

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 090**

51 Int. Cl.:

**A61K 47/48** (2006.01)

**C07C 237/00** (2006.01)

**C07C 233/00** (2006.01)

**C07D 491/22** (2006.01)

**A61K 31/27** (2006.01)

**A61K 31/4745** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.06.2011 PCT/IL2011/000425**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.12.2011 WO2011151824**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.06.2011 E 11789347 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2575766**

54 Título: **Nuevos compuestos farmacéuticos**

30 Prioridad:

**01.06.2010 US 791364**

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

**09.06.2017**

73 Titular/es:

**APOSENSE LTD. (100.0%)  
5-7 Ha'Odem Street Kiryat Matalon  
49170 Petach-tikva, IL**

72 Inventor/es:

**ZIV, ILAN y  
GRIMBERG, HAGIT**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**Observaciones :**

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

ES 2 616 090 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**

Nuevos compuestos farmacéuticos

**Campo de la invención**

5 La invención se refiere al campo de la terapia con fármacos para trastornos médicos. Específicamente, la invención se refiere a nuevos compuestos y composiciones farmacéuticas que pueden utilizarse en la práctica médica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer.

**Antecedentes de la invención**

10 La terapia con fármacos para trastornos médicos a menudo requiere mejoras en aspectos tales como la farmacocinética, la eficacia o los efectos adversos. Por ejemplo, muchos fármacos anticancerígenos tienen una ventana terapéutica muy estrecha, es decir, una diferencia pequeña entre los niveles de fármaco requeridos para ejercer un efecto anti-tumoral beneficioso, y aquellos que producen efectos adversos, algunos de los cuales pueden ser limitativos de dosis o peligrosos para la vida. Como ejemplo adicional, a menudo es deseable para muchos fármacos usados en diversos campos, tal como los fármacos anti-cancerígenos, los fármacos anti-inflamatorios o los fármacos usados para tratar trastornos neurológicos o psiquiátricos, que se administren como pro-fármacos inactivos, con la consiguiente liberación sostenida y lenta del fármaco activo, permitiendo de este modo un tiempo en circulación del fármaco elevado y una actividad prolongada del fármaco en sus sitios diana. Adicionalmente, a menudo es deseable que un fármaco esté dirigido a un foco de enfermedad, es decir, que presente, tras su administración al paciente, un gradiente de concentración entre los tejidos diana y no diana, con niveles relativamente elevados del profármaco y/o del fármaco activo en el foco de la enfermedad, en comparación con los tejidos no diana.

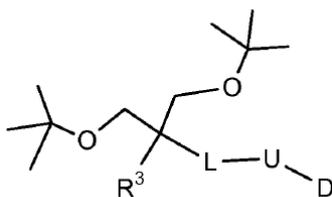
20 La Patente de EE.UU. n° 7.638.528 describe composiciones y métodos útiles para el tratamiento de una infección vírica en un mamífero mediante un ataque doble al virus (es decir, atacar al virus en más de un estadio del ciclo vital del virus), e inhibiendo de este modo la replicación del virus. Las composiciones incluyen compuestos que comprenden un resto fosocolina conjugado covalentemente con uno o más agentes antivíricos a una cadena principal de lípido.

**Sumario de la invención**

La invención se ocupa de nuevos compuestos químicos y de nuevas composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos médicos.

30 Según una realización, los nuevos compuestos y las nuevas composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para el tratamiento de cáncer.

En una realización, se proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (II):



Fórmula (II)

en la que

35 R<sup>3</sup> es metilo;

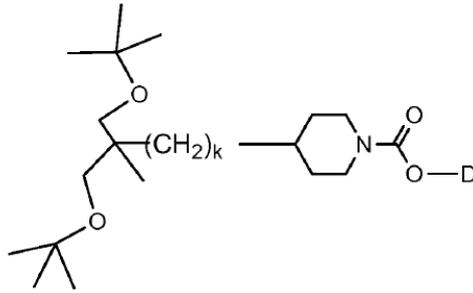
L se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificado o cíclico, alquil-amina C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificada o cíclica, o una combinación de los mismos;

U se selecciona entre -(CO)O-; -O(CO)-NH-; ó -(CO)-NH-; y

D es un fármaco, y

40 las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

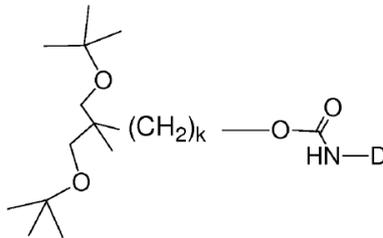
En una realización, el compuesto puede comprender una estructura como la establecida en la Fórmula (III)



Fórmula (III)

en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5, y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

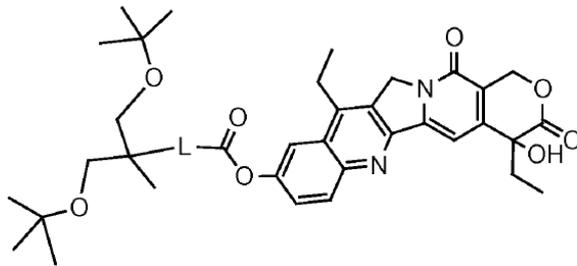
- 5 En una realización, el compuesto puede comprender una estructura como la establecida en la Fórmula (IV)



Fórmula (IV)

en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5, y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

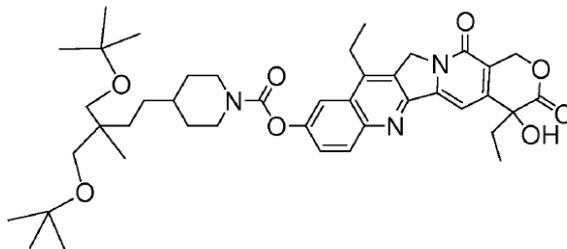
- 10 En una realización, el compuesto puede comprender una estructura como la establecida en la Fórmula (VI)



Fórmula (VI)

y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

En una realización, el compuesto puede comprender una estructura como la establecida en la Fórmula (VII)



Fórmula (VII)

En una realización, D es un inhibidor de topoisomerasa.

En una realización, D es SN-38.

La invención también proporciona un compuesto como el definido anteriormente para uso como medicamento, y en particular realizaciones como medicamento anticancerígeno.

5 El término “fármaco” para el propósito de la presente invención se refiere a un compuesto químico medicinalmente útil, que, tras ser administrado a un sujeto que padece una enfermedad, ejerce un efecto farmacológico, tal como ayudar a curar la enfermedad, reduciendo su extensión, o aliviando sus síntomas o signos.

El término “conjugado” para el propósito de la presente invención, se refiere a una molécula que comprende dos (o más) restos químicos, ligados mediante cualquier medio conocido en la técnica.

10 El término “dosis terapéuticamente efectiva” se refiere, por ejemplo, a una cantidad de fármaco que provoque una respuesta terapéuticamente útil, en el tratamiento de un trastorno médico existente, y/o en la prevención o el retraso de la aparición de una enfermedad, en un sujeto animal o humano.

### Breve descripción de las figuras

15 La invención se describirá a continuación en relación a determinados ejemplos y realizaciones preferidas, en referencia a las siguientes figuras ilustrativas. En las Figuras:

**Figura 1:** muestra la eficacia de ATT-11T (un compuesto según una realización de la invención) como fármaco citotóxico anticancerígeno, ejemplificado a través de células cultivadas de melanoma A375 *in vitro*, en comparación con el fármaco anticancerígeno CPT-11 (irinotecan), que es un pro-fármaco de SN-38, un agente anticancerígeno, activo como inhibidor de la enzima topoisomerasa I. Se incubaron células A375 con concentraciones crecientes de ATT-11T o CPT-11, y se determinó la viabilidad celular. El efecto citotóxico de dichos agentes fue expresado como el porcentaje de células viables a las 24 horas de incubación. El ATT-11T exhibió un potente efecto citotóxico, con una IC<sub>50</sub> (concentración inhibidora del 50% de las células) de 3,3 μM, siendo más potente que el CPT-11. Por lo tanto, como se muestra, el ATT-11T es un potente agente anticancerígeno.

25 **Figura 2:** muestra la eficacia del ATT-11T en la inhibición del crecimiento tumoral en ratones nude portadores de tumor. Se trataron ratones portadores de tumor de melanoma A375 con ATT-11T (5 ó 20 mg/kg x 9), y se midieron los volúmenes tumorales (mm<sup>3</sup>), en comparación con los volúmenes tumorales del control, ratones no tratados. El ATT-11T ejerció un efecto drástico sobre los tumores, con una regresión tumoral total y una inhibición del crecimiento total, observadas para ambas dosis del fármaco.

30 **Figura 3:** demuestra el efecto anticancerígeno del ATT-11T, que produce regresión e inhibición de crecimiento de tumores A375 en ratones nude. Los paneles superiores (A,B) muestran tumores representativos de animales no tratados, mientras que los paneles inferiores (C,D) muestran sitios de inoculación de tumores (flechas) en animales tratados con una dosis relativamente baja (5 mg/kg x 9) de ATT-11T. Tal como se muestra, el ATT-11T ejerce un efecto anticancerígeno potente, provocando la regresión del tumor y la inhibición del crecimiento tumoral.

35 **Figura 4A y 4B:** muestran el retraso del crecimiento tumoral, ejercido por ATT-11T en ratones portadores de tumor de melanoma A375. Los ratones portadores de tumor fueron tratados con ATT-11T (5 mg/kg o 20 mg/kg x 9), o con CPT-11 (75 mg/kg x 3), y se hizo un seguimiento del crecimiento tumoral durante un mes después de la última dosis. Como se muestra, el ATT-11T en ambas dosis inhibió de forma sustancial el crecimiento tumoral, incluso un mes después de la última dosis, en comparación con el CPT-11.

40 **Figura 5:** muestra la falta de efectos adversos del ATT-11T sobre el peso corporal en los ratones portadores de tumor de melanoma A375. Los ratones portadores de tumor fueron tratados con ATT-11T y se pesaron dos veces por semana. Como se muestra, simultáneamente al efecto inhibitorio tumoral sustancial del ATT-11T descrito anteriormente, el fármaco fue bien tolerado, sin producir ninguna pérdida de peso corporal.

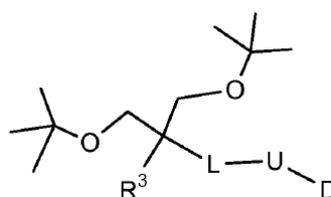
45 **Figuras 6A y 6B:** muestran el perfil farmacocinético del ATT-11T, en comparación con el CPT-11 en perros Beagle. La **Figura 6A** muestra las concentraciones en plasma de los fármacos originales ATT-11T o CPT-11 frente al tiempo, mientras que la **Figura 6B** muestra las concentraciones en plasma del metabolito SN-38 citotóxico activo común frente al tiempo. Como se observa, el ATT-11T se caracteriza por un perfil favorable, con niveles en plasma sostenidos y una eliminación lenta tanto del fármaco original como de su metabolito activo SN-38, en comparación con el CPT-11.

50 **Figuras 7A y 7B:** muestran la vida media en plasma ( $t_{1/2}$ ) de los fármacos originales (ATT-11T o CPT-11, **Figura 7A**), o del metabolito SN-38 citotóxico activo, derivado respectivamente de ATT-11T o de CPT-11 (**Figura 7B**), después de una administración intravenosa del fármaco a perros. El SN-38 derivado de ATT-11T manifestó una vida media en plasma 5,2 veces mayor que el SN-38 derivado de CPT-11.

5 **Figuras 8A y 8B:** muestran el área bajo la curva de concentración en plasma / tiempo (AUC) del fármaco original (ATT-11T o CPT-11, **Figura 8A**), o del metabolito SN-38 citotóxico activo común derivado respectivamente de ATT-11T o de CPT-11 (**Figura 8B**), después de una administración intravenosa del fármaco a perros Beagle. El AUC del ATT-11T fue 4 veces más grande que la del CPT-11, y el AUC del SN-38 derivado de ATT-11T fue 2,9 veces más grande que el AUC del SN-38 derivado de CPT-11. Por tanto, la administración de ATT-11T dio como resultado una exposición sustancialmente más larga tanto al fármaco original como a su metabolito activo SN-38, en comparación con el CPT-11.

**Descripción detallada de la invención**

La invención proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (II):



Fórmula (II)

en la que

R<sup>3</sup> es metilo;

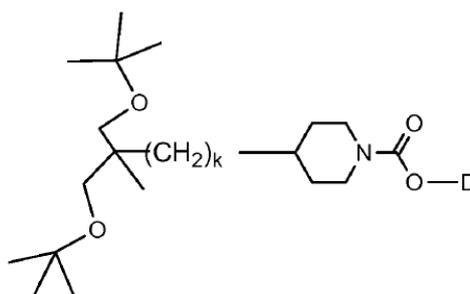
15 L se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificado o cíclico, alquil-amina C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificada o cíclica, o una combinación de los mismos;

U se selecciona entre -(CO)O-; -O(CO)-NH-; ó -(CO)-NH-; y

D es un fármaco, y

las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

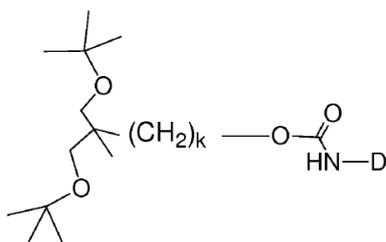
Según otra realización, se proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (III)



Fórmula (III)

en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5.

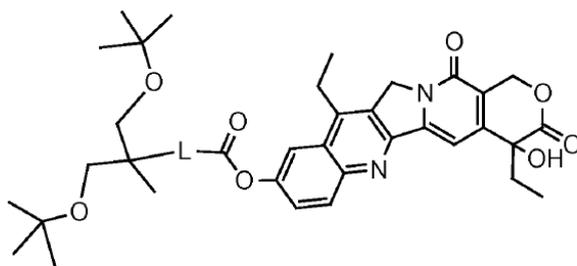
Según otra realización, se proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (IV)



Fórmula (IV)

en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5.

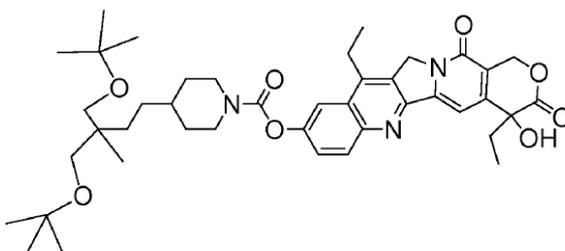
5 Según una realización se proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (VI)



Fórmula (VI)

en donde L es tal como se ha definido anteriormente.

Según una realización se proporciona un compuesto representado por la estructura de la Fórmula (VII)



Fórmula (VII)

El compuesto de Fórmula (VII) se denomina ATT-11T.

Las realizaciones de la invención también proporcionan sales farmacéuticamente aceptables y quelatos metálicos de los compuestos de las Fórmulas II, III, IV, VI o VII, y composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto.

15 Según algunas realizaciones, D es un fármaco anticancerígeno. Por ejemplo, D puede ser un inhibidor de topoisomerasa, tal como camptotecina o derivados o análogos de la misma (por ejemplo, en las Fórmulas VI y VII); o 5-fluorouracilo o sus análogos, tal como la capecitabina.

20 Según algunas realizaciones de la invención, D puede ser un fármaco anti-inflamatorio, un fármaco para el tratamiento de trastornos de origen inmune, un fármaco para el tratamiento de trastornos infecciosos, un fármaco para el tratamiento de trastornos vasculares, un fármaco para el tratamiento de trastornos tóxicos, un fármaco para el tratamiento de trastornos neurológicos, o un fármaco para el tratamiento de trastornos psiquiátricos.

Según algunas realizaciones de la invención, se proporciona una dosis terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos representados por las Fórmulas II, III, IV, VI o VII, en donde D es un fármaco, tal como un fármaco anti-cancerígeno, para uso en el tratamiento de trastornos médicos.

Según una realización de la invención, dicho trastorno médico es cáncer.

En una realización de la invención, el conjugado que tiene la estructura establecida en la Fórmula (VII) y denominado ATT-11T comprende el fármaco anticancerígeno SN-38.

5 El ATT-11T es un pro-fármaco de carbamato del agente anticancerígeno SN-38. Tras ruptura del enlace carbamato por las esterasas del cuerpo, el SN-38 es liberado para ejercer su efecto citotóxico a través de la inhibición de la enzima topoisomerasa I.

Las realizaciones de la invención proporcionan una cantidad terapéuticamente efectiva de un conjugado o una composición farmacéutica que comprende uno cualquiera de los compuestos establecidos en las Fórmulas II, III, IV, VI o VII para uso en el tratamiento de una enfermedad.

10 Los compuestos de la invención pueden ser activos como agentes terapéuticos por sí mismos, es decir, sin ninguna modificación estructural adicional, o pueden actuar como pro-fármacos, es decir, ser capaces de ejercer una acción farmacológica solo después de su conversión metabólica en el cuerpo. Entre otras posibilidades, dicha conversión puede ser una ruptura enzimática de la molécula de la invención en los correspondientes restos de éster, amida o carbamato, lo que sea aplicable al compuesto específico.

15 En una realización de la invención se proporcionan compuestos para uso en el tratamiento de trastornos médicos, en donde dicho trastorno médico se selecciona entre cáncer, trastornos inflamatorios, trastornos de origen inmune, trastornos infecciosos, trastornos vasculares, trastornos tóxicos, trastornos neurológicos o trastornos psiquiátricos.

20 Las realizaciones de la invención proporcionan una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las Fórmulas II, III, IV, VI o VII, tal como se han descrito antes, y/o como se describe más adelante en los Ejemplos, y las sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

25 Algunos ejemplos de sales incluyen las sales no tóxicas de metales alcalinos, las sales de metales alcalinotérreos y las sales de amonio, tal como las sales de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bario y amonio. Adicionalmente, también se incluyen en las sales anteriores las sales no tóxicas de adición ácida, por ejemplo, hidroclouros, cloruros de hidrógeno, bromuros de hidrógeno, sulfatos, bisulfatos, acetatos, oxalatos, valeratos, oleatos, lauratos, boratos, benzoatos, lactatos, malatos, p-tolueno sulfonatos (tosilatos), citratos, maleatos, fumaratos, succinatos, tartratos, sulfonatos, glicolatos, maleatos, ascorbatos y benceno sulfonatos.

30 Las composiciones farmacéuticas según las realizaciones de la invención pueden incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente, adyuvante, excipiente o portador con el cual se administra el agente terapéutico. Algunos ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen agua, disoluciones salinas, alcohol, silicona, ceras, gel de petróleo, aceite vegetal, aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo, polietilén glicoles, propilén glicol, liposomas, azúcares, gelatina; lactosa, amilosa, estearato magnésico, talco, tensioactivos, ácido silícico, parafina viscosa, aceite de perfume, monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, ésteres de ácido graso petroetiales, hidroximetil-celulosa, polivinilpirrolidona, y similares.

35 Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse, por ejemplo, mediante procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, levitación, emulsión, encapsulación, atrapamiento, liofilización o mediante otros procesos adecuados.

40 Las composiciones farmacéuticas pueden adoptar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares, dependiendo de la ruta de administración pretendida. Los ejemplos de rutas de administración incluyen parenteral, p.ej., intravenosa, intramuscular, subcutánea, intra-arterial, intraportal, intratecal, intradérmica, transdérmica (tópica), transmucosal, intra-articular, intraperitoneal e intrapleural, así como administración intratecal, intracerebral, por inhalación y pulmonar. En otro aspecto, el sistema de administración y la composición farmacéutica se administran al sujeto localmente, por ejemplo, mediante inyección a un vaso sanguíneo local que suministra sangre a un tumor, órgano, tejido o célula particulares, afectados por trastornos o enfermedades.

45 Por ejemplo, para administraciones parenterales, la composición puede comprender uno o más de los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, disolución salina; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metil parabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la tonicidad, tales como cloruro sódico o dextrosa. La preparación parenteral se puede incluir en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiple fabricados en vidrio o plástico.

50 Por ejemplo, para inyección, los conjugados de la invención pueden formularse en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tal como tampón salino fisiológico. La disolución puede contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. En una realización preferida, los sistemas de administración son formulados en disoluciones acuosas estériles.

Por ejemplo, para la administración intravenosa, los vehículos adecuados incluyen salino fisiológico, agua bacteriostática, o salino tamponado con fosfato (PBS). En todos los casos, la composición debe ser estéril y, cuando se inyecte, debería ser fluida hasta el punto de presentar una fácil inyectabilidad con una jeringa. Las composiciones pueden incluir conservantes tales como parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal, y otros similares.

5 Los productos farmacéuticos según las realizaciones de la invención pueden administrarse oralmente, por ejemplo en la forma de píldoras, comprimidos, comprimidos lacados, comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina duras y blandas, disoluciones acuosas, alcohólicas u oleaginosas, jarabes, emulsiones o suspensiones. Para la producción de píldoras, comprimidos, comprimidos recubiertos de azúcar y cápsulas de gelatina duras es posible usar, por ejemplo, lactosa, almidón, por ejemplo almidón de maíz, o derivados de almidón, talco, ácido esteárico o sus sales, etc. Los vehículos para cápsulas de gelatina blanda y supositorios son, por ejemplo, grasas, ceras, polioles líquidos y semisólidos, aceites naturales o endurecidos, etc. Los vehículos adecuados para la preparación de disoluciones, por ejemplo de disoluciones para inyección, o de emulsiones o jarabes, son, por ejemplo, agua, disolución de cloruro sódico fisiológico, alcoholes tales como etanol, glicerol, polioles, sacarosa, azúcar invertida, glucosa, manitol, aceites vegetales, etc. En una realización, el medicamento, junto con uno o más materiales excipientes auxiliares puede comprimirse en una forma de comprimido tal como un comprimido de capa individual o multicapa. Los comprimidos según las realizaciones de la invención pueden recubrirse opcionalmente con un polímero de liberación controlada para proporcionar propiedades de liberación controlada adicionales.

20 Por ejemplo, para administración por inhalación, los sistemas de administración pueden formularse como un spray de aerosol en recipientes presurizados o en un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, p.ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado.

Se pueden usar diversas dosis, y las dosis se pueden administrar en diversos intervalos, según la enfermedad, el estado clínico del paciente o las medicaciones concomitantes. La posología puede variar, de acuerdo al juicio clínico del médico.

25 En un aspecto de la invención, el compuesto según cualquiera de las Fórmulas II, III, IV, VI o VII tiene actividad anticancerígena, es decir, es capaz de producir daños en y/o matar células tumorales, tanto por sí mismo como tras ser descompuesto en un metabolito activo. Según este aspecto de la invención, dicho compuesto o composición farmacéutica relacionada pueden usarse para el tratamiento de cáncer, en donde el(los) tumor(es) puede(n) estar implicado(s) o tener su origen en cualquier órgano del cuerpo.

30 En una realización, los tipos de cáncer a tratar por los compuestos de la invención y/o sus composiciones farmacéuticas relacionadas incluyen tumores primarios y secundarios de pulmón, colon, mama, melanoma, linfoma, próstata, tiroides, testículos, ovario, piel, cerebro o hueso.

35 En otro aspecto de la invención, el compuesto según cualquiera de las Fórmulas II, III, IV, VI o VII comprende un fármaco que es útil para el tratamiento de un trastorno médico, seleccionado entre trastornos inflamatorios, trastornos de origen inmune, trastornos infecciosos, trastornos vasculares, trastornos tóxicos, trastornos psiquiátricos o trastornos neurológicos. Según este aspecto de la invención, un compuesto o composición farmacéutica relacionada de la invención puede usarse para el tratamiento del correspondiente trastorno médico.

40 Según algunas realizaciones de la invención, los compuestos o sus composiciones farmacéuticas relacionadas pueden usarse como monoterapia, es decir, como agente quimioterapéutico individual, o en combinación con otros agentes terapéuticos, es decir, como parte de una terapia de combinación. El tratamiento puede ser agudo o crónico.

45 A continuación se describirán algunos ejemplos, con el objetivo de demostrar adicionalmente la invención, y para ejemplificar cómo se pueden llevar a la práctica las realizaciones de la invención. Los ejemplos ilustran, de un modo no limitativo, un método ejemplar para la preparación de un compuesto según una realización de la invención, y la eficacia biológica en la inhibición tumoral, tanto *in vitro* como *in vivo*, en modelos de cáncer de xenoinjerto en animales. Adicionalmente, se demuestra un perfil farmacocinético favorable de la invención, examinado en perros beagle.

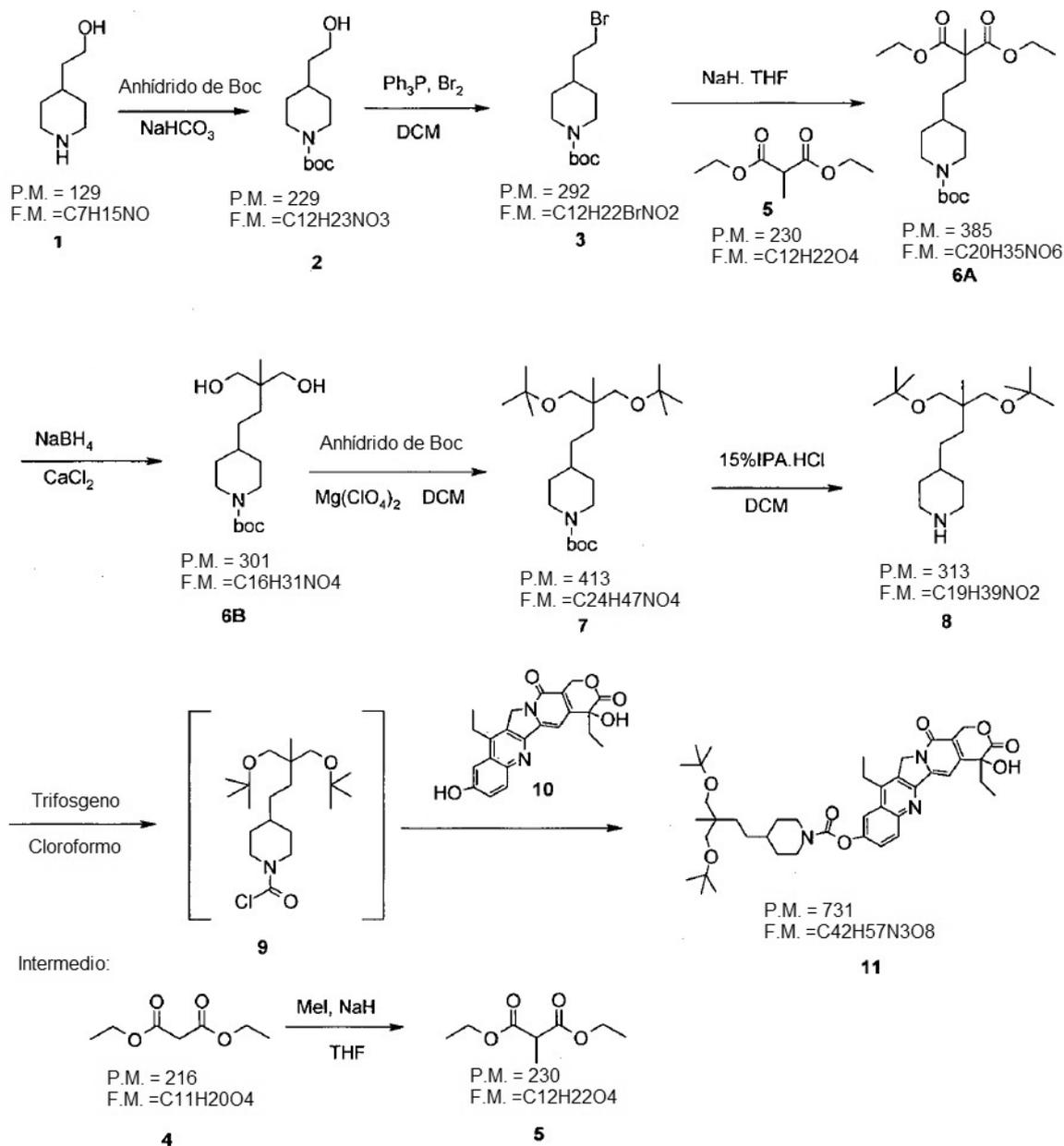
## Ejemplos

### Ejemplo 1

50 Se demuestra un ejemplo de método para la preparación del compuesto denominado ATT-11T. Sin embargo, en las realizaciones de la invención también se incluyen modificaciones de este método (p.ej., procesos similares que incluyan otras etapas adicionales conocidas en la técnica, tales como alquilación, hidratación, condensación, así como otras etapas), que pueden dar lugar a compuestos similares.

A continuación se ilustra el esquema de síntesis para el ATT-11T según una realización de la invención. Como primera etapa, se lleva a cabo una protección con Boc sobre el derivado de piperidina **1**, seguida de una bromación

para obtener el compuesto **3**, y una condensación con dietil-metil malonato, que se produce por metilación del di-etil malonato **4**. Dicha condensación da como resultado el compuesto **6A**, que a su vez es reducido para obtener el compuesto **6B**. Posteriormente, se lleva a cabo una eterificación, a fin de obtener el compuesto **7**. Entonces el compuesto **7** es desprotegido de Boc y condensado con SN-38 (compuesto **10**), para producir el compuesto **11**, es decir, el producto ATT-11T deseado. Esta ruta sintética es ilustrada adicionalmente a través del siguiente esquema de síntesis:



## Ejemplo 2

**Este ejemplo demuestra la eficacia del ATT-11T como fármaco anticancerígeno *in vitro*.**

- 10 La eficacia del ATT-11T como fármaco anticancerígeno se demuestra en células de melanoma A375 cultivadas *in vitro*, en comparación con el fármaco anticancerígeno disponible comercialmente CPT-11 (irinotecan), que es un pro-fármaco del inhibidor de topoisomerasa SN-38. Las células A375 fueron incubadas con concentraciones crecientes de ATT-11T o de CPT-11, se evaluó la viabilidad celular, y se calculó la IC<sub>50</sub> (efecto inhibitor del 50% de las células).

Las células fueron cultivadas en medio RPMI 1640 (Gibco, R.U.) suplementado con FBS al 10% (Gibco, R.U.) 2 mM de L-glutamina (Gibco, R.U.), tampón HEPES 20 mM (Beit-Haemek, Israel), 100 unidades/mL de penicilina, y 100 µg/mL de estreptomycin (Gibco, R.U.). Las células fueron cultivadas en atmósfera humidificada que contenía un 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C. El medio se cambió rutinariamente dos veces por semana, y las células fueron sub-cultivadas con 0,25% de tripsina/EDTA (Beit-Haemek, Israel) cuando se alcanzó el 85% de confluencia.

El ATT-11T fue producido por Aptuit-Laurus (India). El compuesto se disolvió en DMSO. El irinotecan (CPT-11) fue suministrado como trihidrato de hidrocloreto de irinotecan (Pfizer), y se diluyó desde una disolución madre concentrada de 100 mg/5 mL. Las células fueron incubadas durante 24 horas a 37°C con diluciones en serie de ATT-11T (o CPT-11), disuelto en el medio de cultivo. A continuación se determinó la viabilidad celular, usando el reactivo XTT (Beit-Haemek, Israel). Al final del periodo de incubación, se añadió colorante de tetrazolio, y se midió la formación de un producto formazán coloreado a 450 nm usando un lector de microplacas (ELx800, Bio-Tek Instruments Inc.). Se representó la viabilidad celular frente a la concentración de fármaco, y los datos se ajustaron mediante análisis de regresión no lineal usando el software GraphPad prism versión 5.0. A continuación se calcularon los valores de IC<sub>50</sub> del ATT-11T y del CPT-11 como la concentración de fármaco que inhibió el 50% del crecimiento celular, en comparación con células no tratadas, que actuaron como controles.

Los resultados de un estudio representativo se muestran en la Figura 1, que presenta el porcentaje de células viables con el tiempo, en comparación con los controles no tratados. Como se observa, el ATT-11T manifestó un efecto citotóxico marcado; con un IC<sub>50</sub> de 3,3 µM. La potencia del ATT-11T fue sustancialmente mayor que la del CPT-11, que exhibió una IC<sub>50</sub> de 10,1 µM. Por lo tanto, estos resultados indican que el ATT-11T es un potente agente citotóxico anticancerígeno.

### Ejemplo 3

#### **Este ejemplo demuestra la eficacia del ATT-11T para inducir la regresión tumoral y para inhibir el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto de melanoma en ratones nude *in vivo*.**

Se establecieron tumores de melanoma A375 subcutáneos en ratones mediante inyección de células de melanoma A375 (0,75x10<sup>6</sup> por animal y sitio) en la región del costado derecho de ratones nude atímicos (hembras, 8-9 semanas, 10 animales por grupo). Se midieron las dimensiones de los tumores con un calibre dos veces por semana y el volumen tumoral (mm<sup>3</sup>) se calculó usando la fórmula:  $VT = 0,52L \times W^2$ , donde L y W son la dimensión mayor y menor, respectivamente. El tratamiento con fármaco se inició en el día 10, cuando los tumores alcanzaron un volumen medio de 75-100 mm<sup>3</sup>. El ATT-11T fue administrado intravenosamente en la vena de la cola de los ratones, en un vehículo que comprendía un 10% de DMSO y un 10% de albúmina de suero bovino (BSA) en tampón de fosfato sódico 0,1M (pH 5,8). El fármaco fue administrado a una dosis de 5 ó 20 mg/kg, tres veces por semana durante tres semanas. Ratones portadores de tumor, inyectados solo con la disolución de vehículo, actuaron como controles.

La **Figura 2** muestra el volumen tumoral (mm<sup>3</sup>) frente a los días tras la inoculación del tumor. Como se observa, el ATT-11T manifestó un drástico efecto inhibitor en el crecimiento tumoral. Mientras que los tumores de los animales de control no tratados manifestaron un crecimiento rápido, el ATT-11T provocó una regresión tumoral completa y un 100% de inhibición del crecimiento, que duró una semana desde la última administración del fármaco. Este efecto sustancial del fármaco fue observado en ambos grupos de dosis, es decir, el de 5 mg/kg y el de 20 mg/kg.

La **Figura 3** (panel superior) muestra dos tumores representativos (A y B) de ratones de control no tratados en el día 29 desde la inoculación (un día después de la última administración de vehículo). El panel inferior (C y D) muestra el sitio de inoculación tumoral (flechas) en dos ratones representativos tratados con 5 mg/kg de ATT-11T, en el día 29, es decir, un día después de la última administración del fármaco.

Como se observa, el ATT-11T provocó una completa regresión tumoral y una completa inhibición del crecimiento tumoral, demostrando de este modo su potente actividad anticancerígena.

### Ejemplo 4

#### **Este ejemplo demuestra la eficacia del ATT-11T para inducir retraso en el crecimiento tumoral en un modelo de xenoinjerto de melanoma en ratones nude *in vivo*.**

Se determinó la tasa de crecimiento tumoral después de la última dosis de quimioterapia para el ATT-11T, en comparación con la del CPT-11 (irinotecan). Los fármacos, esto es, el ATT-11T o el CPT-11, fueron administrados intravenosamente en la vena de la cola de ratones portadores de melanoma A375, como se ha descrito anteriormente (10 animales por grupo). El CPT-11 fue administrado como trihidrato de hidrocloreto (Pfizer, EE.UU.), diluido desde una disolución madre concentrada de 100 mg/5 mL. El ATT-11T (Aptuit-Laurus, India) fue administrado en una dosis de 5 mg/kg o de 20 mg/kg, dos veces por semana durante tres semanas. El CPT-11 fue administrado en una dosis de 75 mg/kg, una vez por semana durante tres semanas. Se evaluó el volumen tumoral como se ha descrito anteriormente.

El retraso del crecimiento tumoral inducido por el fármaco se determinó a través de dos medidas: (i) Inhibición del volumen tumoral (TVI %) una semana después del último tratamiento en los tumores tratados frente a los de control, que se calculó según la fórmula  $TVI (\%) = (1 - T/C) \times 100$ , donde  $T$  y  $C$  son el volumen tumoral de los grupos tratados y de control, respectivamente; y (ii) Retraso de crecimiento tumoral (TGD), determinado como el periodo de tiempo (días) de retraso inducido por el tratamiento en los tumores que alcanzan un volumen predeterminado de 3.500 mm<sup>3</sup>, en comparación con los controles tratados con vehículo.

Tal como se muestra en la **Figura 4A** y en la **Figura 4B**, ambas dosis de ATT-11T (5 mg/kg o 20 mg/kg, respectivamente) produjeron una inhibición sustancial del crecimiento tumoral, con una regresión completa del tumor, (TVI del 100%) una semana después de la última dosis de cualquier dosis del fármaco. Aunque el CPT-11 manifestó una marcada inhibición tumoral, no llegó a mostrar la regresión tumoral completa observada con el ATT-11T, y culminó en una TVI del 95% una semana después de la última dosis del fármaco.

La determinación de la tasa de crecimiento tumoral 30 días después de la última dosis de tratamiento (58 días después de la inoculación de células tumorales) reveló un rápido crecimiento tumoral en el grupo tratado con CPT-11, comenzando pronto justo después de la administración de la última dosis del fármaco. Por consiguiente, el grupo de control y el grupo de CPT-11 alcanzaron el punto final de volumen tumoral de 3.500 mm<sup>3</sup> en los días 35 y 53 después de la inoculación de tumores, respectivamente. Por el contrario, los animales tratados con ATT-11T mostraron poco (a la dosis de 5 mg/kg, **Figura 4A**) o nada de crecimiento (a la dosis de 20 mg/kg, **Figura 4B**) incluso en el día 30 después de la última dosis del fármaco.

Considerados en conjunto, estos resultados indican que el ATT-11T presenta unas potentes propiedades anti-tumorales, siendo capaz de inducir tanto una regresión del tumor como una inhibición prolongada del crecimiento tumoral.

#### Ejemplo 5

##### **Este ejemplo evalúa los potenciales efectos adversos del ATT-11T en ratones nude portadores de tumor**

Para la evaluación de los potenciales efectos adversos del ATT-11T, ratones nude, portadores de tumores de melanoma A375 y tratados con ATT-11T como se ha descrito anteriormente, fueron monitorizados para determinar la inmediatez de efectos adversos tras la administración del fármaco, y también dos veces por semana, hasta un día después de la última dosis. El protocolo de evaluación consistió en una observación general, un registro de signos anormales, y la determinación del peso corporal. Se calculó la pérdida de peso corporal (BWL) potencial como  $\%BWL = 100 - (BW_{día x} / BW_{día 1}) \times 100$ , en donde el día 1 es el primer día de tratamiento y el día x es el día de la determinación.

Tal como se muestra en la **Figura 5**, en términos de % de peso inicial por día comenzando en el día 1 del tratamiento (día 10 tras la inoculación) y hasta el día 29 de la inoculación, no se observó ninguna pérdida de peso ni ningún otro efecto adverso. Los animales tratados con ATT-11T ganaron peso, ganando un 7% del peso corporal inicial los animales tratados con 5 mg/kg, y ganando un 5% los animales tratados con 20 mg/kg.

Por tanto, según se ha determinado en estos sistemas experimentales, simultáneamente a sus marcados efectos de inducción de regresión tumoral y de inhibición de crecimiento tumoral descritos anteriormente, el ATT-11T fue bien tolerado a ambas dosis, sin que se produjera ningún efecto adverso o pérdida de peso.

#### Ejemplo 6

##### **Este ejemplo demuestra las propiedades farmacocinéticas del ATT-11T en perros**

Se llevó a cabo un estudio farmacocinético en perros beagle, tras una única administración intravenosa de ATT-11T, mientras que el CPT-11 sirvió como comparación. Ambos fármacos fueron administrados a perros beagle hembra (Auricoop Ltd., Hungría) en una dosis de 6 mg/kg, con la posterior medición de las concentraciones en plasma con el tiempo de ambos fármacos originales (ATT-11T o CPT-11) y de su metabolito citotóxico activo común, SN-38.

Para este experimento, se disolvió el ATT-11T (Aptuit-Laurus, India) en DMSO para preparar una disolución madre transparente de 50 mg/mL. La disolución madre se diluyó 1:10 en una disolución de albúmina de suero bovino al 10% en tampón de fosfato sódico 0,1 M (pH 5,8) y se mezcló mediante vórtice hasta obtener una emulsión homogénea. Se diluyó CPT-11 (trihidrato de hidrocloreuro de irinotecan, Pfizer, EE.UU.) a partir de una disolución madre concentrada de 100 mg/5 mL. Las formulaciones nuevas de ambos fármacos fueron preparadas antes de cada administración, y los fármacos fueron administrados mediante un inyección de bolo lenta a lo largo de aproximadamente 3 minutos, con una dosis de 6 mg/kg (1,2 mL/kg), ajustada para el peso corporal del animal individual.

Para la determinación de los niveles en plasma de ATT-11T, CPT-11 y SN-38, se tomaron muestras de aproximadamente 3 mL de sangre en viales recubiertos con EDTA, que contenían 75 µL de disolución dichlorvos

(inhibidor de esterasa) (dichlorvos al 1,2% (V/V) en salino). Las muestras fueron tomadas una vez antes de la dosificación (0 min) y después a los 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 8 h, 24 h, 48 h, 72 h y 96 h de la dosificación. Se separó el plasma mediante centrifugación y se almacenó a -70°C hasta ser analizado mediante HPLC. Se usó el software WinNonlin™ para el análisis de los datos farmacocinéticos.

5 La **Figura 6A** muestra las concentraciones en plasma de los fármacos originales ATT-11T o CPT-11 frente al tiempo, mientras que la **Figura 6B** muestra las concentraciones en plasma del metabolito citotóxico activo común SN-38 frente al tiempo. Como se observa, el ATT-11T se caracterizó por unos niveles en plasma sostenidos y una baja eliminación tanto del fármaco original como de su metabolito activo SN-38, en comparación con el CPT-11. Aunque el SN-38 derivado de CPT-11 estaba por debajo del nivel de detección ya a las 24 horas de la administración, todavía seguía habiendo niveles significativos de SN-38 derivado de ATT-11T en el plasma 48 horas después de la administración.

15 Las **Figuras 7A y 7B** muestran la vida media en plasma ( $t_{1/2}$ ; el tiempo necesario para alcanzar una reducción del 50% en los niveles en plasma del fármaco) del fármaco original (ATT-11T o CPT-11, **Figura 7A**), o del correspondiente metabolito citotóxico activo SN-38, derivado respectivamente de ATT-11T o de CPT-11 (**Figura 7B**), tras administración intravenosa a perros. El ATT-11T presentó un  $t_{1/2}$  de ATT-11T superior al de CPT-11 en perros. Además, el SN-38 derivado de ATT-11T manifestó una vida media en plasma 5,2 veces superior, en comparación con el SN-38 derivado de CPT-11.

20 Las **Figuras 8A y 8B** muestran el área bajo la curva de concentración en plasma / tiempo (AUC) de los fármacos originales (ATT-11T o CPT-11, **Figura 8A**), o del metabolito citotóxico activo SN-38 derivado respectivamente de ATT-11T o de CPT-11 (**Figura 8B**), después de una administración intravenosa a perros beagle. El AUC del ATT-11T fue cuatro veces superior a la del CPT-11, y el AUC de SN-38 derivado de ATT-11T fue 2,9 veces mayor que el AUC de SN-38 derivado de CPT-11.

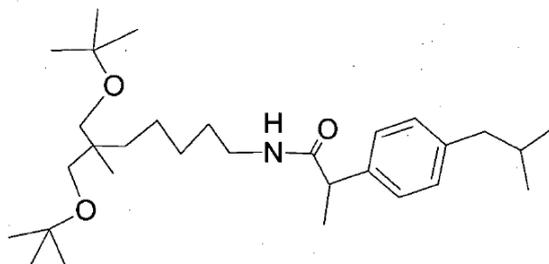
Considerados en conjunto, los resultados del estudio farmacocinético en perros demuestran un perfil favorable, con una exposición prolongada tanto al ATT-11T como a su metabolito activo, SN-38, en comparación con el CPT-11.

25 Ejemplo 7

#### Este ejemplo describe varios conjugados dentro del alcance de la invención

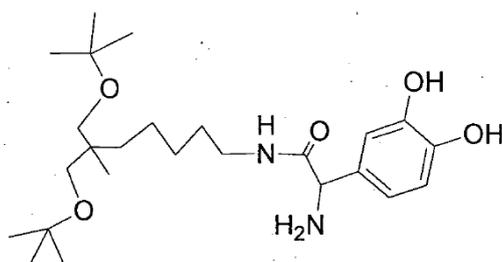
Cada conjugado comprende la estructura fijada en la Fórmula (X), ligado, directamente o a través de un ligando (L) según la Fórmula (I), a un fármaco (D), usado para el tratamiento de un trastorno médico. Dicho trastorno médico puede seleccionarse entre cáncer, trastornos inflamatorios, trastornos de origen inmune, trastornos infecciosos, trastornos vasculares, trastornos tóxicos, trastornos psiquiátricos o trastornos neurológicos. Según este aspecto de la invención, el conjugado o la composición farmacéutica relacionada de la invención pueden usarse para el tratamiento del correspondiente trastorno médico.

35 Un ejemplo de conjugado puede usarse para el tratamiento de trastornos inflamatorios. Dicho ejemplo de conjugado está representado por la Fórmula (V'), que incluye la estructura de la Fórmula (X) y el fármaco anti-inflamatorio ibuprofeno:



Fórmula (V')

40 Otro ejemplo de conjugado puede usarse para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Dicho ejemplo de conjugado está representado por la estructura de Fórmula (V''), que incluye la estructura de la Fórmula (X) y el fármaco levodopa:



Fórmula (V'')

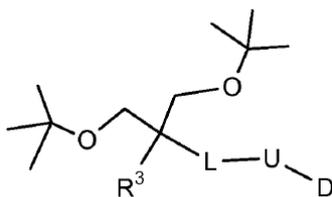
Estos compuestos pueden ser evaluados en varios modelos pre-clínicos de los correspondientes trastornos médicos, o en pacientes que presenten las correspondientes enfermedades.

- 5 La eficacia del compuesto según la Fórmula (V') puede evaluarse en modelos de animales de inflamación, o en pacientes que presenten enfermedades inflamatorias tales como artritis reumatoide, o enfermedad inflamatoria del intestino.

- 10 La eficacia del compuesto según la Fórmula (V'') puede evaluarse en modelos de animales de enfermedad de Parkinson, tal como en animales tratados con la neurotoxina MPTP o 6-hidroxidopamina. La eficacia de este compuesto también puede evaluarse en pacientes con la enfermedad de Parkinson, para aliviar los síntomas y signos parkinsonianos, tales como bradiquinesia, rigidez, temblores o inestabilidad postural.

**REIVINDICACIONES**

1. Un compuesto representado por la estructura establecida en la Fórmula (II)



Fórmula (II)

5 en la que

R<sup>3</sup> es metilo;

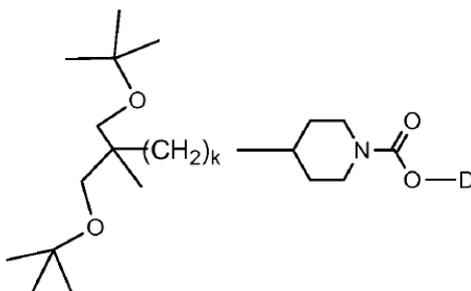
L se selecciona entre alquilo C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificado o cíclico, alquil-amina C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> ó C<sub>8</sub> lineal, ramificada o cíclica, o una combinación de los mismos;

U se selecciona entre -(CO)O-; -O(CO)-NH-; ó -(CO)-NH-; y

10 D es un fármaco, y

las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

2. El compuesto según la reivindicación 1 que comprende la estructura establecida en la Fórmula (III)

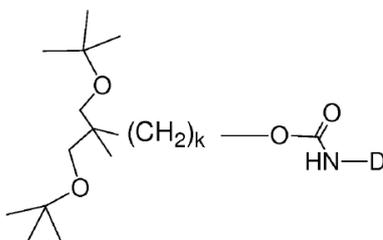


Fórmula (III)

15 en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5,

y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

3. El compuesto según la reivindicación 1 que comprende la estructura establecida en la Fórmula (IV)

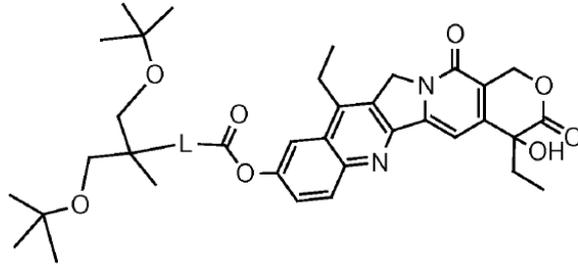


Fórmula (IV)

20 en donde k es un número entero de 1, 2, 3, 4 ó 5,

y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

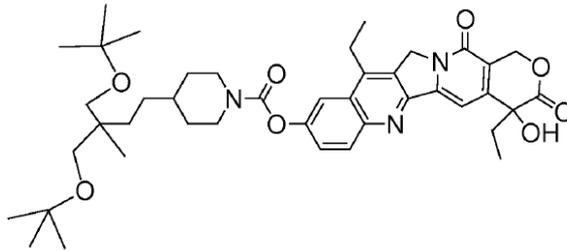
4. El compuesto según la reivindicación 1 que comprende la estructura establecida en la Fórmula (VI)



Fórmula (VI)

y las sales farmacéuticamente aceptables, y los quelatos metálicos del compuesto.

5. El compuesto según la reivindicación 4 que comprende la estructura establecida en la Fórmula (VII)



Fórmula (VII)

6. El compuesto según la reivindicación 1, en donde D es un inhibidor de topoisomerasa.

7. El compuesto según la reivindicación 1, en donde D es SN-38.

10. 8. Un compuesto según la reivindicación 1 para uso como medicamento.

9. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 5 para uso como medicamento anticancerígeno.

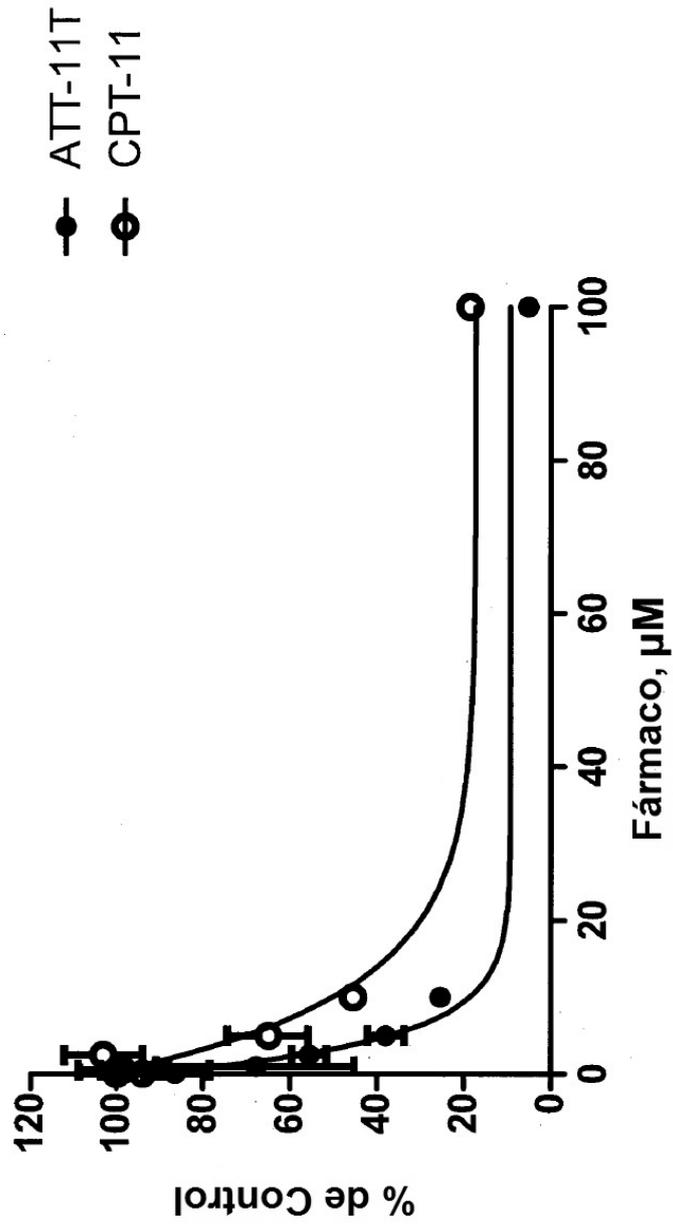
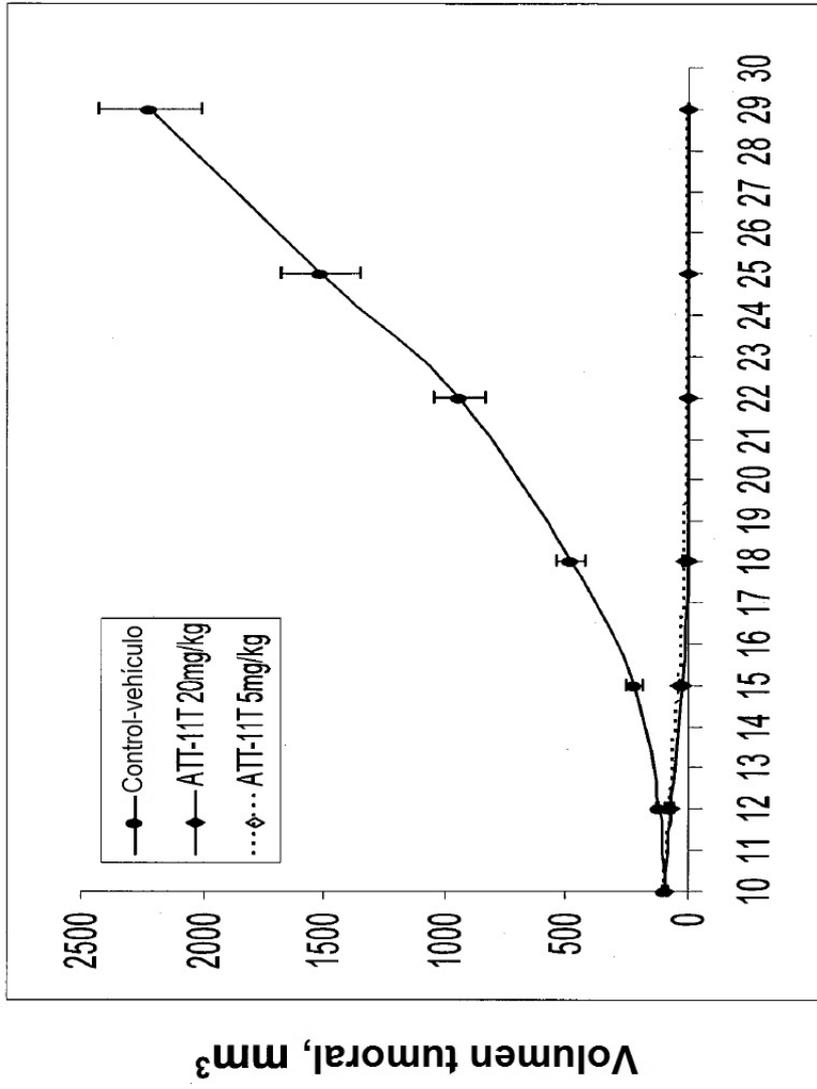


Figura 1



Día

Figura 2

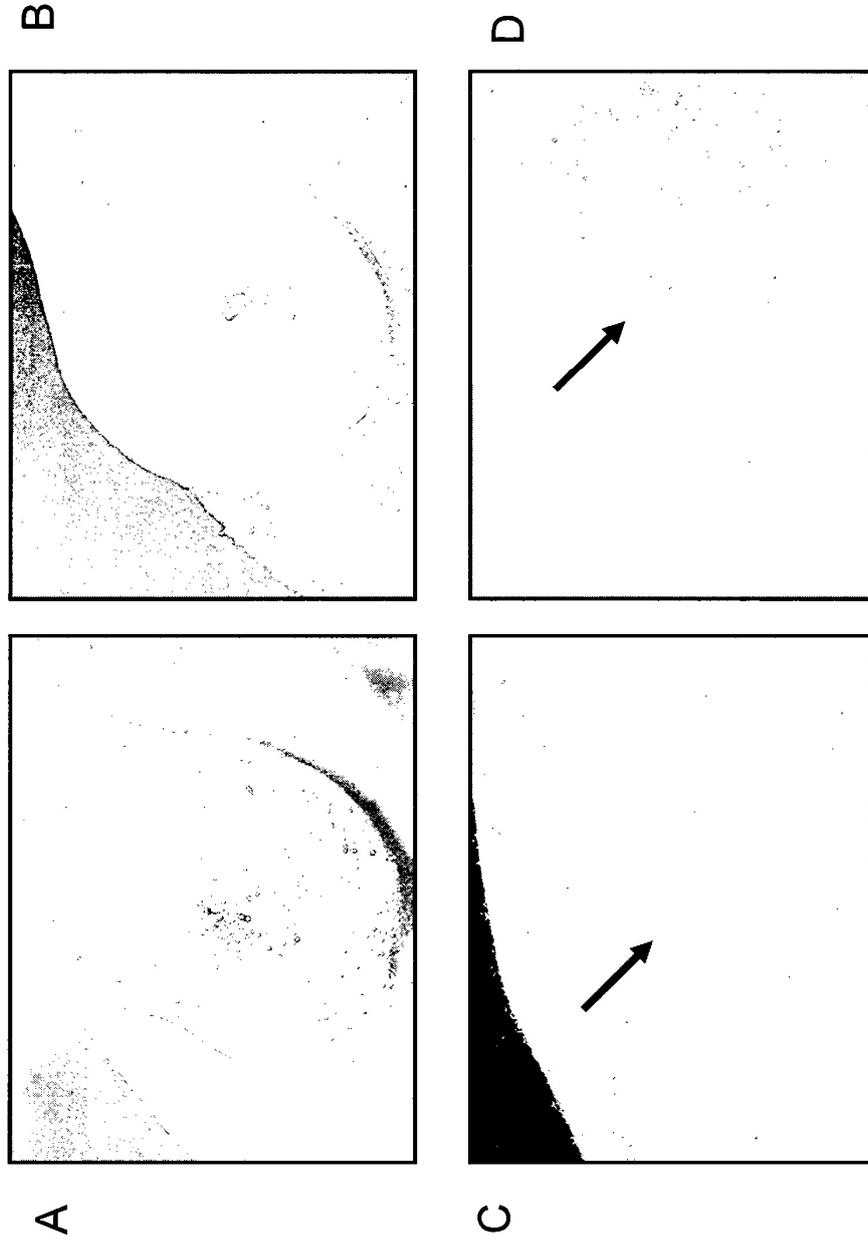
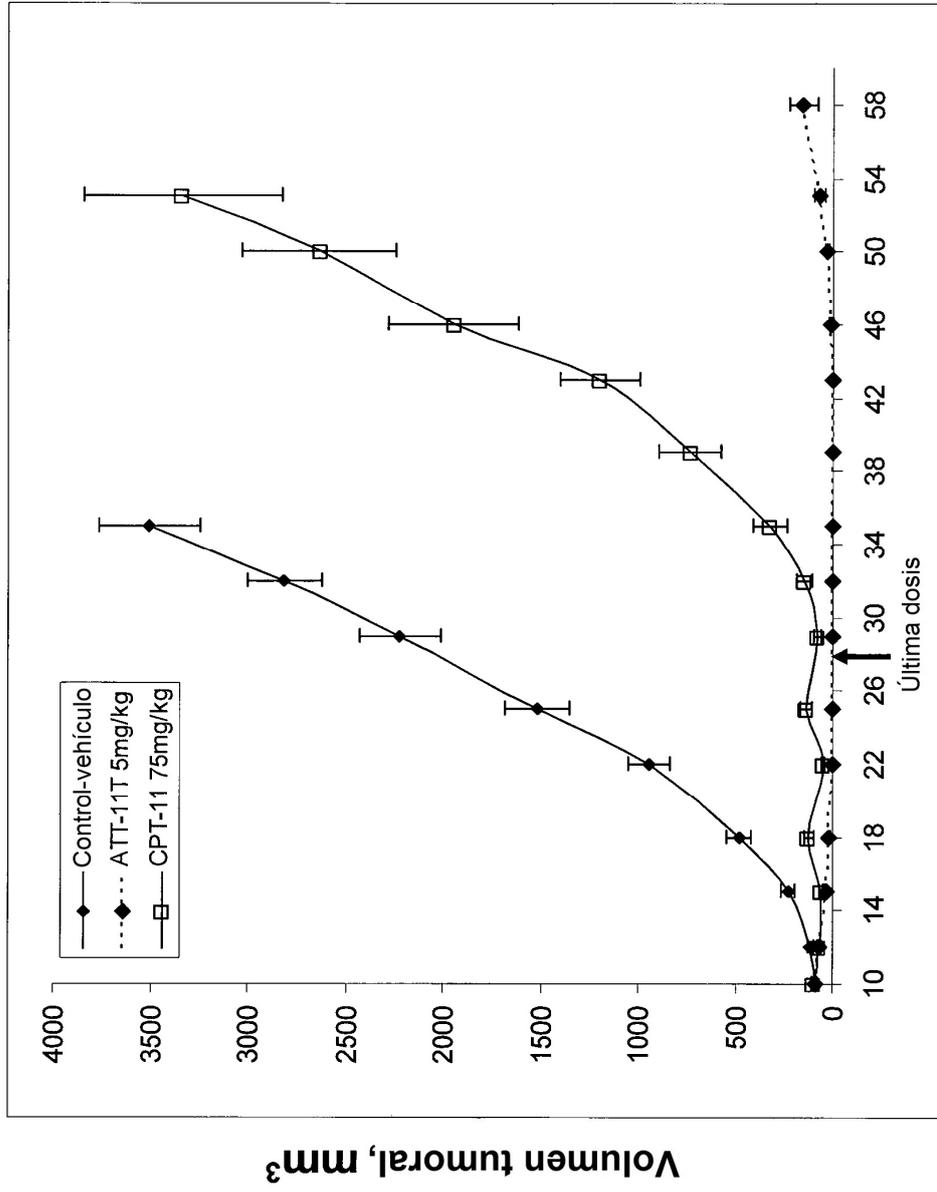
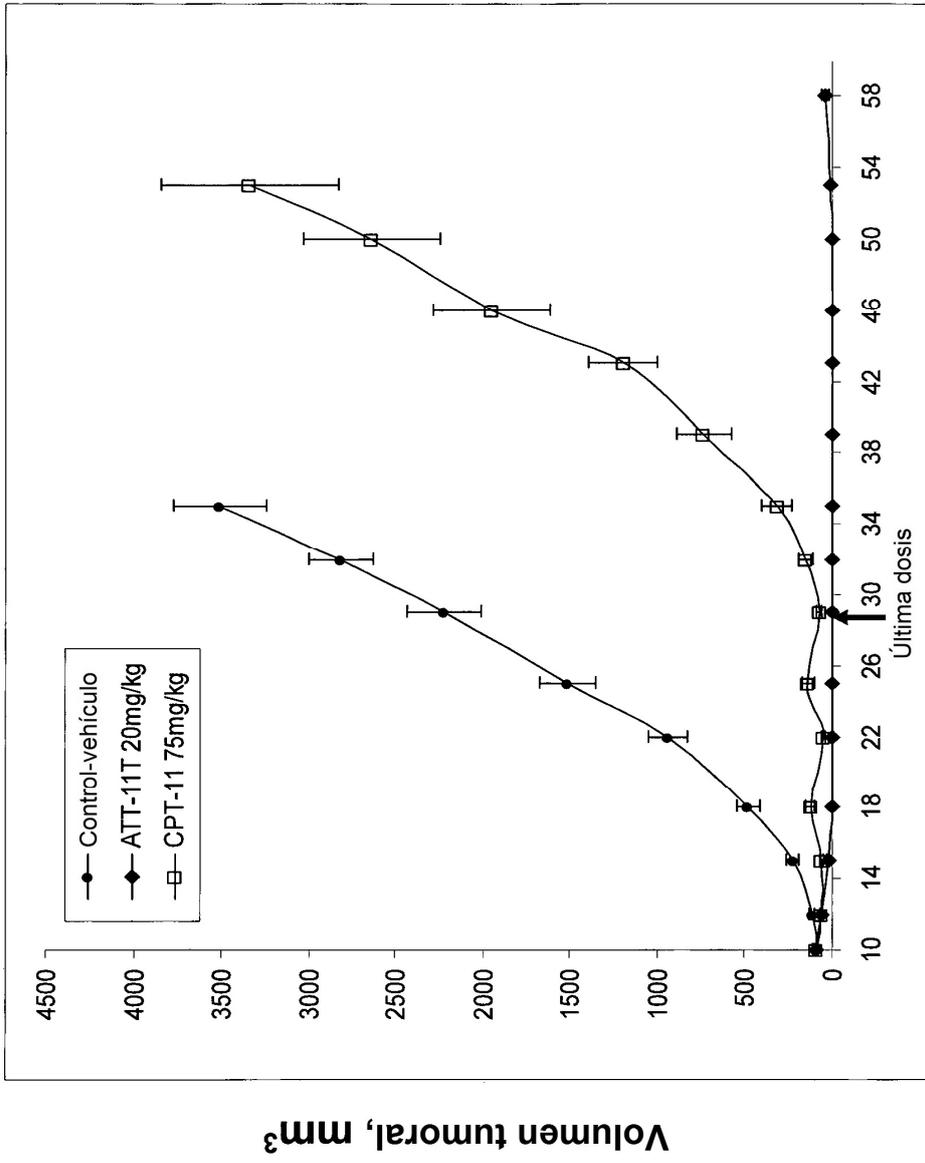


Figura 3



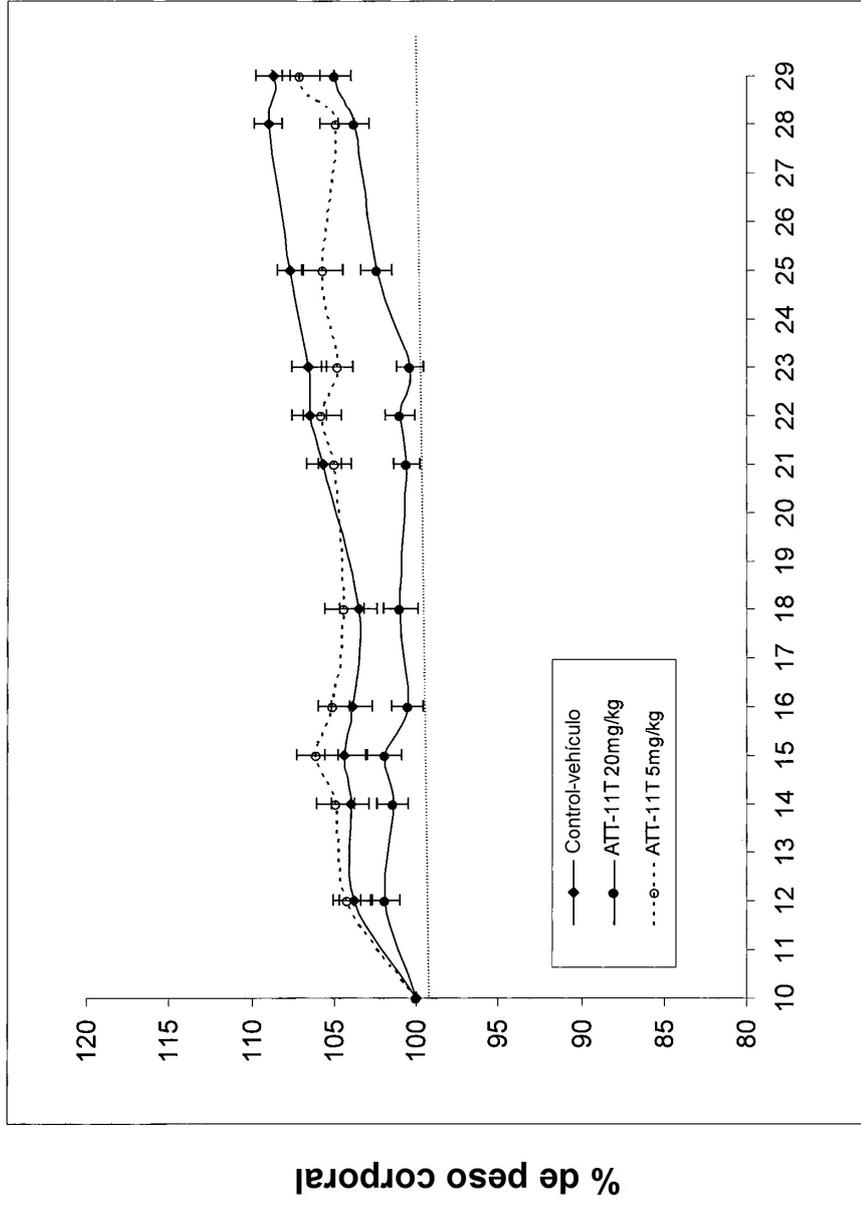
Día

Figura 4A



Día

Figura 4B



Día

Figura 5

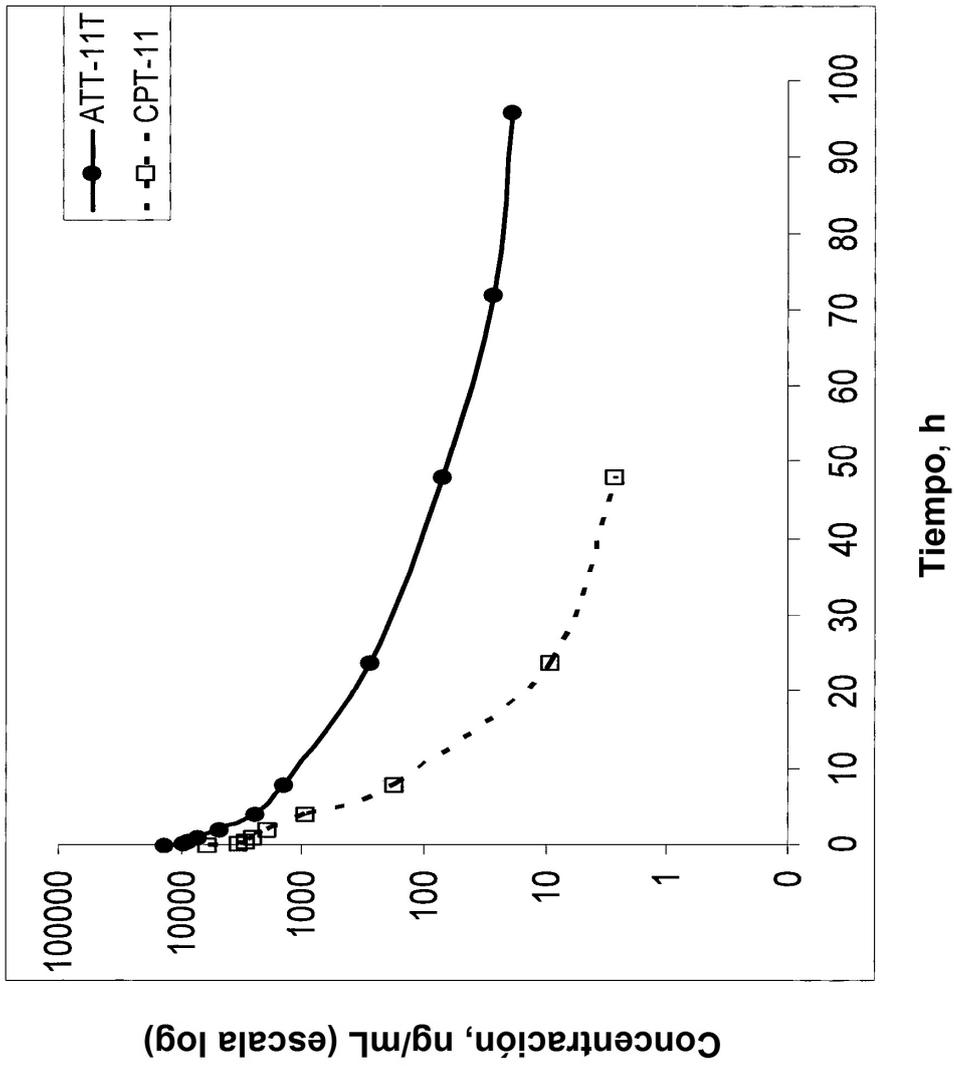


Figura 6A

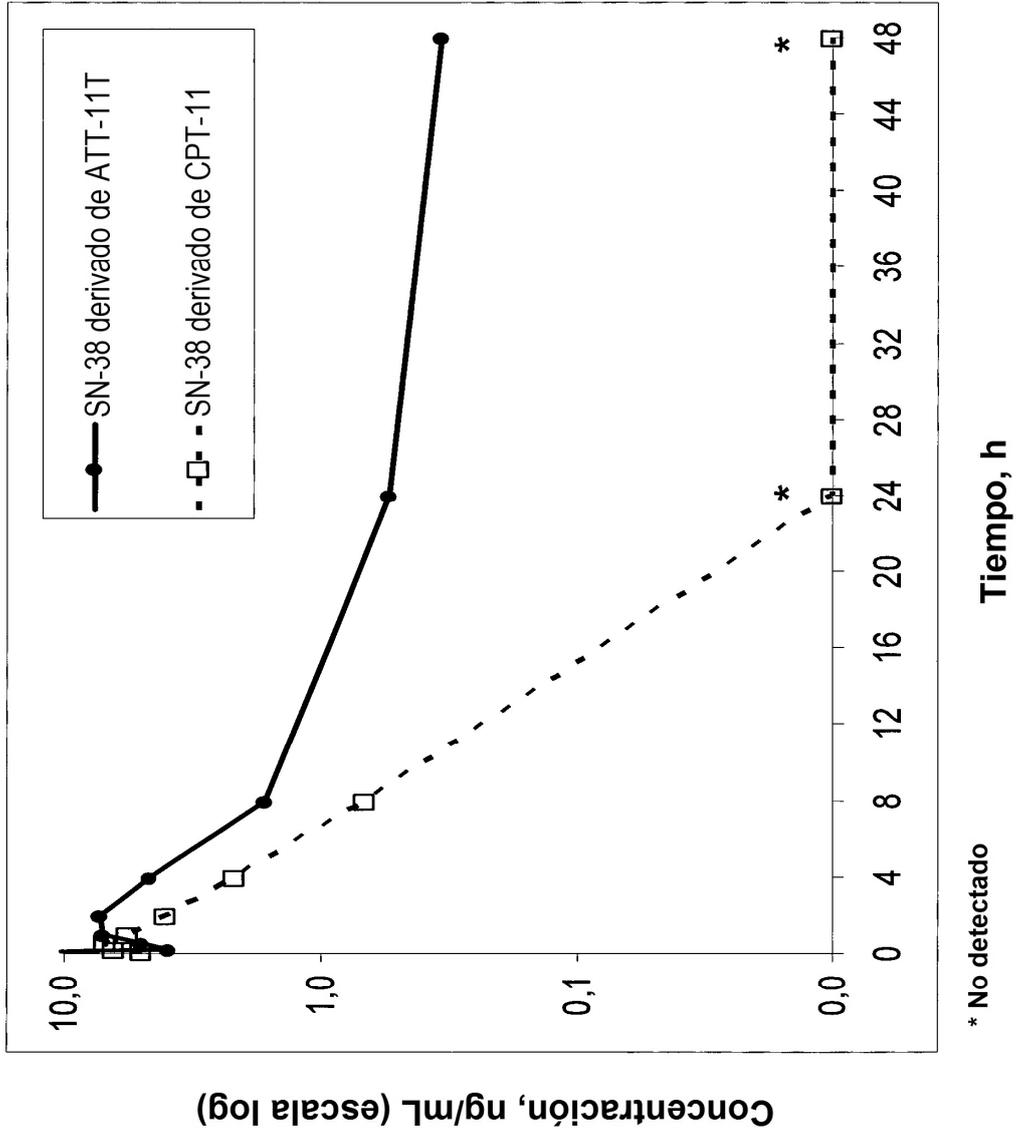


Figura 6B

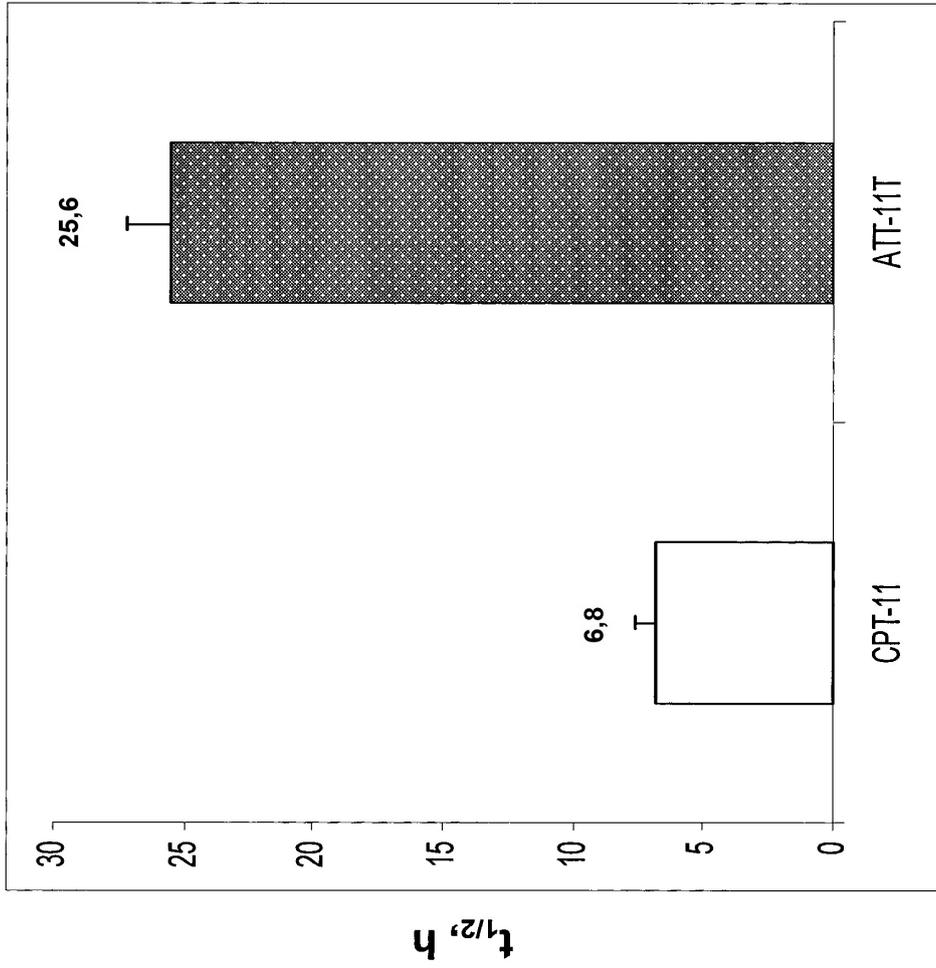


Figura 7A

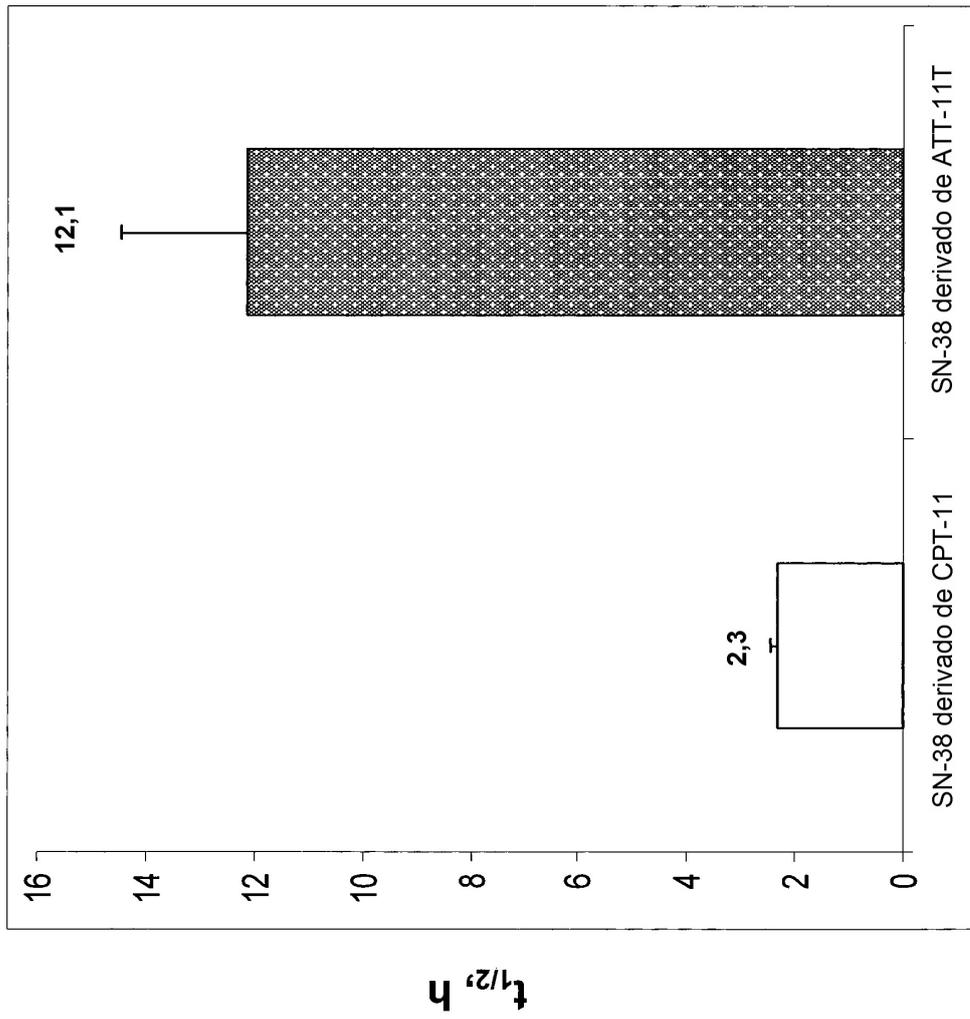


Figura 7B

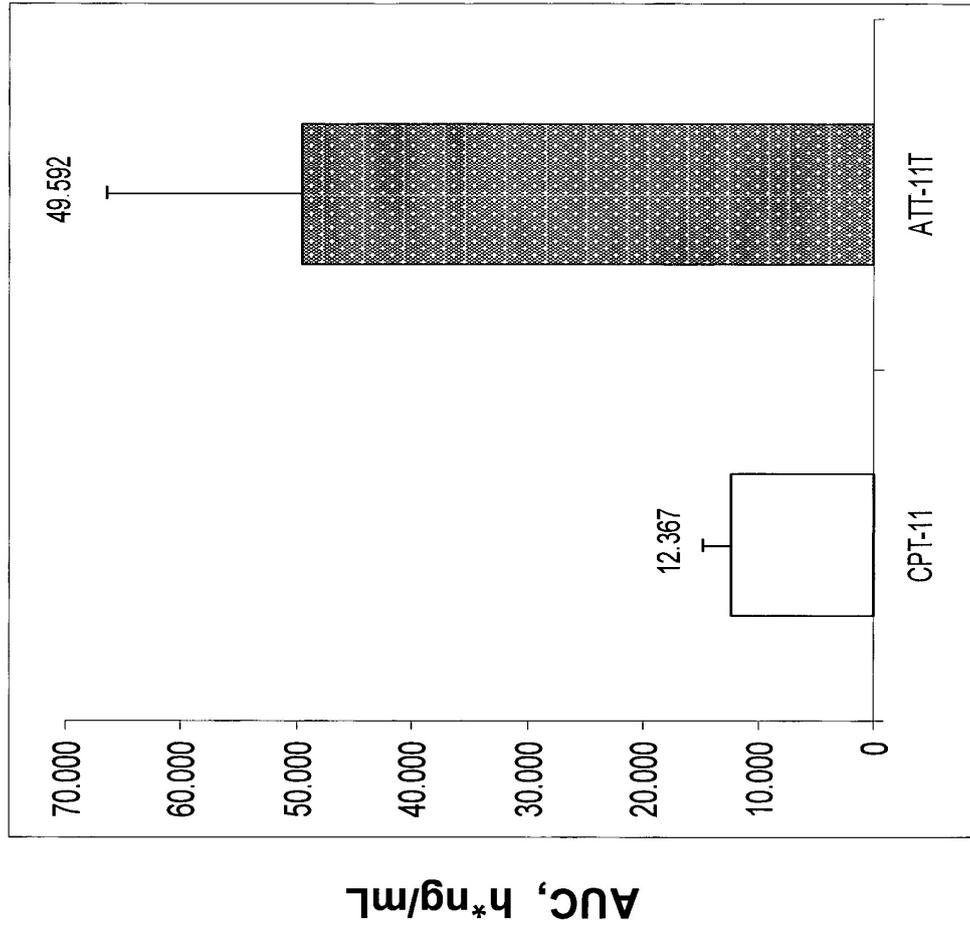


Figura 8A

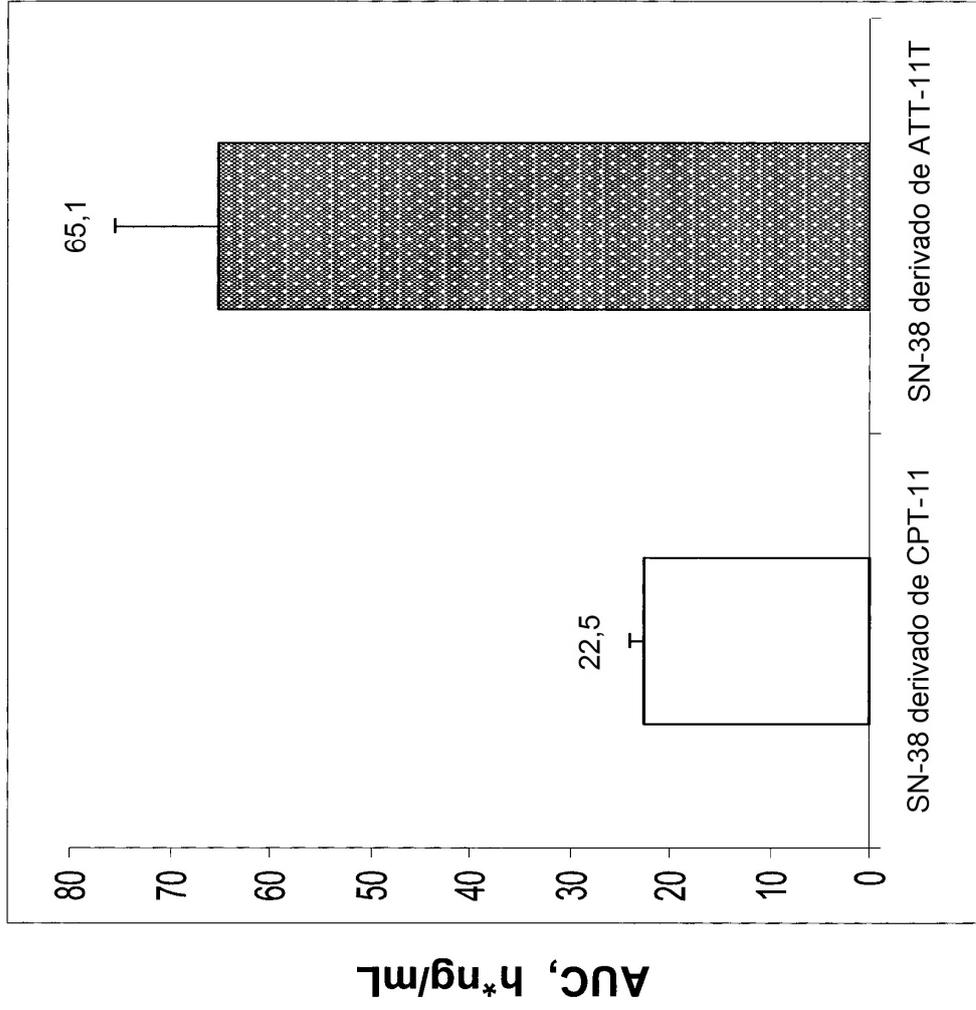


Figura 8B