dosis aguda de radiación ionizante que puede causar daño por radiación remediable incluye una dosis localizada o de todo el cuerpo, por ejemplo, entre aproximadamente 10.000 milirem (0,1 Gy) y aproximadamente 1.000.000 milirem (10 Gy) en 24 horas o menos, preferiblemente entre aproximadamente 25.000 milirem (0,25 Gy) y aproximadamente 200.000 (2 Gy) en 24 horas o menos, y más preferiblemente entre aproximadamente 100.000 milirem (1 Gy) y aproximadamente 150.000 milirem (1,5 Gy) en 24 horas o menos.

20 Una dosis crónica de radiación ionizante que puede causar daño de radiación remediable incluye una dosis de todo el cuerpo de aproximadamente 100 milirem (0,1001 Gy) y aproximadamente 10.000 milirem (0,1 Gy), preferiblemente una dosis entre aproximadamente 1000 milirem (.01 Gy) y aproximadamente 5000 milirem (0,05 Gy) en un periodo de más de 24 horas, o una dosis localizada de 15.000 milirem (0,15 Gy) a 50.000 milirem (0,5 Gy) en un periodo de más de 24 horas.

(i) Radioprotección: Radiación ionizante terapéutica

25 Para administración radioprotectora a individuos que reciben radiación ionizante terapéutica, los compuestos de la invención se deben administrar mucho antes que la radiación terapéutica, de modo tal que el compuesto sea capaz de alcanzar a las células normales del individuo en una concentración suficiente para ejercer un efecto radioprotector sobre las células normales. La farmacocinética de los compuestos específicos se puede determinar por métodos conocidos en la técnica, y los niveles de tejido de un compuesto en un individuo particular se pueden determinar por análisis convencionales.

30 El compuesto se puede administrar con tanta frecuencia como aproximadamente 24 horas, preferiblemente no más de aproximadamente 18 horas, antes de la administración de la radiación. En una realización, la terapia se administra por lo menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12 horas antes de la administración de la radiación terapéutica. Lo más preferiblemente, el compuesto se administra una vez aproximadamente 18 horas y nuevamente aproximadamente 6 horas antes de la exposición a la radiación.

Uno o más de los compuestos de Fórmula I se pueden administrar simultáneamente, o se pueden administrar distintos compuestos de Fórmula I en diferentes momentos durante el tratamiento.

35 Si la radiación terapéutica se administra en un modo serial, es preferible intercalar la administración de uno o más compuestos radioprotectores dentro del esquema de los tratamientos de radiación. Como antes, los distintos compuestos radioprotectores de la invención se pueden administrar o bien simultáneamente o en diferentes momentos durante el tratamiento. Preferiblemente, un periodo de aproximadamente 24 horas separa la administración del compuesto radioprotector y la radiación terapéutica. Más preferiblemente, la administración del compuesto radioprotector y la radiación terapéutica se separan por aproximadamente 6 a 18 horas. Esta estrategia producirá una reducción importante en los efectos colaterales inducidos por la radiación sin afectar la actividad antineoplásica de la radiación terapéutica.

45 Por ejemplo, la radiación terapéutica en una dosis de 0,1 Gy puede administrarse a diario por cinco días consecutivos, con un descanso de dos días por un periodo total de 6 - 8 semanas. Uno o más compuestos de Fórmula I se pueden administrar al individuo 18 horas antes de cada tanda de radiación. Se debe señalar, no obstante, que los esquemas de tratamiento más agresivos, es decir, la administración de una dosis superior, se contemplan de acuerdo con la presente invención debido a la protección de las células normales producida por los compuestos radioprotectores. Por lo tanto, el efecto radioprotector del compuesto aumenta el índice terapéutico de la radiación terapéutica, y puede permitir que el médico aumente de modo seguro la dosis de radiación terapéutica por encima de los niveles actualmente recomendados sin arriesgar el aumento del daño a las células y tejidos normales circundantes.

(ii) Radioprotección: Médula ósea tratada por radiación

55 Los compuestos radioprotectores de la invención son también útiles para proteger a las células normales de la médula ósea contra tratamientos radiológicos destinados a destruir las células neoplásicas hematológicas que han formado metástasis en la médula ósea. Dichas células incluyen, por ejemplo, células de leucemia mieloide. El aspecto de estas células en la médula ósea y en cualquier otra parte del cuerpo se asocia con diversos estados de

enfermedad, tales como los subtipos francés-americano-británico (FAB) de leucemias mielógenas agudas (AML), leucemia mieloide crónica (CML) y leucemia linfocítica aguda (ALL).

5 CML, en particular, se caracteriza por la proliferación anormal de granulocitos inmaduros (p. ej., neutrófilos y basófilos) en la sangre, la médula ósea, el bazo, el hígado y otros tejidos y acumulación de precursores granulocíticos en estos tejidos. El individuo que presente dichos síntomas típicamente tendrá más de 20.000 glóbulos blancos por microlitro de sangre, y el recuento podrá exceder los 400.000. Prácticamente todos los pacientes con CML desarrollan "crisis blástica", la etapa terminal de la enfermedad durante la cual los blastocitos inmaduros proliferan rápidamente, conduciendo a la muerte.

10 Otros individuos sufren tumores metastásicos, y requieren el tratamiento con irradiación de todo el cuerpo (TBI). Ya que la TBI también destruirá las células hematopoyéticas del individuo, una porción de la médula ósea del individuo se extirpa antes de la irradiación para subsiguiente reimplante. No obstante, las células tumorales metastásicas probablemente estarán presentes en la médula ósea y el reimplante a menudo provoca una recaída del cáncer en un corto lapso.

15 Se puede tratar a individuos que presentan enfermedades neoplásicas o tumores metastásicos de la médula ósea eliminando una porción de la médula ósea (que también se denomina "cosecha"), purgando la médula ósea cosechada de células madre malignas y reimplantando la médula ósea purgada. Preferiblemente, el individuo se trata con radiación o alguna otra terapia antineoplásica antes de que la médula ósea purgada autóloga sea reimplantada.

20 Por lo tanto, la presente descripción da a conocer un método para reducir el número de células malignas en la médula ósea, que comprende las etapas de extraer una porción de la médula ósea del individuo, administrar una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector de acuerdo con la presente invención e irradiar la médula ósea tratada con una dosis suficiente de radiación ionizante, de modo tal que las células malignas en la médula ósea sean exterminadas. Tal como se emplea en esta memoria, "célula maligna" significa cualquier célula que prolifera descontroladamente, tal como una célula de tumor o célula neoplásica. Los compuestos radioprotectores protegen las células hemotopoyéticas normales presentes en la médula ósea contra los efectos nocivos de la radiación ionizante. Los compuestos también exhiben un efecto de destrucción directa sobre las células malignas. La cantidad de células malignas en la médula ósea se reduce en gran medida antes del reimplante, minimizando así la aparición de una recaída.

30 Preferiblemente, cada compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administra a la médula ósea en una concentración de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 100 micromolares; más preferiblemente, entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 50 micromolares; en particular, entre aproximadamente 2,0 y aproximadamente 25 micromolares. Las concentraciones particularmente preferidas son 0,5, 1,0 y 2,5 micromolares y 5, 10 y 20 micromolares.

35 Los compuestos radioprotectores se pueden añadir directamente a la médula ósea cosechada, pero preferiblemente se disuelven en un disolvente orgánico como DMSO. Se pueden usar las formulaciones farmacéuticas de los compuestos de Fórmula I, tal como se describe en más detalle a continuación.

40 Preferiblemente, el compuesto radioprotector se añade a la médula ósea cosechada aproximadamente 20 horas antes de la exposición a la radiación, preferiblemente no más de aproximadamente 24 horas antes de la exposición a la radiación. En una realización, el compuesto radioprotector se administra a la médula ósea cosechada por lo menos aproximadamente 6 horas antes de la exposición a la radiación. Uno o más compuestos se pueden administrar simultáneamente, o distintos compuestos se pueden administrar en distintos momentos. También se contemplan otros esquemas de dosis.

45 Si el individuo se ha de tratar con radiación ionizante antes del reimplante de la médula ósea purgada, el individuo se puede tratar con uno o más compuestos radioprotectores antes de recibir la dosis de radiación ionizante, como se describió anteriormente.

(iii) Radioprotección: Exposición a la radiación ambiental u ocupacional

50 La presente descripción también da a conocer un método para tratar a individuos que han incurrido en daño por radiación remediable por exposición aguda o crónica a la radiación ionizante, que comprende reducir o eliminar los efectos citotóxicos de la exposición a la radiación en células y tejidos normales, administrando una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector. El compuesto preferiblemente se administra en un periodo lo más breve posible que le sigue a la exposición a la radiación, por ejemplo entre 0 - 6 horas después de la exposición.

55 El daño por radiación remediable puede adquirir la forma de efectos citotóxicos y genotóxicos (es decir, genéticos adversos) en el individuo. En otra realización, se da a conocer por lo tanto un método para reducir o eliminar los efectos citotóxicos y genotóxicos de la exposición a la radiación en células y tejidos normales, que comprende administrar una cantidad eficaz de por lo menos un compuesto radioprotector antes de la exposición a la radiación aguda o crónica. El compuesto se puede administrar, por ejemplo, aproximadamente 24 horas antes de la exposición a la radiación, preferiblemente no más de aproximadamente 18 horas antes de la exposición a la

radiación. En una realización, el compuesto se administra por lo menos aproximadamente 6 horas antes de la exposición a la radiación. Lo más preferiblemente, el compuesto se administra aproximadamente 18 horas y nuevamente aproximadamente 6 horas antes de la exposición a la radiación. Uno o más compuestos radioprotectores se pueden administrar simultáneamente, o distintos compuestos radioprotectores se pueden administrar en distintos momentos.

Cuando se anticipan múltiples exposiciones agudas, los compuestos radioprotectores de la invención se pueden administrar múltiples veces. Por ejemplo, si debe ingresar personal de bomberos o de rescate en áreas contaminadas múltiples veces, los compuestos radioprotectores de la invención se pueden administrar antes de cada exposición. Preferiblemente, un periodo de aproximadamente 24 horas separa la administración del compuesto y la exposición a la radiación. Más preferiblemente, la administración de los compuestos radioprotectores y la exposición a la radiación se separan por aproximadamente 6 a 18 horas. También se contempla que un trabajador de una planta de energía nuclear puede recibir una cantidad eficaz de un compuesto radioprotector de la invención antes de comenzar cada turno, para reducir o eliminar los efectos de la exposición a la radiación ionizante.

Si un individuo se anticipa a la exposición crónica a la radiación ionizante, el compuesto radioprotector puede administrarse periódicamente mientras dure la exposición anticipada. Por ejemplo, un trabajador de una planta de energía nuclear o un soldado que opera un área contaminada con efectos radioactivos puede recibir el compuesto radioprotector cada 24 horas, preferiblemente cada 6 - 18 horas, con el fin de mitigar los efectos del daño por radiación. Asimismo, el compuesto radioprotector se puede administrar periódicamente a civiles que viven en áreas contaminadas por efectos radioactivos hasta que el área es descontaminada o que los civiles son llevados a un ambiente más seguro.

B. Quimioprotección

La dosis específica de un compuesto de acuerdo con la invención para obtener beneficio terapéutico para quimioprotección será determinar por las circunstancias particulares del paciente individual que incluyen la talla, el peso, la edad y el sexo del paciente, el tipo y la dosis de la quimioterapia administrada, la naturaleza, la etapa y el daño celular, y la ruta de administración del compuesto de la invención.

Por ejemplo, se puede utilizar una dosis diaria de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 50 mg/kg/día. Las dosis superiores o inferiores también se contemplan.

Para ofrecer citoprotección contra los efectos citotóxicos de los agentes quimioterapéuticos, el esquema de administración del fármaco citotóxico, es decir, el inhibidor del ciclo celular de la fase mitótica o el inhibidor de topoisomerasa, puede ser cualquier esquema con la salvedad de que el compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administre antes que el fármaco citotóxico. El compuesto citoprotector debe administrarse mucho antes que el fármaco citotóxico de modo tal que el primero sea capaz de llegar a las células normales del paciente en concentración suficiente para ejercer un efecto citoprotector sobre las células normales. Nuevamente, la farmacocinética de un fármaco individual y los niveles sanguíneos de un fármaco específico en un paciente específico son factores que pueden determinarse por métodos conocidos en la técnica.

El compuesto citoprotector se administra por lo menos aproximadamente 1 hora, preferiblemente por lo menos aproximadamente 2 horas y más preferiblemente por lo menos aproximadamente 4 horas, antes de la administración del fármaco citotóxico. El compuesto se puede administrar con tanta frecuencia como aproximadamente 48 horas, preferiblemente no más de aproximadamente 36 horas, antes de la administración del fármaco citotóxico. Lo más preferiblemente, el compuesto se administra aproximadamente 24 horas antes del fármaco citotóxico. El compuesto se puede administrar más o menos de 24 horas antes del efecto citotóxico, pero el efecto protector de los compuestos es mayor que cuando se administran aproximadamente 24 horas antes del fármaco citotóxico. Se pueden administrar uno o más fármacos citotóxicos. De modo similar, se pueden combinar uno o más de los compuestos de Fórmula I.

Cuando el fármaco o los fármacos citotóxicos se administran en un modo serial, puede resultar práctico intercalar los compuestos de la invención dentro del esquema con la salvedad de que el periodo de 4-48 horas, preferiblemente un periodo de 12-36 horas, lo más preferiblemente un periodo de 24 horas, separa la administración de los tipos de fármacos. Esta estrategia proporcionará la erradicación parcial o completa de los efectos colaterales citotóxicos del fármaco sin afectar la actividad antineoplásica.

Por ejemplo, el inhibidor mitótico puede administrarse todos los días, o cada cuatro días o incluso cada veintidós días. El compuesto de acuerdo con la Fórmula I se puede administrar 24 horas antes de cada tanda de administración del inhibidor, tanto como agente citoprotector como agente antineoplásico.

Los compuestos de la invención se pueden administrar para efecto terapéutico mediante cualquier ruta, por ejemplo administración enteral (p. ej., oral, rectal, intranasal, etc.) y parenteral. La administración parenteral incluye, por ejemplo, la administración intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, intravaginal, intravesical (p. ej., en la vejiga), intradérmica, tópica, subcutánea o sublingual. También se contempla la instilación del fármaco en el cuerpo del paciente en una formulación controlada, en donde la liberación sistémica o local del fármaco ocurre en un momento posterior. Para uso antineoplásico, el fármaco puede localizarse en un depósito para la liberación

controlada a la circulación, o a un sitio local de crecimiento de tumores. Cuando se administra más de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o cuando se administran uno o más compuestos de Fórmula I además de uno o más fármacos citotóxicos, los compuestos diferentes se pueden administrar por las mismas rutas o por rutas distintas.

IX. Composiciones farmacéuticas

- 5 Los compuestos y conjugados de la invención se pueden administrar en la forma de una composición farmacéutica, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable. El ingrediente activo en dichas formulaciones puede comprender entre 0,1 y 99,99 por ciento en peso. Por "vehículo farmacéuticamente aceptable" se entiende cualquier vehículo, diluyente o excipiente que sea compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor.
- 10 El agente activo preferiblemente se administra con un vehículo farmacéuticamente aceptable seleccionado en base a la ruta de administración seleccionada y a la práctica farmacéutica estándar. El agente activo se puede formular en formas de dosificación de acuerdo con las prácticas estándar en el campo de preparaciones farmacéuticas. Véase Alphonso Gennaro, ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA. Las formas de dosificación adecuadas pueden comprender, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, disoluciones parenterales, grageas, supositorios o suspensiones.
- 15

Para administración parenteral, el agente activo se puede mezclar con un vehículo o diluyente adecuado tal como agua, un aceite (particularmente un aceite vegetal), etanol, disolución salina, dextrosa acuosa (glucosa) y disoluciones de azúcar relacionadas, glicerol, o un glicol tal como propilenglicol o polietilenglicol. Las disoluciones para administración parenteral preferiblemente contienen una sal soluble en agua del agente activo. También se pueden añadir agentes estabilizantes, agentes antioxidantes y conservantes. Los agentes antioxidantes adecuados incluyen sulfito, ácido ascórbico, ácido cítrico y sus sales, y EDTA sódico. Los conservantes adecuados incluyen cloruro de benzalconio, metil o propil parabeno y clorbutanol. La composición para administración parenteral puede tomar la forma de una disolución acuosa o no acuosa, dispersión, suspensión o emulsión.

20

Para administración oral, el agente activo se puede combinar con uno o más ingredientes inactivos sólidos para la preparación de comprimidos, cápsulas, pastillas, polvos, gránulos u otras formas de dosificación oral adecuadas. Por ejemplo, el agente activo se puede combinar con por lo menos un excipiente tal como cargas, aglutinantes, humectantes, agentes desintegrantes, retardantes de disolución, aceleradores de absorción, agentes humectantes, absorbentes o lubricantes. De acuerdo con una realización de comprimidos, el agente activo se puede combinar con carboximetilcelulosa cálcica, estearato de magnesio, manitol y almidón, y luego formarse en comprimidos por métodos de formación de comprimidos convencionales.

25

30

La práctica de la invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Síntesis de (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol (Ejemplo comparativo)

A. 3-*O*-*terc*-Butildimetil sililoxi-4-metoxi benzaldehído.

35 A una disolución enfriada (0° C) de 3-hidroxi-4-metoxi benzaldehído (10 g, 65,7 mmol, 1eq) en DMF seca (75 ml) se le añadió DIPEA (16,99 g, 131,4 mmol, 2 eq). La mezcla se agitó bajo nitrógeno durante 10 min. Se añadió gota a gota una disolución 1,0 M de t-BDMS-Cl en THF (78,9 ml, 1,2 eq) durante 30 min. La mezcla resultante se agitó 12-16 h y se monitoreó por cromatografía en capa fina (TLC). Cuando la reacción se completó, se añadió agua (75 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se extrajo con DCM (3 x 75 ml). La capa orgánica combinada se lavó con disolución saturada de bicarbonato sódico acuoso (75 ml) y agua (75 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para dar el producto bruto. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice y se eluyó con CHCl₃ para dar el producto (Rendimiento; 26,75 g), 3-*O*-*terc*-butildimetil sililoxi-4-metoxi benzaldehído, como un aceite amarillo.

40

B. Alcohol 3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxi bencílico.

45 A una disolución enfriada (0° C) de 3-*O*-*terc*-butildimetil sililoxi-4-metoxi benzaldehído (13 g, 48,8 mmol, 1eq) en metanol (100 ml) bajo nitrógeno, se le añadió borohidruro de sodio (1 eq). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó (30 min) y vigiló por TLC. Cuando la reducción se completó, se añadió agua-hielo a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con agua (50 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para proporcionar un rendimiento del 73.5% del producto deseado, alcohol 3-*O*-*terc*-butildimethylsililoxi-4-metoxi bencílico.

50

C. Cloruro 3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxi bencílico.

A una disolución enfriada (0° C) de alcohol 3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxi bencílico (9,5 g, 35,4 mmol, 1 eq) en benceno (50 ml) bajo nitrógeno, se le añadió cloruro de tionilo (6,32 g, 1,5 eq) disuelto en benceno (5 ml) gota a gota durante 10 min. La mezcla resultante se agitó a 0° C y se vigiló por TLC. Cuando la reacción se completó, se añadió

agua-hielo (50 g) y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con disolución saturada de bicarbonato (50 ml) y agua (50 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para proporcionar un rendimiento cuantitativo del producto, cloruro 3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxi bencilico en la forma de un aceite amarillo.

5 D. Ácido 2-((3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético

A una disolución de hidróxido sódico (2,79 g, 69,7 mmol, 2 eq) en metanol (30 ml) se le añadió ácido mercaptoacético (3,21 g, 34,9 mmol, 1 eq) gota a gota durante 10 min. se añadió cloruro 3-*O*-*terc*-Butildimetilsililoxi-4-metoxi bencilico en porciones a la mezcla de ácido mercaptoacético y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente y se vigiló por TLC. Cuando la reacción se completó, la mezcla de reacción se vertió en hielo (100 ml) que contenía HCl concentrado (exceso basado en hidróxido sódico). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con agua (30 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para dar un rendimiento de 75% del producto deseado ácido 2-((3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético en la forma de un sólido que tiene un punto de fusión de 57-59° C.

E. ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético.

15 A una disolución enfriada (0° C) de ácido 2-((3-*O*-*terc*-butildimetilsililoxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético (8,75 g, 25,5 mmol, 1 eq.) en THF (40 ml) se le añadió gota a gota TBAF (1 eq., 1M en THF). La mezcla resultante se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente y se vigiló por TLC. Cuando la reacción se completó, se añadió agua (40 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 40 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con agua (40 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para proporcionar el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna para dar un rendimiento del 50% del producto purificado, ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético.

F. ácido 3-hidroxi-4-metoxi bencil sulfonacético.

25 A una disolución de ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxibencil)sulfanil)acético (2,9 g) en ácido acético glaciar (15 ml) se le añadió peróxido de hidrógeno (6 ml, disolución al 30%). La mezcla resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y se vigiló por TLC. Cuando la reacción se completó, la mezcla de reacción se vertió en agua con hielo (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con agua (10 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para dar un rendimiento del 60% del producto puro ácido 3-hidroxi-4-metoxi bencil sulfonacético que tiene un punto de fusión de 164-165° C.

G. (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol.

30 Una mezcla del ácido 3-hidroxi-4-metoxi bencil sulfonacético (1,9 g, 7,3 mmol, 1 eq), 2,4,6-trimetoxibenzaldehído (1,58 g, 8,0 mmol, 1,1 eq), ácido benzoico (134 mg, 0,15 eq) y piperidina (81 mg, 0,13 eq) en tolueno (50 ml) se calentó a temperatura de reflujo durante 2-3 h con eliminación continua de agua usando una trampa Dean-Stark. Cuando la reacción se completó según análisis TLC, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió agua y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (50 ml), se diluyó con ácido clorhídrico (50 ml) y agua (50 ml) y se secó (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminaron al vacío para dar el producto bruto, que se purificó por recristalización a partir de isopropanol para dar (1,8 g, 62,5%) del (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol deseado.

Ejemplo 2: (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol (Ejemplo comparativo)

40 A. ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxi-bencil)sulfanil)acético

A una disolución enfriada (-5°C) de ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxi-bencil)sulfanil)acético (2,9 g) en DCM anhidro (15 ml) se le añadió MCPBA (20 mmol, concentración base 50%, Lancaster). La mezcla de reacción se agitó a -5°C durante 6 horas. El ácido 3-clorobenzoico precipitado se eliminó por filtración. El filtrado se lavó con agua, se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró. Después de eliminar el disolvente, el producto ácido 2-((3-hidroxi-4-metoxi-bencil)sulfanil)acético se purifica por cristalización o por cromatografía en gel de sílice.

B. (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol.

50 Una mezcla del ácido 3-hidroxi-4-metoxi bencil sulfonacético (7 mmol, 1eq), 2,4,6-trimetoxibenzaldehído (8,0 mmol, 1,1 eq), ácido benzoico (0,15 eq) y piperidina (0,1 eq) en tolueno (50 ml) se calienta a temperatura de reflujo durante 2-3 h con eliminación continua de agua usando una trampa Dean-Stark. Cuando la reacción se completa según análisis TLC, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añade agua y la mezcla resultante se extrae con acetato de etilo (3 x 50 ml). El extracto orgánico combinado se lava con disolución saturada acuosa de bicarbonato de sodio (50 ml), se diluye con ácido clorhídrico (50 ml) y agua (50 ml) y se seca (Na₂SO₄). Los componentes volátiles se eliminan al vacío para dar el producto bruto, (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol que se purifica por recristalización a partir de isopropanol.

Ejemplo 3: (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dibencil fosfato.

5 A una disolución de 5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxi-fenol (1,9 g, 4,8 mmol) en acetonitrilo (24 ml) a temperatura ambiente, se le añadieron tetrabromuro de carbono (1,94 g, 1,22 eq) y trietilamina (0,728 g, 1,5 eq). La mezcla resultante se agitó durante 10 minutos y luego se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo-agua. Se añadió gota a gota dibencil fosfito (1,51 g, 1,2 eq) disuelto en acetonitrilo (16 ml) a la mezcla de reacción enfriada. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se monitoreó por TLC. La reacción finalizó por adición gota a gota de dihidrógeno fosfato de potasio acuoso (10 ml, 0,5 M). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). El extracto orgánico combinado se secó (Na₂SO₄) y concentró al vacío para dar el producto deseado.

Ejemplo 4: (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato

10 A una disolución agitada de 5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxi-fenil dibencil fosfato (4,36 g, 6,7 mmol) en DCM anhidro (40 ml) bajo nitrógeno a 0° C se le añadió bromotrimetilsilano (2,14 g, 2,1 eq). La mezcla resultante se agitó durante 45 minutos y se vigiló por TLC. Cuando la reacción se completó, se añadió tiosulfato sódico (1%, 50 ml) y la mezcla resultante se agitó durante otros 5 minutos. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). El extracto orgánico combinado se concentró al vacío para dar el 5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato deseado. El producto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice eluida con un gradiente de metanol/cloroformo para dar 1,4 g del producto purificado que tuvo un punto de fusión de 202-205° C

Ejemplo 5: (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato, sal disódica

20 A una disolución agitada de 5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato (1,35 g) en etilenglicol dimetiléter (125 ml) se le añadió hidróxido sódico 2N (2,4 eq). La mezcla resultante se agitó durante 3h, se filtró, se lavó con acetona (2x 25 ml) y se secó al vacío para dar 1,45 g de la sal disódica que tiene un punto de fusión de 152-154° C.

Ejemplo 6: (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dietil fosfato

25 A una disolución de 5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato (1,9 g, 4,8 mmol) en acetonitrilo (24 ml) a temperatura ambiente, se le añadieron tetrabromuro de carbono (1,94 g, 1,22 eq) y trietilamina (0,728 g, 1,5 eq). La mezcla resultante se agitó durante 10 minutos y luego se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo-agua. Se añadió gota a gota dietil fosfito (1,51 g, 1,2 eq) disuelto en acetonitrilo (16 ml) a la mezcla de reacción enfriada. La mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se monitoreó por TLC. La reacción finalizó por adición gota a gota de dihidrógeno fosfato de potasio acuoso (10 ml, 0,5 M). La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 ml). El extracto orgánico combinado se secó (Na₂SO₄) y concentró al vacío para dar el producto deseado.

Ejemplo 7: Efecto de los compuestos de Fórmula I sobre las líneas celulares de tumores

35 El efecto de los compuestos de Fórmula I sobre las células tumorales de origen de próstata, colon, pulmón, páncreas, cerebro, riñón, gastrointestinales, epidérmicas, linfocíticas, ováricas y de mama se examinó utilizando una diversidad de líneas celulares de cáncer (enumeradas en la Tabla 6). Las células se dispusieron en placas a niveles de densidad de 1,0 x 10⁵ células por pocillo en placas de seis pocillos. Los cultivos celulares se mantuvieron a 37°C en una atmósfera humidificada de 5% CO₂.

40 Las células de 36 líneas celulares diferentes se trataron con (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol (Ejemplo 1) o sal disódica de (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxi-fenil dihidrógeno fosfato (Ejemplo 5) en dosis que oscilaban entre concentración 2 nM y 10 nM, y se determinó la viabilidad de las células después de 96 horas por el método de exclusión de azul de tripano. Además, se trataron células DU-145 con tres compuestos adicionales de la presente descripción: (*E*)-4-(3-(5-((2,4,6-trimetoxi-estirilsulfonil)metil)-2-metoxifenoxi)propil)morfolina; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil 2-(dimetilamino)acetato; y (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil 4-metilbencenosulfonato, cuyas estructuras se exponen en la Tabla 7.

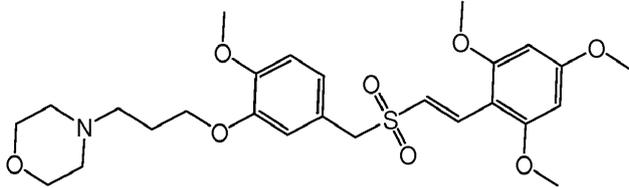
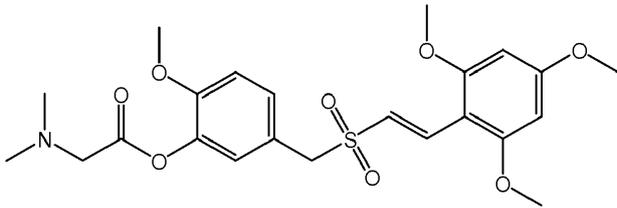
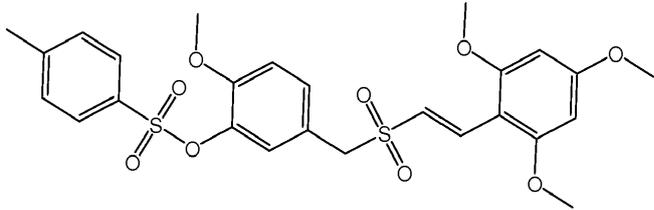
45 Los resultados se exponen en la Tabla 6 y en la Tabla 7. Los valores se indican como GI₅₀, es decir, la concentración (µM) requerida para la inhibición de 50% del crecimiento en comparación con las células tratadas con vehículo (DMSO). Las notaciones "ER+" y "ER-" designan líneas de cáncer de mama que son sensibles y no sensibles a los estrógenos, respectivamente. Las notaciones "AR+" y "AR-" designan líneas de cáncer de mama que son sensibles y no sensibles a los andrógenos, respectivamente. La notación "NT" indica que el compuesto no se ensayó en esa línea celular en particular. Para las líneas celulares designadas por "**", la curva de dosis y respuesta para el compuesto (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenol (Ejemplo 1) se expone en la Figura 1.

Tabla 6:

Línea celular	Tipo de tumor	Compuesto del Ejemplo 1 GI ₅₀ (μM)	Compuesto del Ejemplo 5 GI ₅₀ (μM)
BT20	Mama (Er-)	0,08	0,008
T47D	Mama (Er+)	0,01	No realizado
MCF-7	Mama (Er+)	0,01	No realizado
DU145	Próstata (Ar-)	0,005	0,005
LNCAP	Próstata (Ar+)	0,01	No realizado
PC-3	Próstata (Ar+)	0,005	No realizado
OV-CAR-3	Ovario	0,03	No realizado
Sk-OV-3 *	Ovario	0,004	No realizado
MIA-PACA2	Páncreas	0,003	0,004
U87	Glioblastoma	0,007	0,009
H157	Nsclc	0,007	0,012
A549	Nsclc	0,01	0,02
H187 *	Sclc	0,003	No realizado
N417	Sclc	0,003	0,004
AGS	Gástrico	0,005	0,009
RF1	Gástrico	0,003	No realizado
R48 *	Gástrico	0,001	No realizado
CAKI-2	Renal	0,006	No realizado
COLO-320	Colorrectal	0,003	No realizado
DLD-1	Colorrectal	0,007	0,012
HCT-116	Colorrectal	0,006	No realizado
HCT-15	Colorrectal	0,007	0,012
SW480 *	Colorrectal	0,005	No realizado
SK-MEL-28	Melanoma	0,007	0,012
CEM *	Leucemia	0,004	No realizado
K562	Cml	0,004	No realizado

Línea celular	Tipo de tumor	Compuesto del Ejemplo 1 GI ₅₀ (μM)	Compuesto del Ejemplo 5 GI ₅₀ (μM)
MOLT-4	T-linfoblástico: todo	0,003	No realizado
Namalwa *	Linfoma de Burkitt (célula B)	0,003	No realizado
Daudi	Linfoma de Burkitt (célula B)	0,003	No realizado
Raji	Linfoma de Burkitt (célula B)	0,001	No realizado
Mes-Sa	Sarcoma	0,005	No realizado
Mes-Sa/Dx5	Sarcoma resistente	0,005	No realizado
Cem	Leucemia	0,004	No realizado
Cem/C2	Leucemia resistente	0,003	No realizado
2008	Ovario	0,005	No realizado
2008/17/4	Ovario resistente	0,006	No realizado

Tabla 7:

Nombre del compuesto y estructura	DU-145 GI ₅₀ (μM)
 <p>(E)-4-(3-(5-((2,4,6-trimethoxystyrylsulfonyl)methyl)-2-metoxifenoxi)propil)morfolina</p>	> 10
 <p>(E)-5-((2,4,6-trimethoxystyrylsulfonyl)metil)-2-metoxifenil 2-(dimetilamino)acetato</p>	0,004-0,01
 <p>(E)-5-((2,4,6-trimethoxystyrylsulfonyl)metil)-2-metoxifenil 4-metilbencenosulfonato</p>	> 1

Ejemplo 8: Efecto radioprotector de los compuestos de Fórmula I sobre células humanas normales cultivadas:

El efecto radioprotector de los compuestos de Fórmula I sobre células normales cultivadas se evalúa de la siguiente manera.

5 Las células HFL-1 se disponen en placas de 24 pocillos a una densidad de 3000 células por 10 mm² en DMEM completado con 10% suero bovino fetal y antibióticos. Un compuesto de ensayo de acuerdo con la Fórmula I se añade a las células 24 horas después a concentraciones de 0,25, 0,5, 1,0 y 2,0 micromolares, usando DMSO como disolvente. Las células control se tratan con DMSO solo. Las células se exponen al compuesto de ensayo o DMSO durante 24 horas. Las células luego se irradian con 10 Gy o 15 Gy de radiación ionizante (IR) usando un irradiador J.L. Shepherd Mark I, Modelo 30-1 equipado con cesio-137 como fuente

10 Después de la irradiación, el medio en las células de ensayo y control se elimina y reemplaza con medio de desarrollo nuevo sin los compuestos de ensayo o DMSO. Las células irradiadas se incuban durante 96 horas y los pocillos duplicados se tripsinan y se vuelven a disponer en placas de cultivo de tejido de 100 mm². Las células nuevamente dispuestas en placas se desarrollan bajo condiciones normales con un cambio de medio nuevo durante 15 3 semanas. El número de colonias de cada placa de cultivo de 100 mm², que representa el número de células sobrevivientes, se determina manchando las placas como se describe a continuación.

20 Para visualizar y contar las colonias derivadas del crecimiento clonal excesivo de las células radioprotectadas individuales, el medio se elimina y las placas se lavan una vez con disolución salina tamponada con fosfato a temperatura ambiente. Las células se tiñen con una disolución de tinte diluida 1:10 Modified Giemsa (Sigma) durante 20 minutos. Se quita el tinte y las placas se lavan con agua corriente. Las placas se secan al aire, se cuenta el número de colonias de cada placa y se determina el promedio de las placas duplicadas.

Ejemplo 9: Efecto de la exposición a la radiación ionizante sobre el desarrollo de células progenitoras hematopoyéticas normales y malignas después del pretratamiento con los compuestos de la invención

25 El efecto de la radiación ionizante sobre las células progenitoras hematopoyéticas normales y malignas que se pretratan con los compuestos de la invención se determina evaluando la eficiencia de clonación y el desarrollo de células pretratadas después de la irradiación.

30 Para obtener células progenitoras hematopoyéticas, se obtienen células de médula ósea humana (BMC) o células de sangre periférica (PB) de voluntarios sanos, o con leucemia mielógena aguda o crónica (AML, CML), por centrifugación en gradiente de densidad Ficoll-Hypaque, y se enriquecen parcialmente para las células progenitoras hematopoyéticas seleccionando positivamente células CD34⁺ con perlas inmunomagnéticas (DynaL A.S., Oslo, Noruega). Las células CD34⁺ se suspenden en medio alfa enriquecido y se incuban con anticuerpo anti-HPCA-I de ratón en una dilución 1:20, 45 minutos, a 4°C invirtiendo moderadamente los tubos. Las células se lavan x 3 en medio alfa enriquecido, y luego se incuban con perlas recubiertas con el fragmento Fc de IgG₁ antirratón de cabra (75 µl de inmunoperlas/107 células CD34⁺). Después de 45 minutos de incubación (4°C), las células adherentes a las perlas se seleccionan positivamente usando un concentrador de partículas magnético según las instrucciones del fabricante.

40 Se incuban 2 x 10⁴ células CD34⁺ en tubos de polipropileno de 5 ml (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) en un volumen total de 0,4 ml de medio de Dulbecco modificado de Iscove (IMDM) que contenía 2% suero AB humano y tampón Hepes 10 mM. Los compuestos de ensayo de Fórmula I se añaden a las células; en cuatro concentraciones diferentes (0,25 µM, 0,5 µM, 1,0 µM y 2,0 µM). Las células control reciben DMSO solo. Las células se incuban durante 20-24 horas y se irradian con 5 Gy o 10 Gy de radiación ionizante.

45 Inmediatamente después de la irradiación, el medio se elimina y se reemplaza con medio nuevo sin el compuesto de ensayo ni DMSO. Veinticuatro horas después de la irradiación, el tratamiento y las células control se preparan para disponer en placas en cultivos de metilcelulosa o coágulos de plasma. Las células (1 x 10⁴ células CD34⁺ por plato) no se lavan antes de disponer en las placas.

La evaluación de la eficiencia de la clonación y el desarrollo de células progenitoras hematopoyéticas tratadas se llevan a cabo esencialmente como se indica en Gewirtz et al., Science 242, 1303-1306 (1988).

Ejemplo 10: Purga de médula ósea con radiación ionizante después del pretratamiento con los compuestos de la invención.

5 Se cosecha la médula ósea de los huesos ilíacos de un individuo bajo anestesia general en un quirófano usando condiciones estándar. Se recogen múltiples aspiraciones en jeringas heparinizadas. Se extrae suficiente médula para que el individuo pueda recibir aproximadamente 4×10^8 a aproximadamente 8×10^8 células de médula procesadas por kg de peso corporal. Por lo tanto, se extraen aproximadamente 750 a 1000 ml de médula. La médula aspirada se transfiere inmediatamente a un medio de transporte (TC-199, Gibco, Grand Island, Nueva York) que contiene 10.000 unidades de heparina sin conservantes por 100 ml de medio. La médula aspirada se filtra a través de tres mallas progresivamente más finas para obtener una suspensión celular libre de agregados celulares, sedimentos y partículas óseas. La médula filtrada luego se procesa en un separador celular automático (p. ej., procesador celular Cobe 2991) que prepara un producto de "capa leucocítica", (es decir, leucocitos desprovistos de glóbulos rojos y plaquetas). La preparación de la capa leucocítica luego se dispone en un paquete de transferencia para posterior procesamiento y almacenamiento. Se puede conservar hasta su purga en nitrógeno líquido usando procedimientos estándar. Alternativamente, la purga se puede llevar a cabo inmediatamente, luego la médula purgada puede almacenarse congelada en nitrógeno líquido hasta que esté lista para trasplante.

10 El procedimiento de purga se lleva a cabo de la siguiente manera. Las células en la preparación de la capa leucocítica se ajustan hasta una concentración celular de aproximadamente 2×10^7 /ml en TC-199 que contiene aproximadamente 20% plasma autólogo. Los compuestos de la invención, por ejemplo, a concentraciones de 0,25 μ M a 2,0 μ M se añaden a los paquetes de transferencia que contienen la suspensión celular y se incuban en un baño de agua a 37° C durante 20-24 horas con agitación moderada. Los paquetes de transferencia se exponen luego a 5-10 Gy de radiación ionizante. Los factores de crecimiento hematopoyético humanos, p. ej., rH IL-3 o rH GM-CSF, se pueden añadir a la suspensión para estimular el crecimiento de neoplasias hematopoyéticas y aumentar así su sensibilidad a la radiación ionizante.

20 Las células luego se congelan en nitrógeno líquido o se lavan una vez a 4°C en TC-199 que contiene aproximadamente 20% plasma autólogo. Las células lavadas luego se infunden en el individuo. Se debe tomar la precaución de trabajar bajo condiciones estériles siempre que sea posible y mantener técnicas asépticas escrupulosas en todo momento.

Ejemplo 11: Protección de fibroblastos humanos normales contra citotoxicidad con paclitaxel por compuestos de Fórmula I.

30 Las células de HFL-1 se disponen en placas a una densidad celular de $1,0 \times 10^5$ por pocillo 24 horas antes de la adición del fármaco. Las células se pretratan con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I (2,0 μ M) durante 8 horas y luego se exponen a paclitaxel (250 μ M). Otras células se tratan con paclitaxel solo, o con ambos agentes simultáneamente. Las células se enumeran por exclusión de azul de tripano usando un hematocitómetro 96 horas después de la exposición a paclitaxel. La actividad citoprotectora se puede comparar comparando el número de células viables después del tratamiento con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y paclitaxel, dividido por el número de células viables que permanecen después del tratamiento con paclitaxel solo.

Ejemplo 12: Protección de fibroblastos humanos normales contra citotoxicidad del agente antineoplásico.

40 Las células HFL-1 se disponen en placas a una densidad celular de $1,0 \times 10^5$ en 1 ml de medio. Veinticuatro horas después de disponer en las placas, se añaden al medio 2,0 μ M de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. Después de una preincubación de 24 horas con el compuesto de acuerdo con la Fórmula I, los diversos agentes citotóxicos seleccionados de la lista de la Tabla 8 se añaden a los pocillos.

45 El número de células viables se determina por exclusión de azul de tripano usando un hematocitómetro 96 horas después de la exposición al agente citotóxico. La "relación de protección" es el número de células viables después del tratamiento con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y el agente citotóxico seleccionado, dividido por el número de células viables que permanecen después del tratamiento con el agente citotóxico solo. Una relación de protección de 2 o más se considera altamente significativa, mientras que una relación de protección de 1,5-2 se considera menos significativa.

Tabla 8:

Fármaco	Concentración terapéutica (μ M)	Mecanismo de acción
paclitaxel	0,25	antimitótico
vincristina	0,25	antimitótico
camptotecina	0,5	inhibidor de topoisomerasa I

Fármaco	Concentración terapéutica (μM)	Mecanismo de acción
etopósido	3,0	inhibidor de topoisomerasa II
mitoxantrona	0,3	inhibidor de topoisomerasa II
doxorrubicina	0,4	inhibidor de topoisomerasa II
5-fluorouracil	20	antimetabolito de ADN
cisplatino	5,0	agente alquilante

Ejemplo 13: Protección de fibroblastos humanos normales contra citotoxicidad con vincristina por compuestos de Fórmula I.

- 5 Se trataron las células HFL-1 con vincristina 0-250 μM y, opcionalmente, una preparación 2,0 μM de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o bien 24 horas antes o después del tratamiento con vincristina, o simultáneamente con el tratamiento con vincristina. La viabilidad celular se evalúa 96 horas después de la adición de vincristina.

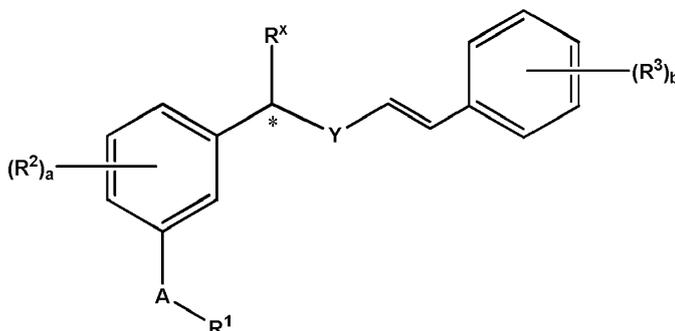
Ejemplo 14: Protección de ratones contra toxicidad con paclitaxel usando los compuestos de Fórmula I.

- 10 Ratones ICR hembra de 10-12 semanas de vida (Taconic) se dividen en los siguientes grupos de tratamiento y reciben inyecciones intraperitoneales de 50 mg/Kg de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, disuelto en DMSO y/o 150 mg/kg paclitaxel (Taxol, Sigma Chemical Co.) disuelto en DMSO. El compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administra 24 horas antes del paclitaxel, 4 horas antes del paclitaxel o simultáneamente con el paclitaxel. Los animales control reciben paclitaxel solo o un compuesto de acuerdo con la Fórmula I solo. La mortalidad se evalúa 48 y 144 horas después de la inyección de paclitaxel.

- 15 La presente invención se puede realizar en otras formas específicas sin desviarse de sus atributos esenciales y, por consiguiente, se debe hacer referencia a las reivindicaciones anejas, en lugar de la memoria anterior, como indicación del alcance de la invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la fórmula:



en donde:

5 A es -S- u -O-;

R¹ es -P(=O)(OR^v)₂;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en H e -hidrocarbilo (C₁-C₇);

10 cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -alquilo (C₁-C₆), -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)=(NH), -CH₂C(=O)NH₂, -CH₂COOH, -(CH₂)₂COOH, arilo sustituido y no sustituido, aril-alquilo (C₁-C₃) en donde el grupo arilo es heterociclilo opcionalmente sustituido, sustituido y no sustituido, y heterociclil-alquilo (C₁-C₃) sustituido y no sustituido;

cada Rⁿ se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -CO₂R^v y -C(=O)NR^v₂;

15 cada R² y R³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C₁-C₇), -C(=O)R^v, -NR^v₂, -NHC(=O)R^v, -NHSO₂R^v, -NHR^a, -NHCR^vR^aC(=O)Rⁿ, -NHSO₂R^v, -C(=O)OR^v, -C(=O)NHR^v, -NO₂, -CN, -OR^v, -P(=O)(OR^v)₂, -C(=NH)NH₂, dimetilamino-alcoxi (C₂-C₆), -NHC(=NR^v)NHR^v, -haloalquilo (C₁-C₆) y -haloalcoxi (C₁-C₆);

20 los dos grupos R^v en -P(=O)(OR^v)₂ y -NR^v₂ pueden opcionalmente formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, que puede además opcionalmente estar condensado a un anillo arilo o carbocíclico;

a es 0, 1, 2 o 3;

b es 0, 1, 2 o 3;

Y es -S(=O)- o -SO₂-;

R^x se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo (C₁-C₆) y -C(=O)-alquilo (C₁-C₆); y

25 * indica que, cuando R^x es distinto de -H, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es (R)-, (S)- o cualquier mezcla de (R)- y (S)-, o una sal de dicho compuesto;

en donde el doble enlace carbono-carbono exocíclico está en la configuración (E);

en donde el término alquilo por sí mismo o como parte de otro radical significa un radical hidrocarbonado saturado e incluye grupos de cadena lineal, ramificada y cíclicos;

30 el término alcoxi, solo o en combinación con otro término, significa un grupo alquilo conectado al resto de la molécula a la que está unido mediante un átomo de oxígeno; y

35 el término "heterociclilo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un sistema de anillo no sustituido o sustituido, estable, mono- o multicíclico que consiste en átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O y S, y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o su sal, en donde la suma de a y b es por lo menos 2.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o su sal, en donde R^x es -H.

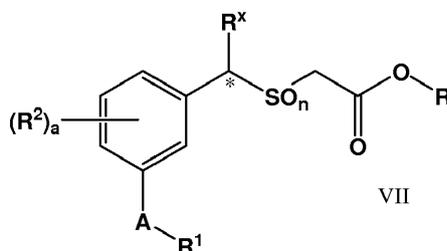
4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dihidrógeno fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dimetil fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dietil fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dibencil fosforotioato; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil-fenil dihidrógeno fosfato; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dimetil fosfato; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dietil fosfato; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dibencil fosfato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestiril-sulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dihidrógeno fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dimetil fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxi-estiril-sulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dietil fosforotioato; (*E*)-*S*-5-((2,4,6-trimetoxi-estirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil-*O,O*-dibencil fosforotioato; y sus sales.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 que es (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dihidrógeno fosfato, o sus sales.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 que es una sal disódica.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxi-fenil dimetil fosfato; (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dietil fosfato; y (*E*)-5-((2,4,6-trimetoxiestirilsulfonil)metil)-2-metoxifenil dibencil fosfato.

8. Un compuesto de acuerdo con la fórmula VII:



en donde:

20 n es 1 o 2;

R es -H o -alquilo (C_1 - C_6);

A es -S- u -O-;

R^1 es -P(=O)(OR^v)₂;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en H e -hidrocarbilo (C_1 - C_7);

25 cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -alquilo (C_1 - C_6), -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)=(NH), -CH₂C(=O)NH₂, -CH₂COOH, -(CH₂)₂COOH, arilo sustituido y no sustituido, aril-alquilo (C_1 - C_3) en donde el grupo arilo es heterociclilo opcionalmente sustituido, sustituido y no sustituido, y heterociclil-alquilo (C_1 - C_3) sustituido y no sustituido;

30 cada R^n se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -CO₂R^v y -C(=O)NR^v₂;

cada R^2 se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C_1 - C_7), -C(=O)R^v, -NR^v₂, -NHC(=O)R^v, -NHSO₂R^v, -NHR^a, -NHCR^vR^aC(=O)Rⁿ, -NHSO₂R^v, -C(=O)OR^v, -C(=O)NHR^v, -NO₂, -CN, -OR^v, -P(=O)(OR^v)₂, -C(=NH)NH₂, dimetilamino-alcoxi (C_2 - C_6), -NHC(=NR^v)NHR^v, -haloalquilo (C_1 - C_6) y -haloalcoxi (C_1 - C_6);

35 los dos grupos R^v en -P(=O)(OR^v)₂ y -NR^v₂ pueden opcionalmente formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, que puede además opcionalmente estar condensado a un anillo arilo o carbocíclico;

a es 0, 1, 2 o 3;

R^x se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo (C_1 - C_6) y -C(=O)-alquilo (C_1 - C_6); y

40 * indica que, cuando R^x es distinto de -H, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es (*R*-), (*S*-) o cualquier mezcla de (*R*-) y (*S*-), o una sal de dicho compuesto;

en donde el término alquilo por sí mismo o como parte de otro radical significa un radical hidrocarbonado saturado e incluye grupos de cadena lineal, ramificada y cíclicos;

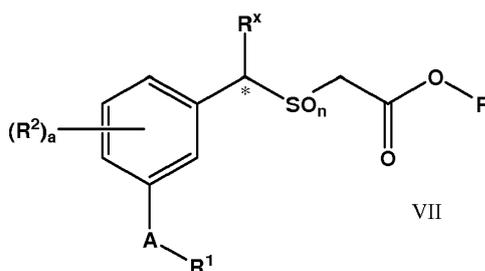
el término alcoxi, solo o en combinación con otro término, significa un grupo alquilo conectado al resto de la molécula a la que está unido mediante un átomo de oxígeno; y

el término "heterociclilo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un sistema de anillo no sustituido o sustituido, estable, mono- o multicíclico que consiste en átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O y S, y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado.

9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, seleccionado del grupo que consiste en O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dihidrógeno fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dimetil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dietil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dimetil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dietil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dibencil fosforotioato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dihidrógeno fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dimetil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dietil fosfato; O-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil dibencil fosfato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dihidrógeno fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dimetil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dietil fosforotioato; S-2-metoxi-5-(carboximetilsulfinilmetil)fenil-O,O-dibencil fosforotioato; y sus sales.

10. Un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal de dicho compuesto; que comprende las etapas de:

(a) someter a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula VII:



en donde:

n es 1 o 2;

R es -H;

A es -S- u -O-;

R¹ es -P(=O)(OR^v)₂;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en H e -hidrocarbilo (C₁-C₇);

cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -alquilo (C₁-C₆), -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)(=NH), -CH₂C(=O)NH₂, -CH₂COOH, -(CH₂)₂COOH, arilo sustituido y no sustituido, aril-alquilo (C₁-C₃) en donde el grupo arilo es heterociclilo opcionalmente sustituido, sustituido y no sustituido, y heterociclil-alquilo (C₁-C₃) sustituido y no sustituido;

cada Rⁿ se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OR^v, -NR^v₂, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en -CO₂R^v y -C(=O)NR^v₂;

cada R² se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C₁-C₇), -C(=O)R^v, -NR^v₂, -NHC(=O)R^v, -NHSO₂R^v, -NHR^a, -NHCR^vR^aC(=O)Rⁿ, -NHSO₂R^v, -C(=O)OR^v, -C(=O)NHR^v, -NO₂, -CN, -OR^v, -P(=O)(OR^v)₂, -C(=NH)NH₂, dimetilamino-alcoxi (C₂-C₆), -NHC(=NR^v)NHR^v, -haloalquilo (C₁-C₆) y -haloalcoxi (C₁-C₆);

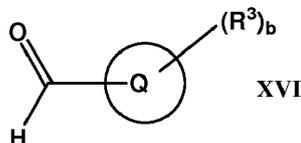
los dos grupos R^v en -P(=O)(OR^v)₂ y -NR^v₂ pueden opcionalmente formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, que puede además opcionalmente estar condensado a un anillo arilo o carbocíclico;

a es 0, 1, 2 o 3;

R^x se selecciona del grupo que consiste en -H, -alquilo (C₁-C₆) y -C(=O)-alquilo (C₁-C₆); y

* indica que, cuando R^x es distinto de -H, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es R-, S- o cualquier mezcla de R- y S-, o una sal de dicho compuesto;

con un compuesto de acuerdo con la Fórmula XVI:



5 en donde:

Q es fenilo;

10 cada R^3 se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C_1-C_7), $-C(=O)R^v$, $-NR^v_2$, $-NHC(=O)R^v$, $-NHSO_2R^v$, $-NHR^a$, $-NHCR^vR^aC(=O)R^n$, $-NHSO_2R^v$, $-C(=O)OR^v$, $-C(=O)NHR^v$, $-NO_2$, $-CN$, $-OR^v$, $-P(=O)(OR^v)_2$, $-C(=NH)NH_2$, dimetilamino-alcoxi (C_2-C_6), $-NHC(=NR^v)NHR^v$, -haloalquilo (C_1-C_6) y -haloalcoxi (C_1-C_6); y

b es 0, 1, 2 o 3; y

(b) aislando un compuesto según la reivindicación 1, o su sal, de los productos de reacción.

en donde el término alquilo por sí mismo o como parte de otro radical significa un radical hidrocarbonado saturado e incluye grupos de cadena lineal, ramificada y cíclicos;

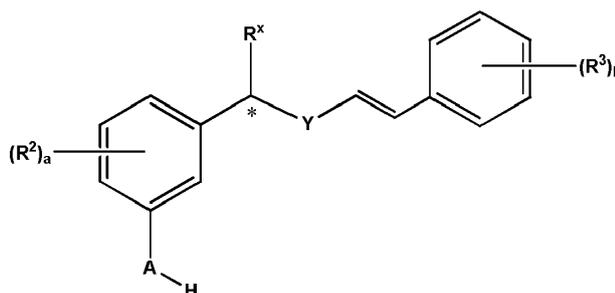
15 el término alcoxi, solo o en combinación con otro término, significa un grupo alquilo conectado al resto de la molécula a la que está unido mediante un átomo de oxígeno; y

20 el término "heterociclilo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un sistema de anillo no sustituido o sustituido, estable, mono- o multicíclico que consiste en átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O y S, y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado.

11. Un procedimiento para preparar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R^1 es $-P(=O)(O-$ hidrocarbilo (C_1-C_7))₂;

que comprende las etapas de:

(a) someter a reacción un compuesto de acuerdo con la fórmula:



25

en donde:

A es -S- u -O-;

cada R^v se selecciona independientemente del grupo que consiste en H e -hidrocarbilo (C_1-C_7);

30 cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en -H, -alquilo (C_1-C_6), $-(CH_2)_3-NH-C(NH_2)(=NH)$, $-CH_2C(=O)NH_2$, $-CH_2COOH$, $-(CH_2)_2COOH$, arilo sustituido y no sustituido, aril-alquilo (C_1-C_3) en donde el grupo arilo es heterociclilo opcionalmente sustituido, sustituido y no sustituido, y heterociclil-alquilo (C_1-C_3) sustituido y no sustituido;

35 cada R^n se selecciona independientemente del grupo que consiste en $-OR^v$, $-NR^v_2$, y un residuo peptídico unido terminalmente en N que contiene entre 1 y 3 aminoácidos en los que el grupo carboxilo terminal del residuo peptídico está presente como un grupo funcional seleccionado del grupo que consiste en $-CO_2R^v$ y $-C(=O)NR^v_2$;

cada R^2 y R^3 se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, -hidrocarbilo (C_1-C_7), - $C(=O)R^v$, $-NR^v_2$, $-NHC(=O)R^v$, $-NHSO_2R^v$, $-NHR^a$, $-NHCR^vR^aC(=O)R^n$, $-NHSO_2R^v$, $-C(=O)OR^v$, $-C(=O)NHR^v$, $-NO_2$, $-CN$, $-OR^v$, $-P(=O)(OR^v)_2$, $-C(=NH)NH_2$, dimetilamino-alcoxi (C_2-C_6), $-NHC(=NR^v)NHR^v$, -haloalquilo (C_1-C_6) y -haloalcoxi (C_1-C_6);

5 los dos grupos R^v en $-NR^v_2$ pueden opcionalmente formar un anillo heterocíclico de cinco o seis miembros, que puede además opcionalmente estar condensado a un anillo arilo o carbocíclico;

a es 0, 1, 2 o 3;

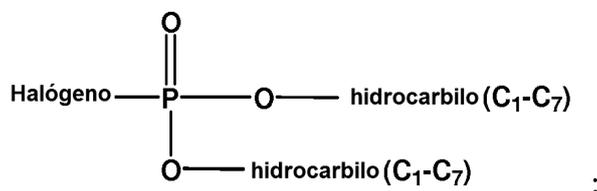
b es 0, 1, 2 o 3;

Y es $-S(=O)-$ o $-SO_2-$;

10 R^x se selecciona del grupo que consiste en $-H$, -alquilo (C_1-C_6) y $-C(=O)$ -alquilo (C_1-C_6); y

* indica que, cuando R^x es distinto de $-H$, la configuración de los sustituyentes en el átomo de carbono designado es (*R*)-, (*S*)- o cualquier mezcla de (*R*)- y (*S*)-, o una sal de dicho compuesto;

con un haluro dihidrocarbilsfosfitilo de la Fórmula:



15 y

(b) aislar de los productos de reacción un compuesto según la reivindicación 1 en donde R^1 es $-P(=O)(O\text{-hidrocarbilo } (C_1-C_7))_2$;

en donde el término alquilo por sí mismo o como parte de otro radical significa un radical hidrocarbonado saturado e incluye grupos de cadena lineal, ramificada y cíclicos;

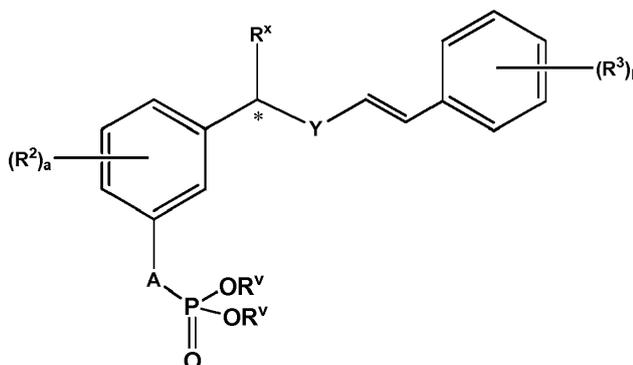
20 el término alcoxi, solo o en combinación con otro término, significa un grupo alquilo conectado al resto de la molécula a la que está unido mediante un átomo de oxígeno; y

el término "heterociclilo" o "heterociclilo" o "heterocíclico" por sí mismo o como parte de otro sustituyente significa un sistema de anillo no sustituido o sustituido, estable, mono- o multicíclico que consiste en átomos de carbono y por lo menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en N, O y S, y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado.

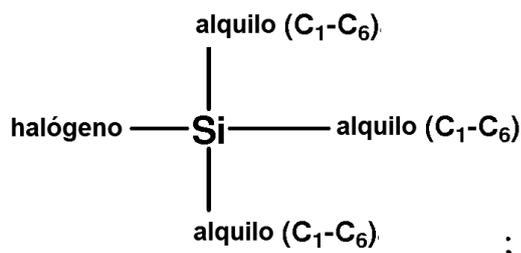
25 12. Un procedimiento para preparar un compuesto según la reivindicación 1 o una sal de dicho compuesto, en donde R^1 es $-P(=O)(OH)_2$;

que comprende las etapas de:

(a) someter a reacción un compuesto de acuerdo con la Fórmula:



30 en donde R^2 , R^3 , A, R^x , Y, a y b son como se han definido en la reivindicación 1 y R^v es -hidrocarbilo (C_1-C_7), con un haloalquilo silano de la Fórmula:



y

(b) aislar de los productos de reacción un compuesto según la reivindicación 1, en donde R^2 , R^3 , A, R^2 , Y, a y b son como se han definido en la reivindicación 1; y R^1 es $-P(=O)(OH)_2$; o su sal.

5 13. Un conjugado de la Fórmula, I-L-Ab;

en donde:

I es un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7;

Ab es un anticuerpo; y

10 -L- es un enlace sencillo covalente o un grupo enlazador que enlaza covalentemente dicho compuesto a dicho anticuerpo.

14. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su conjugado de acuerdo con la reivindicación 13.

15 15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o su sal farmacéuticamente aceptable, o un conjugado de acuerdo con la reivindicación 13 para uso en medicina.

16. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o su sal farmacéuticamente aceptable, o su conjugado de acuerdo con la reivindicación 13 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno proliferativo.

17. El uso de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el trastorno proliferativo es cáncer.

20 18. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, o su sal farmacéuticamente aceptable, para la elaboración de un medicamento para reducir o eliminar los efectos de la radiación ionizante sobre las células normales en un individuo que ha incurrido o que conlleva riesgo de incurrir en exposición a la radiación ionizante.

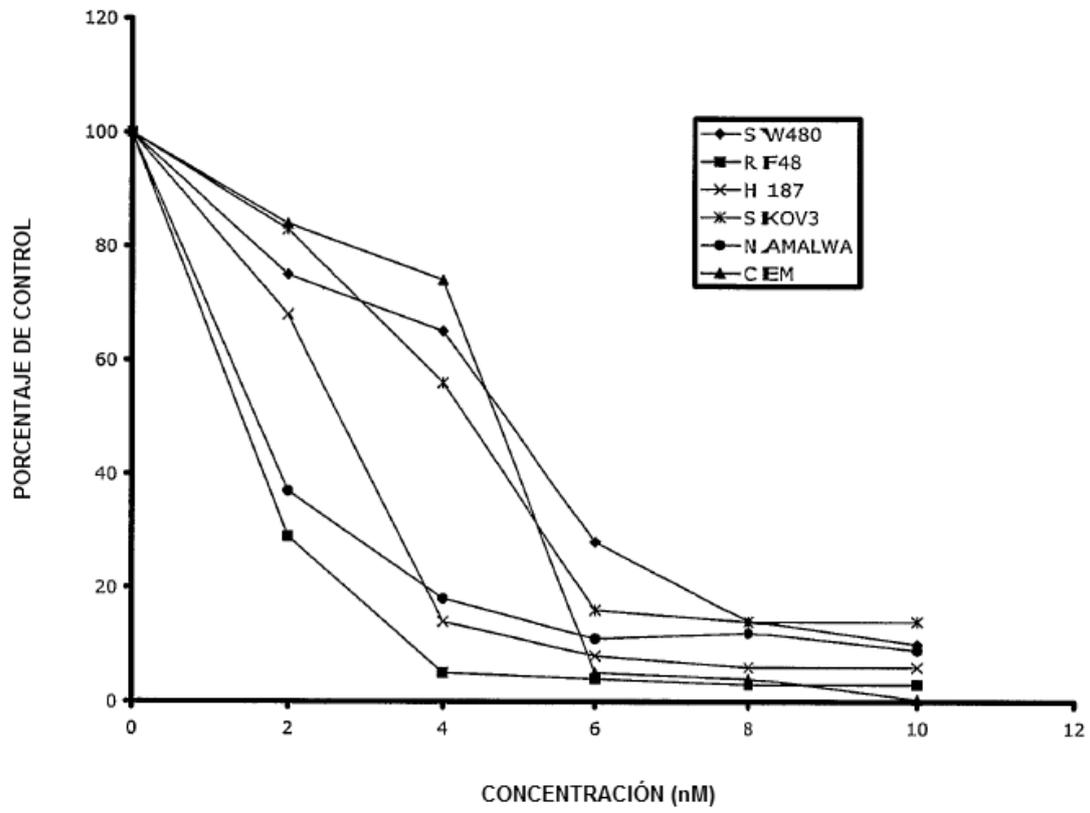


Figura 1