

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 152**

51 Int. Cl.:

A01N 43/00 (2006.01)

A01N 43/46 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.02.2008 PCT/US2008/001549**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.08.2008 WO08097561**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2008 E 08725214 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.04.2017 EP 2124550**

54 Título: **Oxabicloheptanos y oxabicloheptenos, su preparación y uso**

30 Prioridad:

06.02.2007 US 899903 P
14.08.2007 US 964904 P
15.01.2008 US 11323

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.09.2017

73 Titular/es:

LIXTE BIOTECHNOLOGY, INC. (100.0%)
ROUTE 25 A NO. 2
EAST SETAUKET, NY 11773, US

72 Inventor/es:

KOVACH, JOHN, S. y
JOHNSON, FRANCIS

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 634 152 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

Oxabicicloheptanos y oxabicycloheptenos, su preparación y uso

A lo largo de este documento, se hace referencia a ciertas publicaciones. Las citas completas para estas publicaciones pueden ser halladas inmediatamente antes de las reivindicaciones.

5 Fundamento de la invención

Los retinoides, metabolitos de vitamina A, han sido examinados terapéuticamente contra una variedad de tumores, incluyendo gliomas. (Yung et al. (1996)) El co-represor del receptor nuclear (N-CoR) está íntimamente asociado con el receptor retinoide y es liberado por unión de ligando al receptor. (Bastien et al. (2004)) Previene la acción de la proteína fosfatasa-1 y proteína fosfatasa-2A, las anti-fosfatasas incrementan la forma fosforilada de N-CoR y promueve su subsiguiente translocación citoplasmática. (Hermanson et al. (2002))

10

El inhibidor de fosfatasa, cantaridina, tiene actividad anti-tumoral contra cánceres humanos del hígado (hepatomas) y del tracto gastrointestinal superior, pero es tóxico al tracto urinario (Wang, 1989).

La publicación de un reporte según el cual la cantaridina actúa como una proteína inhibidora de fosfatasa estimuló un interés más general en compuestos con este tipo de estructura química (Li y Casida, 1992). Previamente, se había hallado que el congénere más simple y su producto de hidrólisis (disponibles comercialmente como el herbicida, endothall) son hepatotóxicos (Graziani y Casida, 1997). Estudios relacionados han mostrado que la acción de ciertos homólogos de cantaridina es directa sobre la proteína fosfatasa-2A e indirecta sobre la proteína fosfatasa-1 (Honkanen et al., 1993; Li et al., 1993).

15

De los congéneres conocidos de este tipo de compuesto, sólo el progenitor, cantaridina y su derivado de bis(normetilo), norcantaridina, han visto algún uso como sustancias medicinales contra el cáncer y sólo la norcantaridina es usada como un agente antineoplásico (Tsauer et al., 1997).

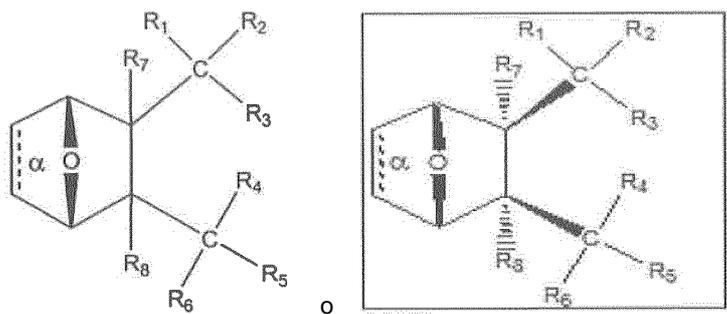
20

Independientemente de estos éxitos, algunos compuestos de este tipo han sido discriminados frente a la actividad anti-tumoral o citotóxica. Actualmente, existe una necesidad significativa para desarrollar inhibidores de proteínas fosfatasas que sean más activos, menos tóxicos y más específicos en la acción, que las sustancias conocidas mencionadas anteriormente.

25

Resumen de la invención

Un compuesto que tiene la estructura



en la que

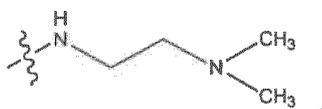
30 el enlace α está presente o ausente;

R_1 y R_2 es cada uno independientemente H, O^- , u OR_9 ,

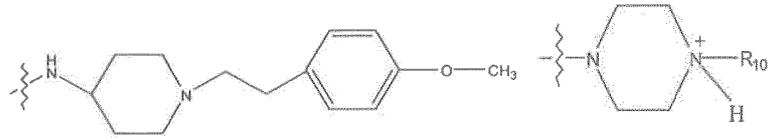
donde R_9 es H, alquilo, alquenoilo, alquinoilo o arilo, o R_1 y R_2 son juntos =O;

R_3 es OH, O^- , OR_9 , SH, S^- , SR_9 ;

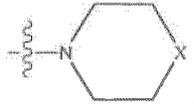
R_4 es



35



o



5 donde X es O, S, NR₁₀, o N⁺R₁₀R₁₀,

donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,



-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁ o -NH⁺(R₁₁)₂,

10 donde cada R₁₁ es alquilo o H;

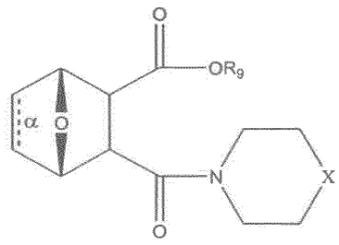
R₅ y R₆ es cada uno independientemente H, OH, o R₅ y R₆ tomados juntos son =O; y

R₇ y R₈ es cada uno independientemente H, F, Cl, Br, SO₂F, CO₂CH₃, o SR₁₂,

donde R₁₂ es H, arilo o un alquilo sustituido o no sustituido, alquenilo o alquinilo,

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

15 Un compuesto que tiene la estructura



en la que

el enlace α está presente o ausente;

R₉ está presente o ausente y cuando está presente es H, alquilo, alquenilo, alquinilo o fenilo; y

20 X es NR₁₀, NH⁺ R₁₀ o N⁺R₁₀R₁₀,

donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,



-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₂, o -CH₂COR₁₂, donde R₁₂ es H o alquilo,

o una sal, zwitteriones, o enantiómero del compuesto.

Esta invención contempla además un compuesto de acuerdo con la invención, para el uso en la prevención o tratamiento de infecciones fúngicas.

5 Esta invención contempla además un compuesto de acuerdo con la invención, para el uso en el tratamiento de cáncer.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Curva logarítmica de línea de célula gliomal U373 tratada con endothal (End), tioanhídrido de endothal (ET), nor-cantaridina (nor-Can) o compuesto 100. El aumento de las dosificaciones demuestra una mayor inhibición del crecimiento. Las barras de error indican SD.

10 Figura 2: Inhibición de línea de célula gliomal U373 tratada con endothal (End) o compuesto 100 o cada una con y sin ácido retinoico todo trans (ATRA) por 7 días. El tratamiento individual con endothal y compuesto 100 muestra una modesta inhibición de crecimiento. La combinación de End o compuesto 100 con ATRA muestra reducción sinérgica en el crecimiento celular. Las barras de error indican SD.

15 Figura 3: Inhibición de crecimiento de línea de célula de cáncer de riñón, UMRC por tioanhídrido de endothal (ET), endothal (End), ácido retinoico todo trans (ATRA), tricostatin A (TSA) y norcantaridina (nor-can) por 7 días. Las barras de error indican SD.

20 Figura 4: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por tioanhídrido de endothal (ET), endothal (End), ácido retinoico todo trans (ATRA), tricostatin A (TSA) y norcantaridina (nor-can) por 7 días. El tratamiento individual con tioanhídrido de endothal mostró la inhibición más grande de crecimiento. Las barras de error indican SD.

Figura 5: Inhibición de crecimiento de línea de célula de cáncer de mama, MCF-7 por inhibición de UMRC por tioanhídrido de endothal (ET), endothal (End), ácido retinoico todo trans (ATRA), tricostatin A (TSA) y norcantaridina (nor-can) por 7 días. El tratamiento con dosificaciones individuales de endothal, ATRA y TSA mostró una inhibición en el crecimiento. Las barras de error indican SD.

25 Figura 6: Curva logarítmica de línea de célula gliomal U373 tratada con 1-(3-exocarboxi-7-oxabicyclo[2.2.1]heptano-2-exocarbonil)-4-etilpiperazina (compuesto 105) después de tres días. El incremento en las dosificaciones demuestra una mayor inhibición del crecimiento.

30 Figura 7: Curva logarítmica de línea de célula U373 humana GBM tratada con 1-(3-exocarboxi-7-oxabicyclo[2.2.1]heptano-2-exocarbonil)-4-etilpiperazina (compuesto 105) después de siete días. El incremento las dosificaciones demuestra una mayor inhibición de crecimiento.

Figura 8: Inhibición de crecimiento de línea de célula U373 humana GBM tratada con compuesto 105 por siete días. la gráfica muestra inhibición de crecimiento durante siete días a las siguientes dosificaciones: 1, 2, 5, 10, 50 y 100 μ M de compuesto 105, 10 μ M de compuesto 100, y una dosificación de control.

Figura 9: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 105 durante 7 días.

35 Figura 10: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 102 durante 7 días.

Figura 11: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 101 durante 7 días.

Figura 12: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 103 durante 7 días.

Figura 13: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 104 durante 7 días.

Figura 14: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 106 durante 7 días.

40 Figura 15: Inhibición de crecimiento de línea de célula gliomal U373 por compuesto 100 durante 7 días.

Figura 16: Inhibición de crecimiento de línea de células de meduloblastoma DAOY por compuesto 100 durante 7 días.

Figura 17: Efecto del compuesto 100 sobre volumen de tumor xenoinjerto U87 durante 26 días.

Figura 18: Efecto del compuesto 100 y compuesto 102 sobre volumen de tumor xenoinjerto DAOY durante 23 días.

45 Figura 19A: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la

exposición de células MDAMB-231 al compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

5 Figura 19B: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células HT-29 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

10 Figura 19C: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células NCIH460 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

15 Figura 19D Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células NCIH522 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

Figura 19E Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células NCIH69 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

20 Figura 19F: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células GXF-209 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

25 Figura 19G: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células HepG2 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

30 Figura 19H: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células OVCAR-3 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

35 Figura 19I: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células PANC-1 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

Figura 19J Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células DU-145 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

40 Figura 19K: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células LNCAP al compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

45 Figura 19L: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células HL-60 al compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

50 Figura 19M: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la exposición de células K-562 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

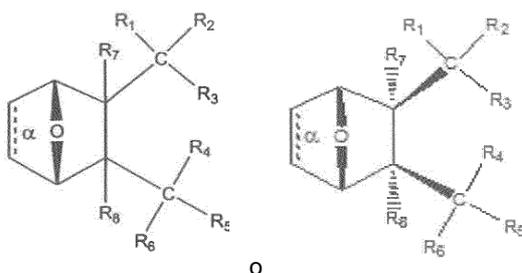
Figura 19N: Representación gráfica (I) y ajuste de curva con valor (II) IC_{50} de datos obtenidos siguiendo la

exposición de células MOLT-4 a compuesto 100 y compuesto 102 usando el ensayo CellTiter-Glo. En I se muestran también los efectos de doxorubicina 10 μM que fue usada como un control positivo. Cada punto representa el promedio \pm DE de al menos triplicado de las muestras.

- 15 -

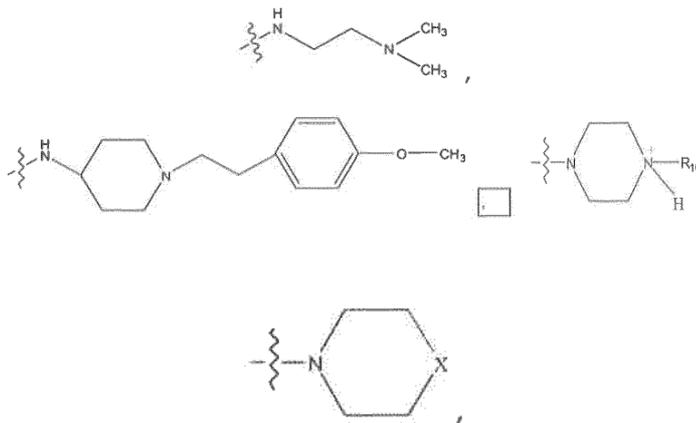
5 Descripción detallada de la invención

Un compuesto que tiene la estructura



en la que el enlace α está presente o ausente; R_1 y R_2 son cada uno independientemente H, O⁻, OR₉, donde R₉ es H, alquilo, alqueniilo, alquinilo o arilo, o R_1 y R_2 son juntos =O; R_3 es OH, O⁻, OR₉, SH, S⁻, SR₉;

10 R_4 es



donde X es O, S, NR₁₀, N⁺R₁₀R₁₀,

15 donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alqueniilo, alqueniilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R_1 y R_2 son =O,

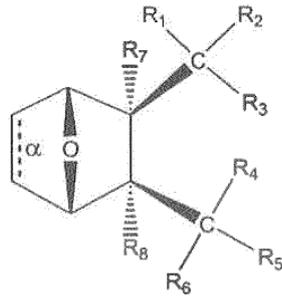


-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁, -NH⁺(R₁₁)₂

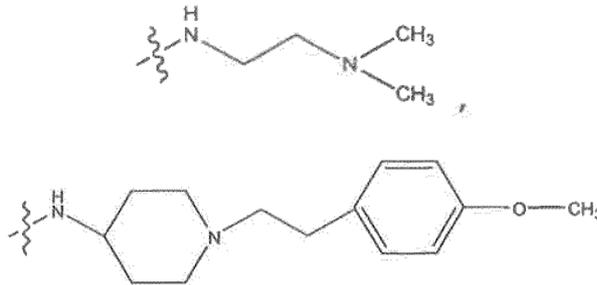
donde cada R₁₁ es independientemente alquilo o H;

20 R_5 y R_6 son cada uno independientemente H, OH, o R_5 y R_6 tomados juntos son =O; y R_7 y R_8 es cada uno independientemente H, F, Cl, Br, SO₂F, CO₂CH₃, o SR₁₂, donde R₁₂ es H, arilo o un alquilo, alqueniilo o alquinilo sustituido o no sustituido, o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

Una realización de la invención suministra un compuesto de la estructura

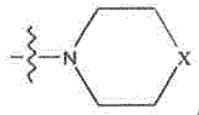


La invención suministra además la composición presente, en la que R₁ y R₂ son juntos =O; R₃ es O⁻ u OR₉, donde R₉ es H, metilo, etilo o fenilo; R₄ es



5

o



donde X es O, S, NR₁₀ o N⁺R₁₀R₁₀,

10 donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,



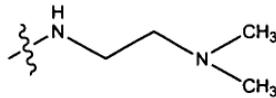
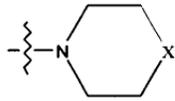
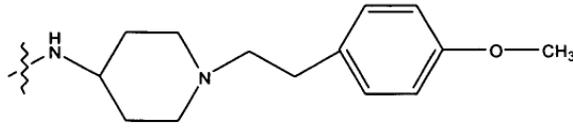
-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁, -NH⁺(R₁₁)₂

donde R₁₁ es alquilo o H;

15 R₅ y R₆ tomados juntos son =O; y R₇ y R₈ es cada uno independientemente H, F, Cl, Br, SO₂F, CO₂CH₃, o SR₁₂, donde R₁₂ es H o un alquilo, alquenilo o alquinilo sustituido o no sustituido.

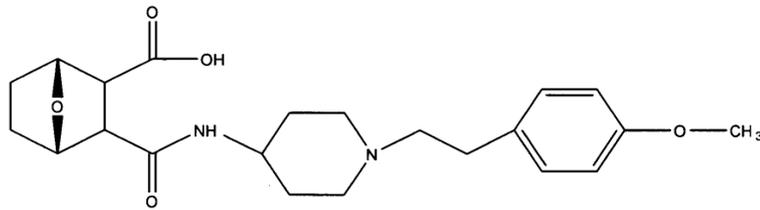
La invención suministra además la composición presente, en la que R₃ es O⁻.

La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



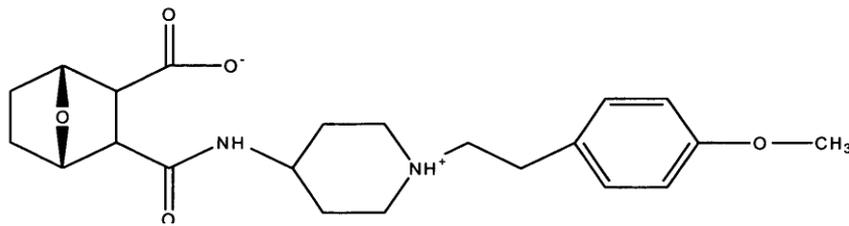
o

En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 104)

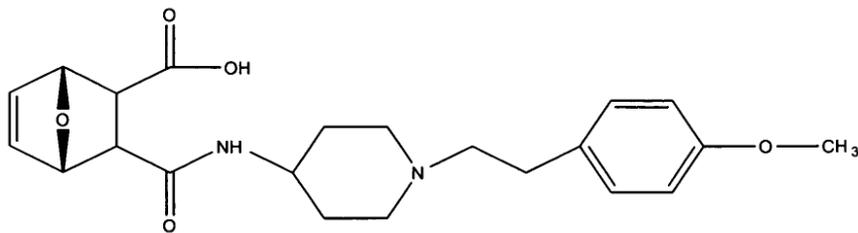


5

o

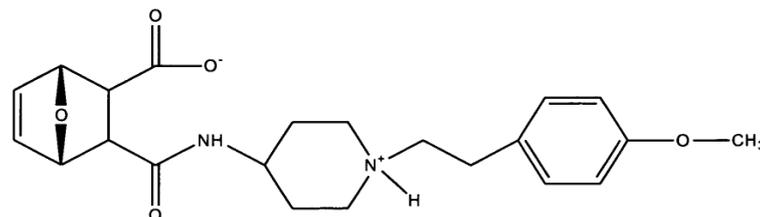


En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 104E)

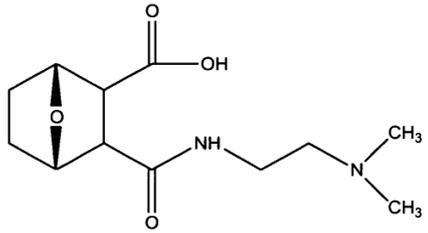


10

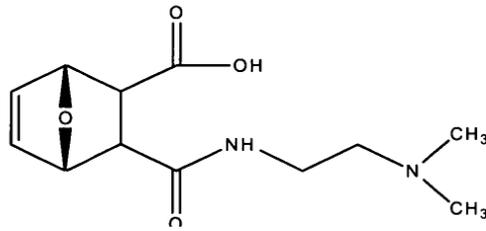
o



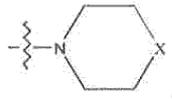
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 106)



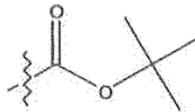
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 106E)



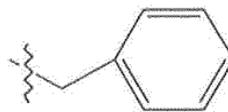
5 La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



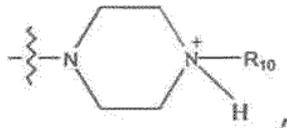
donde X es O, NR₁₀, o N⁺R₁₀R₁₀, donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido,



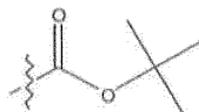
10 o



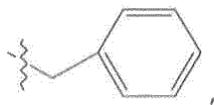
La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



15 donde R₁₀ es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,

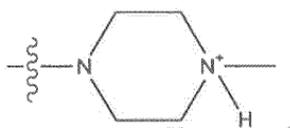


o

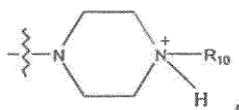


-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁, o NH⁺(R₁₁)₂, donde R₁₁ es H o alquilo.

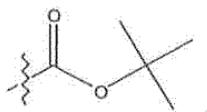
La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



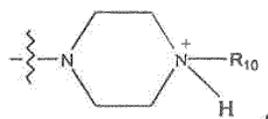
5 La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



donde R₁₀ es

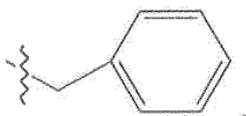


La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es

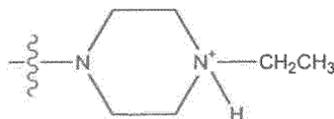


10

donde R₁₀ es



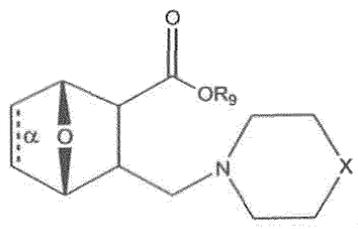
La invención suministra además la composición presente, en la que R₄ es



15 La invención suministra además la composición presente, en la que R₅ y R₆ son juntos =O.

La invención suministra además la composición presente, en la que R₇ y R₈ son cada uno H.

La invención también suministra un compuesto que tiene la estructura

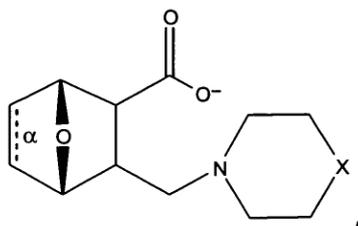


5 en la que el enlace α está presente o ausente; R_9 está presente o ausente y cuando está presente es H, alquilo C₁-C₁₀, alquenilo C₂-C₁₀ o fenilo; y X es O, S, NR₁₀ o N⁺R₁₀R₁₀, donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquinilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,

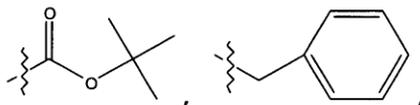


-CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -CH₂CN, o -CH₂CH₂R₁₆, donde R₁₁ es H o alquilo, y donde R₁₆ es cualquier sustituyente que es un precursor intermedio a un aziridinilo, o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

En una realización, la invención suministra la estructura

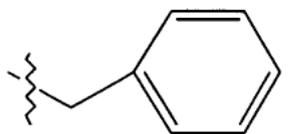
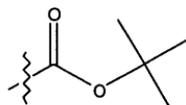


10 en la que el enlace α está presente o ausente; X es O, S, NR₁₀ o N⁺R₁₀R₁₀, donde cada R₁₀ es independientemente H, alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, C₄-C₁₂ alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,



15 -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -CH₂CN, o -CH₂CH₂R₁₆, donde R₁₁ es H o alquilo, y donde R₁₆ es cualquier sustituyente que es un precursor de un intermediario aziridinilo, o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

20 La invención suministra además una realización en la que X es O o NH⁺R₁₀, donde R₁₀ es H, alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,

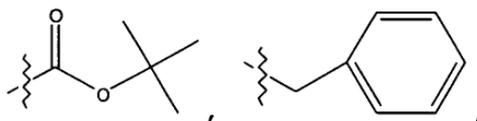


La invención suministra además una realización en la que X es O.

La invención suministra además una realización en la que X es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}_{16}$, donde R_{16} es cualquier sustituyente que es un precursor de un intermediario aziridinilo.

La invención suministra además una realización en la que X es NH^+R_{10} ,

- 5 donde R_{10} es H, alquilo, alquilo $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ sustituido, alquenilo, alquenilo $\text{C}_4\text{-C}_{12}$ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,

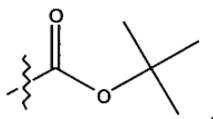


$-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}_{11}$, $-\text{CH}_2\text{COR}_{11}$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, o $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{R}_{16}$,

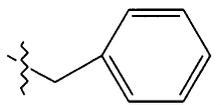
donde R_{11} es H o alquilo, y donde R_{16} es cualquier sustituyente que es un precursor de un intermediario aziridinilo.

- 10 La invención suministra además una realización, en la que R_{10} es metilo.

La invención suministra además una realización, en la que R_{10} es



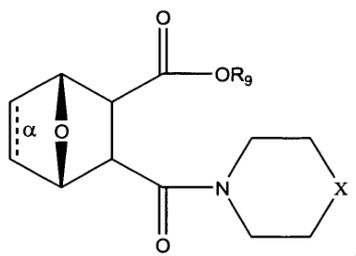
La invención suministra además una realización, en la que R_{10} es



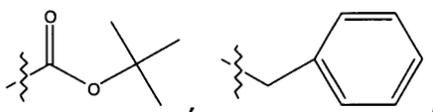
- 15 La invención suministra además una realización, en la que R_{10} es etilo.

La invención suministra además una realización, en la que R_{10} está ausente.

En otra realización, la invención suministra la estructura



- 20 en la que R_9 está presente o ausente y cuando está presente es H, alquilo, alquenilo, alquinilo o fenilo; y X es O, NR_{10} o $\text{N}^+\text{R}_{10}\text{R}_{10}$, donde cada R_{10} es independientemente alquilo, alquilo $\text{C}_2\text{-C}_{12}$ sustituido, alquenilo, alquenilo $\text{C}_4\text{-C}_{12}$ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,

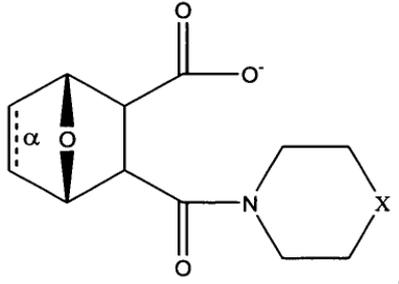


$-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}_{11}$, $-\text{CH}_2\text{COR}_{11}$, o $-\text{CH}_2\text{CN}$, donde R_{11} es H o alquilo,

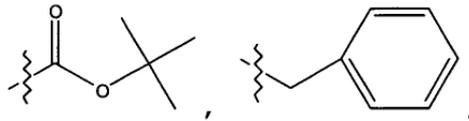
o una sal, zwitterion o enantiómero del compuesto.

En otra realización de la invención, R₁₀ es ciclopropilo.

En otra realización, la invención suministra la estructura

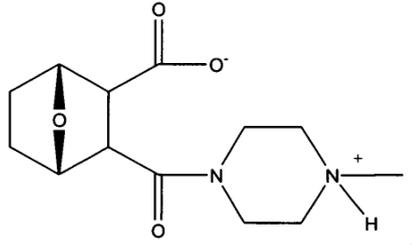


5 en la que X es O o NH⁺R₁₀, donde R₁₀ está presente o ausente y cuando está presente es alquilo, alqueniilo o alquinilo, cada uno de los cuales es sustituido o no sustituido,

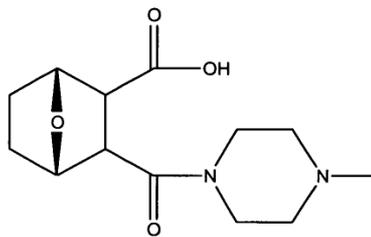


-CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, o -CH₂CN, donde R₁₁ es H o alquilo.

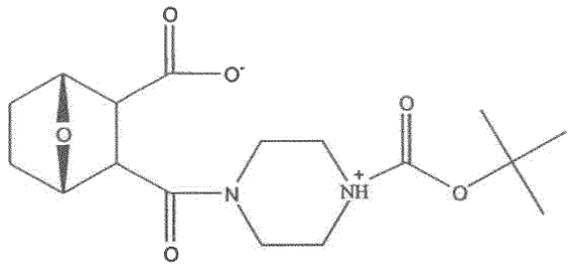
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 100)



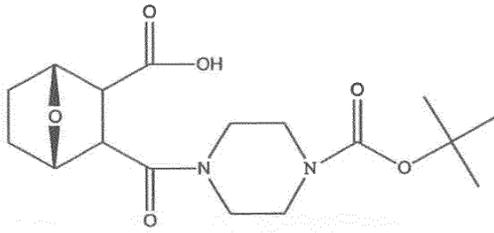
10 o



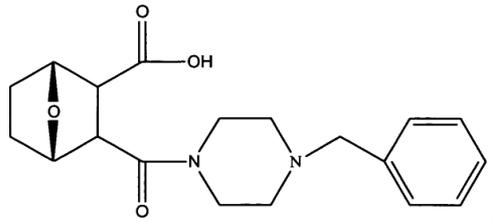
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 102)



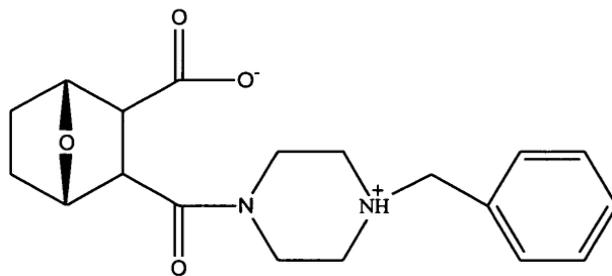
o



En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 103)

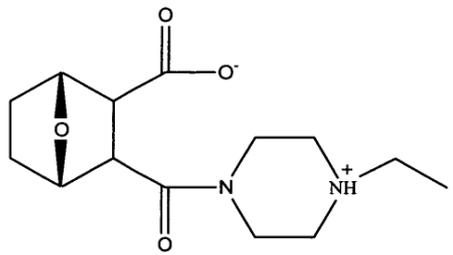


o

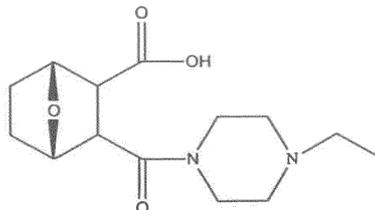


5

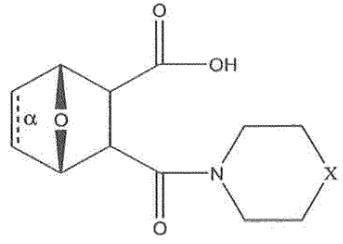
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 105)



o



10 En otra realización, la invención suministra la estructura



en la que X es O, NR₁₀ o NH⁺R₁₀,

donde R₉ es alquilo, alquenilo, alquinilo o arilo, y

donde R₁₀ es alquilo, alquenilo o alquinilo, cada uno de los cuales es sustituido o no sustituido,

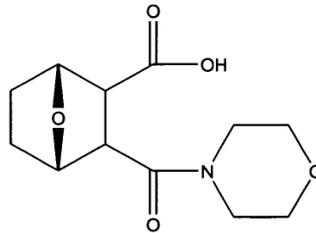


5

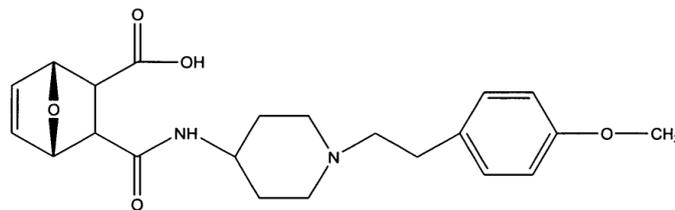
-CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, o -CH₂CN, donde R₁₁ es H o alquilo.

En otra realización de la invención, R₁₀ es ciclopropilo.

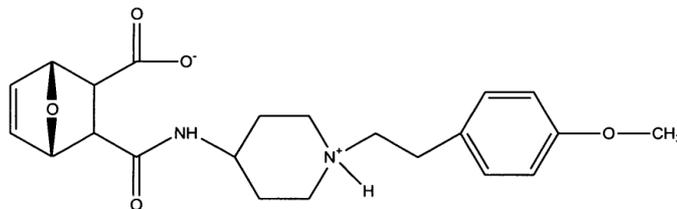
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 111)



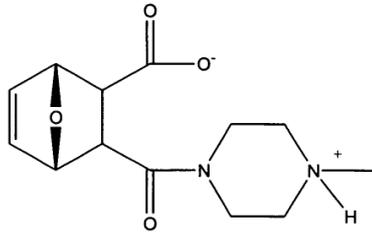
10 En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 104E)



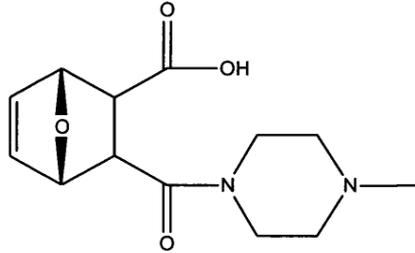
o,



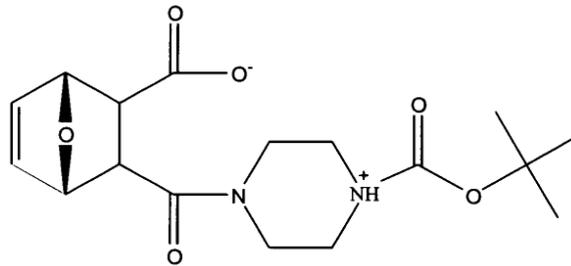
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 100E)



o

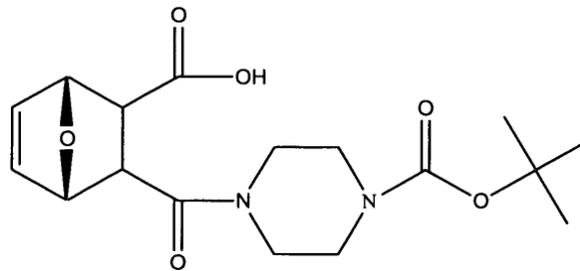


En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 102E)

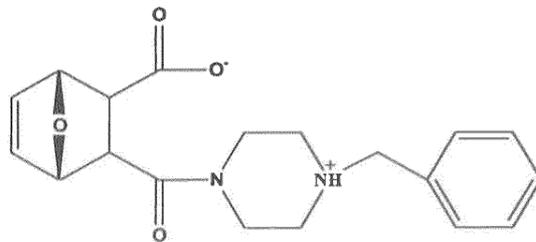


5

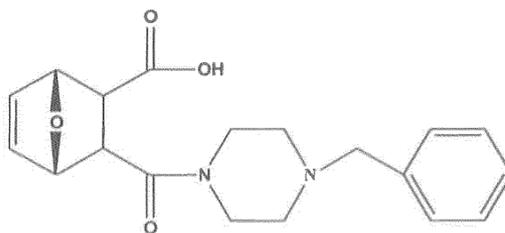
o



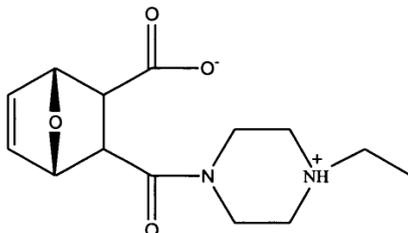
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 103E)



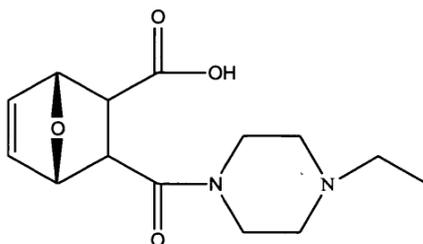
10 o



En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 105E)

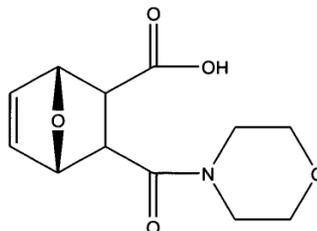


o

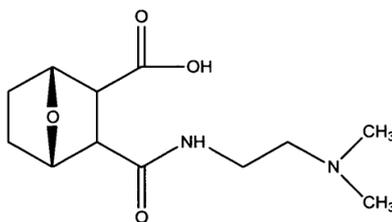


5

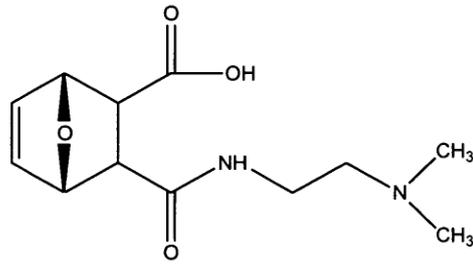
En una realización, la invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 111E)



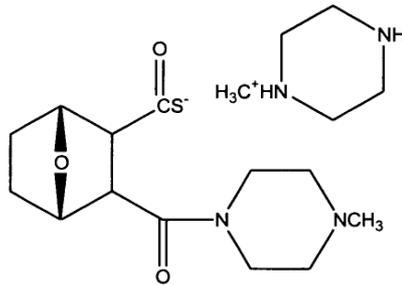
Esta invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 106)



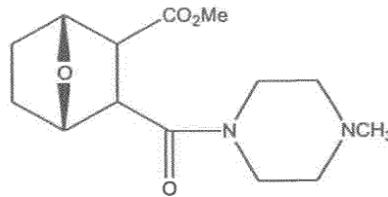
10 Esta invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 106E)



Esta invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 108)

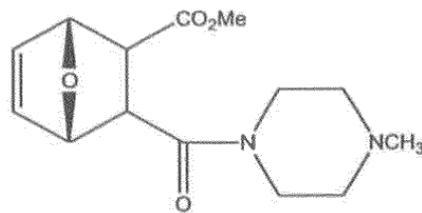


Esta invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 107)



5

Esta invención suministra un compuesto que tiene la estructura (compuesto 107E)

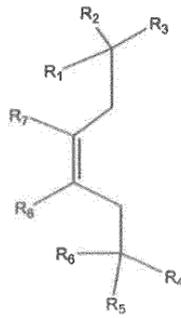


La invención suministra una composición farmacéutica que comprende los compuestos de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

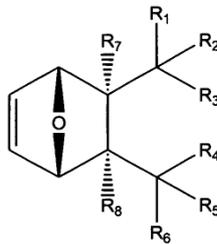
10 La invención suministra también un proceso para fabricar un compuesto que comprende la reacción de un compuesto que tiene la estructura



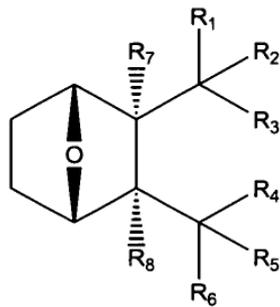
con un compuesto que tiene la estructura



para formar un compuesto que tiene la siguiente estructura



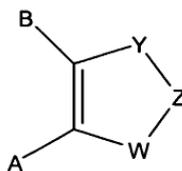
- 5 reaccionando un compuesto que tiene la estructura anterior con hidrógeno en presencia de un catalizador para formar



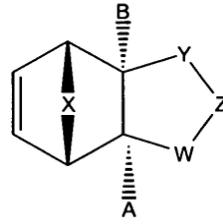
La invención también suministra un proceso para fabricar un compuesto que comprende la reacción de un compuesto que tiene la estructura



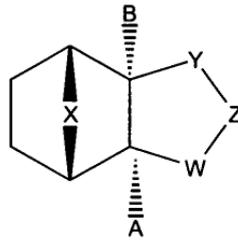
- 10 con un compuesto que tiene la estructura



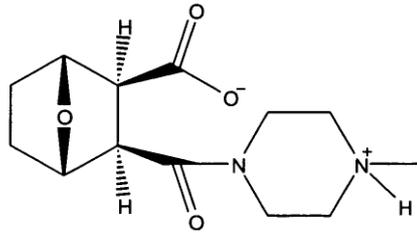
para formar un compuesto que tiene la siguiente estructura



reaccionando un compuesto que tiene la anterior estructura con hidrógeno en presencia de un catalizador para formar

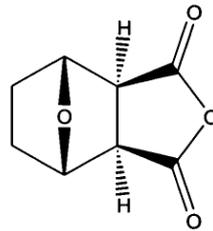


5 La invención suministra también un proceso para fabricar un compuesto que tiene la estructura

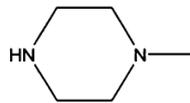


que comprende

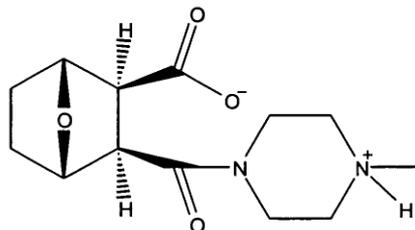
la disolución de un compuesto que tiene la siguiente estructura



10 en benceno y adición de un compuesto que tiene la estructura

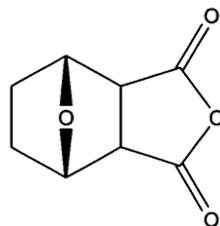


a temperatura ambiente para producir un compuesto que tiene la estructura



y recristalización del compuesto producido, desde un solvente caliente.

La invención suministra también un proceso para fabricar un compuesto que comprende disolución de un compuesto que tiene la siguiente estructura

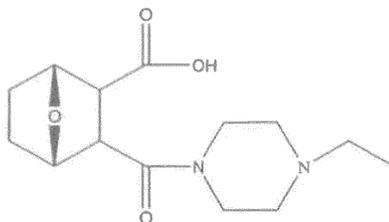


en benceno y adición de un compuesto que tiene la estructura



5

a temperatura ambiente para producir un compuesto que tiene la estructura



recristalizando el compuesto producido, desde un solvente caliente.

En una realización, el solvente es dimetilformamida (DMF) o etanol.

- 10 La invención suministra un compuesto de acuerdo con la invención, para el uso en el tratamiento de un tumor que sobreexpresa NCoR. Esto involucra la administración al paciente de uno o más de los compuestos de esta invención, solos o en combinación con uno o más ligandos de receptor de retinoide, o uno o más ligandos de histona desacetilasa, o ambos, en cada caso en una cantidad efectiva para tratar el paciente.

En una realización, el compuesto es seleccionado de compuesto 100 y compuesto 105.

- 15 En los usos de la invención, el ligando de histona desacetilasa puede ser un inhibidor, por ejemplo el inhibidor de histona desacetilasa de HDAC-3 (histona desacetilasa-3). el ligando de histona desacetilasa puede ser seleccionado también de un grupo que consiste en 2-amino-8-oxo-9,10-epoxi-decanoilo, 3-(4-aroil-1H-pirrol-2-il)-N-hidroxi-2-propenamida, AFA compuesto 8, apicidina, arginina butirato, ácido butírico, depsipéptido, depudecin, HDAC-3, bis-hidroxamida del ácido m-carboxicinámico, N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridin-3-ilmetoxicarbonil) aminometil] benzamida, MS 275, oxamfiatin, fenilbutirato, piroxamide, escriptaid, sirtinol, butirato de sodio, ácido subérico bishidroxámico, ácido suberoilánilida hidroxámico, tricostatin A, trapoxin A, trapoxin B y ácido valproico.

- 25 Los compuestos de esta invención pueden ser usados en combinación con compuestos que inhiben la enzima histona desacetilasa (HDAC). Estas enzimas HDAC modifican de forma post-translacional las histonas (documento de EEUU No. 2004/0197888, Armour et al.) Las histonas son grupos de proteínas que se asocian con ADN en células eucariotas para formar estructuras compactas llamadas cromatina. Esta compactación permite que una enorme cantidad de ADN se localice dentro del núcleo de una célula eucariota, pero la estructura compacta de cromatina restringe el acceso de factores de transcripción al ADN. La acetilación de las histonas reduce la compactación de la cromatina permitiendo que los factores de transcripción se unan al ADN. La desacetilación, catalizada por histona desacetilasas (HDACs), aumenta la compactación de la cromatina, reduciendo con ello la accesibilidad del factor de transcripción al ADN. Por ello, los inhibidores de histona desacetilasas previenen la compactación de la cromatina, permitiendo que los factores de transcripción se unan al ADN y aumentan la expresión de los genes.

- 30 En los usos de la invención, una evaluación del porcentaje de células con N-CoR en el citoplasma, respecto al porcentaje de células con N-CoR en el núcleo, es representativo de la relación del número de células más diferenciadas al número de células menos diferenciadas, en un tejido dado.

35

En el uso de la invención, los tumores que sobreexpresan N-CoR pueden incluir glioblastoma multiforme, cáncer de mama, cáncer colorectal, cáncer de pulmón de célula pequeña o cáncer de ovario.

5 Esta invención también suministra un compuesto de acuerdo con la invención para el uso en la inhibición de crecimiento de un tumor que sobreexpresa N-CoR en un paciente. Esto involucrará la administración al paciente de uno o más de los compuestos de esta invención, solos o en combinación con uno o más ligandos de receptor de retinoide, uno o más ligandos de histona desacetilasa, o ambos, en cada caso en cantidades efectivas para afectar N-CoR de modo que mediante ello se induce la diferenciación de células del tumor que sobreexpresa N-CoR y e inhibir el crecimiento del tumor del paciente.

En una realización, el compuesto es seleccionado del compuesto 100 y compuesto 102.

10 En los usos de la invención, una evaluación del porcentaje de células con N-CoR en el citoplasma respecto al porcentaje de células con N-CoR en el núcleo es representativo de la relación del número de células más diferenciadas a la relación de células menos diferenciadas en tejido dado.

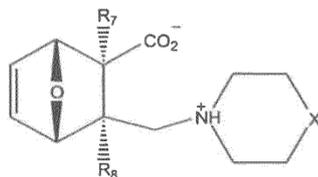
En el uso de la invención, los tumores que sobreexpresan N-CoR pueden incluir glioblastoma multiforme, cáncer de mama, cáncer colorectal, cáncer de pulmón de célula pequeña o cáncer de ovario.

15 Esta invención contempla además un compuesto de acuerdo con la invención para uso en la prevención o tratamiento de infecciones fúngicas. Esto involucrará la administración al sujeto de una cantidad efectiva de los compuestos de esta invención.

Esta invención contempla además un compuesto de acuerdo con la invención, para uso en el tratamiento de cáncer. Esto involucrará la administración al sujeto de una cantidad efectiva de los compuestos de la invención.

20 Esta invención contempla además un compuesto de acuerdo con la invención para uso en tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón de célula pequeña, adenocarcinoma del pulmón, cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de estómago, cáncer de hígado, adenocarcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, leucemia promielocítica, leucemia mielocítica crónica, o leucemia linfocítica aguda. Esto involucrará la administración al sujeto de una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos de la invención.

En una realización de la invención, el compuesto tiene la estructura



30 Como se usa aquí, "zwitterion" indica un compuesto que es eléctricamente neutro pero lleva cargas formales positiva y negativa sobre diferentes átomos. Los zwitteriones son polares, tienen elevada solubilidad en agua y tienen pobre solubilidad en la mayoría de solventes orgánicos.

Las aziridinas son compuestos orgánicos que comparten el grupo funcional aziridina, que es un heterociclo de tres miembros con un grupo amino y dos grupos metileno. Los precursores de intermediarios de aziridinilo incluyen compuestos conocidos por aquellos expertos en la técnica, que suministran fácilmente intermediarios de arizidinilo bajo condiciones adecuadas.

35 Los compuestos descritos en la presente invención están en forma racémica o como enantiómeros individuales. Los enantiómeros pueden ser separados usando técnicas conocidas, tales como aquellas descritas por ejemplo en Pure and Applied Chemistry 69, 1469-1474, (1997) IUPAC.

40 Como se usa aquí, "sobreexpresando N-CoR" indica que el nivel del correceptor de receptor (N-CoR) expresado en células del tejido probado, está elevado en comparación con los niveles de N-CoR medidos en células saludables normales del mismo tipo de tejido, bajo condiciones análogas. El correceptor de receptor nuclear (N-CoR) del objeto de la invención puede ser cualquier molécula que se liga al dominio de unión de ligando del receptor de hormona tiroidea unida a ADN (T3R) y receptor de ácido retinoico (RAR). (documento de EEUU No. 6,949,624, Liu et al.) Ejemplos de tumores que sobreexpresan NCoR pueden incluir glioblastoma multiforme, cáncer de mama (Myers et al.), cáncer colorectal (Giannini y Cavallini), carcinoma de pulmón de célula pequeña (Waters et al.) o cáncer de ovario (Havrilesky et al.).

Como se usa aquí "solvente" pretende incluir compuestos tales como, hexanos, benceno, tolueno, dietil éter,

5 cloroformo, cloruro de metileno, acetato de etilo, 1,4-dioxano, agua, THF, acetona, acetonitrilo, DMF, DMSO, ácido acético, n-butanol, isopropanol, n-propanol, etanol, metanol, ácido fórmico, tetracloruro de carbono, bencenotiol, clorobenceno, ciclohexanotiol, 1-dietilaminoetanol, dicloruro de etileno, etilen glicol, xileno, 1,1,2,2-tetracloroetano, fenol, ácido acético, 1-butanol, 2-butanol, 2-butanona, diglima, dimetiléter, dioxano, éter de petróleo, (NMP) N-metil-2-pirrolidinona, heptano, glicerina, HMPA(hexametilfosforo triamida), MTBE (metil t-butil éter), nitrometano, piridina, 1-propanol, 2-propanol, y trietilamina.

10 Ciertas realizaciones de los compuestos divulgados pueden contener un grupo funcional básico, tal como amino o alquilamino, y son así capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con ácidos farmacéuticamente aceptables, o contener un grupo funcional ácido y así son capaces de formar con bases sales farmacéuticamente aceptables. Por ello, los compuestos presentes pueden estar en forma de sal. Como se usa aquí, una "sal" es una sal de los compuestos presentes, que ha sido modificada haciendo sales ácidas o básicas de los compuestos. La sal puede ser farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitadas a, sales de ácidos orgánicos o minerales de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como fenoles. Las sales pueden ser hechas usando un ácido orgánico o inorgánico. Tales sales ácidas son cloruros, bromuros, sulfatos, nitratos, fosfatos, sulfonatos, formiatos, tartratos, maleatos, malatos, citratos, benzoatos, salicilatos, ascorbatos, y similares. Las sales de fenolato son las sales de metales alcalinos, sodio, potasio o litio. A este respecto, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales de adición relativamente no tóxicas de ácidos o bases orgánicos e inorgánicos de compuestos de la presente invención. Estas sales pueden ser preparadas in situ durante el aislamiento y purificación final de los compuestos de la invención, o por reacción separada de un compuesto purificado de la invención en su forma de base libre o ácido libre, con un ácido o base orgánico o inorgánico adecuado, y aislamiento de la sal así formada. Las sales representativas incluyen sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato, y laurilsulfonato y similares. Para una descripción de posibles sales, véase por ejemplo Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19.

Como se usa aquí, "cantidad terapéuticamente efectiva" indica una cantidad suficiente para tratar a un sujeto afligido con una enfermedad (por ejemplo tumores que sobreexpresan N-CoR) o para aliviar un síntoma o una complicación asociada con la enfermedad.

30 Como se usa aquí, "con efectividad herbicida" indica una cantidad suficiente para afectar de manera adversa el crecimiento de una planta, en particular a través de la inhibición de la actividad de fosfatasa 2 A de plantas.

Como se usa aquí, "tratamiento" indica la lentificación, detención o reversión de la progresión de una enfermedad, en particular tumores que sobreexpresan N-CoR.

35 Como se usa aquí, se pretende que "alquilo" incluya grupos hidrocarburo alifáticos saturados tanto ramificados como de cadena recta, que tienen el número especificado de átomos de carbono. Así, se define que C₁-C_n como en "alquilo C₁-C_n" incluye grupos que tienen 1, 2, ..., n-1 o n carbonos en un arreglo lineal o ramificado, e incluyen específicamente metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, y así. Una realización puede ser alquilo C₁-C₁₂. "Alcoxi" representa un grupo alquilo como se describió anteriormente, unido a través de un puente de oxígeno.

40 El término "alqueno" se refiere a un radical hidrocarburo no aromático, de cadena recta o ramificada, que contiene por lo menos 1 enlace doble carbono-carbono, y puede estar presente hasta el máximo número posible de enlaces dobles carbono-carbono no aromáticos. Así, se define alqueno C₂-C_n para que incluya grupos que tienen 1, 2, ..., n-1 o n carbonos. Por ejemplo, "alqueno C₂-C₆" indica un radical alqueno que tiene 2, 3, 4, 5, o 6 átomos de carbono, y por lo menos 1 enlace doble carbono-carbono, y hasta, por ejemplo, 3 enlaces dobles carbono-carbono en el caso de un alqueno C₆, respectivamente. Los grupos alqueno incluyen etenilo, propenilo, butenilo y ciclohexenilo. Como se describió anteriormente respecto a alquilo, la porción cíclica, de cadena recta o ramificada del grupo alqueno puede contener enlaces dobles y puede estar sustituida si se indica un grupo alqueno sustituido. Una realización puede ser alqueno C₂-C₁₂.

45 El término "alquino" se refiere a un radical hidrocarburo recto o ramificado, que contiene por lo menos 1 enlace triple carbón a carbón, y puede estar presente hasta el máximo número posible de enlaces triples carbono-carbono no aromáticos. Así, se define alquino C₂-C_n para que incluya grupos que tienen 1, 2, ..., n-1 o n carbonos. Por ejemplo, "alquino C₂-C₆" indica un radical alquino que tiene 2 o 3 átomos de carbono, y 1 enlace triple carbono-carbono, o tiene 4 o 5 átomos de carbono, y hasta 2 enlaces triples carbono-carbono, o tiene 6 átomos de carbono y hasta 3 enlaces triples carbono-carbono. Los grupos alquino incluyen etinilo, propinilo y butinilo. Como se describió anteriormente respecto a alquilo, la porción ramificado recta del grupo alquino puede contener enlaces triples y puede estar sustituida si se indica un grupo alquino sustituido. Una realización puede ser alquino C₂-C_n.

55 Como se usa aquí, se pretende que "arilo" indique cualquier anillo monocíclico o bicíclico estable de carbono de hasta 10 átomos en cada anillo, en el que por lo menos un anillo es aromático. Ejemplos de tales elementos arilo

- incluyen fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, bifenilo, fenantrilo, antrilo o acenaftilo. En casos donde el sustituyente arilo es bicíclico y un anillo es no aromático, se entiende que la unión es a través del anillo aromático. Los arilos sustituidos incluidos en esta invención incluyen sustitución de cualquier posición adecuada con aminas, aminas sustituidas, alquilaminas, hidroxis y alquilhidroxis, en la que la porción "alquilo" de las alquilaminas y alquilhidroxis es un alquilo C₂-C_n como se definió anteriormente. Las aminas sustituidas pueden estar sustituidas con grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, o arilo como se definió anteriormente.
- Los sustituyentes alquilo, alquenilo, alquinilo, y arilo pueden estar sustituidos o no sustituidos, a menos que se indique específicamente de otro modo. por ejemplo, un alquilo (C₁-C₆) puede estar sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de OH, oxo, halógeno, alcoxi, dialquilamino, o heterociclilo, tal como morfolinilo, piperidinilo, y así sucesivamente.
- En los compuestos de la presente invención, los grupos alquilo, alquenilo, y alquinilo pueden estar sustituidos adicionalmente reemplazando uno o más átomos de hidrógeno por grupos no hidrógeno descritos aquí en la extensión posible. Estos incluyen, pero no están limitados a, halo, hidroxilo, mercapto, amino, carboxi, ciano y carbamoilo.
- El término "sustituido" como se usa aquí indica que una estructura dada tiene un sustituyente que puede ser un grupo alquilo, alquenilo, o arilo como se definió anteriormente. Se estimará que el término incluye múltiples grados de sustitución por un sustituyente nombrado. Donde se divulgan o reivindican fragmentos múltiples de sustituyente, el compuesto sustituido puede ser sustituido independientemente por uno o más de los fragmentos sustituyentes divulgados o reivindicados, de modo individual o plural. Se entiende por sustituido independientemente, que los (dos o más) sustituyentes pueden ser iguales o diferentes.
- Como se usa aquí, la "administración" de un agente puede ser ejecutada usando cualquiera de diferentes métodos o sistemas de entrega bien conocidos por aquellos expertos en la técnica. La administración puede ser ejecutada, por ejemplo, oralmente, parenteralmente, intraperitonealmente, intravenosamente, intraarterialmente, transdérmicamente, sublingualmente, intramuscularmente, rectalmente, transbucalmente, intranasalmente, liposomalmente, vía inhalación, vaginalmente, intraocularmente, vía entrega local, subcutáneamente, intraadiposalmente, intraarticularmente, intratecalmente, dentro de un ventrículo cerebral, intraventricularmente, intratumoralmente, dentro del parénquima cerebral o intraparenquimalmente.
- Los siguientes sistemas de entrega, que emplean varios vehículos farmacéuticos usados de manera rutinaria, pueden ser usados pero son sólo representantes de los muchos sistemas posibles imaginados para administrar composiciones de acuerdo con la invención.
- Los sistemas de entrega de fármacos inyectables incluyen soluciones, suspensiones, geles, microesferas e inyectables poliméricos, y pueden comprender excipientes tales como agentes que alteran la solubilidad (por ejemplo, etanol, propilenglicol y sacarosa) y polímeros (por ejemplo, policaprilactones y PLGA's).
- Los sistemas que pueden ser implantados incluyen barras y discos, y pueden contener excipientes tales como PLGA y policaprilactona.
- Los sistemas de entrega oral incluyen tabletas y cápsulas. Estos pueden contener excipientes tales como aglutinantes (por ejemplo hidroxipropilmetilcelulosa, polivinil pirilodona, otros materiales de celulosa y almidón), diluyentes (por ejemplo lactosa y otros azúcares, almidón, fosfato de dicalcio y materiales de celulosa), agentes de desintegración (por ejemplo polímeros de almidón y materiales de celulosa) y agentes lubricantes (por ejemplo estearatos y talco).
- Los sistemas de entrega transmucosal incluyen parches, comprimidos, supositorios, pesarios, geles y cremas, y pueden contener excipientes tales como agentes de solubilidad y mejoradores (por ejemplo propileno glicol, sales biliares de aminoácidos), y otros vehículos (por ejemplo polietileno glicol, ésteres y derivados de ácidos grasos, y polímeros hidrofílicos tales como hidroxipropilmetilcelulosa y ácido hialurónico).
- Los sistemas de entrega dérmica incluyen, por ejemplo, geles, cremas, emulsiones múltiples, microemulsiones, liposomas, ungüentos acuosos y no acuosos, soluciones, lociones, aerosoles, bases de hidrocarburo y polvos acuosos y no acuosos, y pueden contener excipientes tales como agentes de solubilidad, mejoradores de permeación (por ejemplo ácidos grasos, ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos y aminoácidos), y polímeros hidrofílicos (por ejemplo policarbofil y polivinilpirolidona). En una realización, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un liposoma o un mejorador transdérmico.
- Las soluciones, suspensiones y polvos para los sistemas de entrega que pueden ser reconstituidos incluyen vehículos tales como agentes de suspensión (por ejemplo gomas, zantanos, materiales de celulosa y azúcares), humectantes (por ejemplo sorbitol), agentes de solubilidad (por ejemplo etanol, agua, PEG y propileno glicol), tensioactivos (por ejemplo lauril sulfato de sodio, Spans, Tweens, y cetil piridina), conservantes y antioxidantes (por

ejemplo parabenos, vitaminas E y C, y ácido ascórbico), agentes contra el apelmazamiento, agentes de recubrimiento y agentes de formación de quelatos (por ejemplo EDTA).

Se entiende que los sustituyentes y patrones de sustitución en los compuestos de la presente invención pueden ser seleccionados por alguien de destreza ordinaria en técnica, para suministrar compuestos que son químicamente estables y que pueden ser sintetizados fácilmente por los métodos conocidos en la técnica, así como aquellos métodos expuestos posteriormente, desde materiales de partida fácilmente disponibles. Si un sustituyente está sustituido en sí mismo con más de un grupo, se entiende que estos grupos múltiples pueden estar sobre el mismo carbono o sobre diferentes carbonos, en tanto den como resultado una estructura estable.

Discusión

Se encontró que una proteína de la cual se halló incrementaba la expresión en glioblastoma multiforme (GBMs) comparada con cerebro normal, es correpresor de receptor nuclear (N-CoR), un regulador del grupo celular de tallo neural normal. La expresión de N-CoR en GBM fue confirmada por inmunohistoquímica y prueba de mancha occidental.

N-CoR es expresado en el núcleo de células de tallo neural (NSCs). (Hermanson et al. (2002)). Siguiendo la fosforilación dependiente de quinasa fosfatidil-inositol-3-OH quinasa/Akt1, N-CoR transloca al citoplasma y conduce a la diferenciación astrocítica de NSCs. Por ello, la retención nuclear de N-CoR, es esencial para el mantenimiento de NSCs en el estado no diferenciado (Hermanson et al.). De manera análoga a CD133+ NSC hallado dentro del cerebro en desarrollo, se han identificado las células de tallo de tumor cerebral (BTSC) que portan CD133 dentro de GBM. (Uchida et al. (2000); y Singh et al. (2003)). BTSC son capaces de proliferación, autorrenovación, y diferenciación. BTSC, pero no células de tumor diferenciadas CD133, son capaces de resumir tumores mediante trasplante de xenoinjerto. (Singh et al. (2004)).

Se han examinado terapéuticamente retinoides, metabolitos de vitamina A, en una variedad de tumores, incluyendo gliomas. (Yung et al. (1996)) N-CoR está íntimamente asociado con el receptor de retinoide y es liberado mediante unión de ligando al receptor. (Bastien et al. (2004)) Se establece la hipótesis según la cual un efecto de los retinoides en gliomas malignos puede ser la inducción de la diferenciación mediante la unión de retinoides al receptor de retinoide, seguido por disociación del complejo receptor N-CoR/retinoide y translocación de N-CoR al citoplasma. Esta idea explicaría la observación previa del incremento de expresión de GFAP en una línea de célula de glioma U343 MG-A) tratada con retinoides. (Rudka et al. (1988)) Para probar esto se tomaron como objetivo en dos sitios diferentes, individual o simultáneamente, dentro de la ruta N-CoR mediante tratamiento de la línea de células, GBM U343 MG-A con ácido retinoico 50 μ M (RA) y/o ácido ocaidaico 10 nM (OA), un inhibidor de proteína fosfatasa-1 y proteína fosfatasa-2A. Previniendo la acción de la proteína fosfatasa-1 y proteína fosfatasa-2A, el ácido ocaidaico aumenta la forma fosforilada de N-CoR y promueve su subsiguiente translocación citoplasmática. (Hermanson et al. (2002))

La línea de células U343 MG-A está disponible de la universidad de California en Universidad de San Francisco (UCSF) Brain Tumor Research Center Tissue Bank. (University de California, San Francisco, edificio Health Sciences West, San Francisco, California 94143-0520.) Adicionalmente, las líneas de célula U343 y U87 están comercialmente disponibles de EPO-GmbH, Robert-Rossle-Str.10, 13092 Berlin-Buch, Alemania.

Varias moléculas que tienen actividad anti-PP2A hacen sinergismo con ácidos retinoicos en la inhibición de crecimiento de células de tumores que sobreexpresan N-CoR in vitro. El grupo más efectivo de inhibidor de fosfatasas que hace sinergismo con ácidos retinoicos que ha sido evaluado, son análogos del antiguo agente terapéutico, milabris, derivado de los cuerpos triturados de las moscas españolas, en las cuales el principal agente activo es cantaridina, un potente inhibidor de PP2A (Wang, 1989; Peng et al., 2002).

Cantaridina tiene actividad anti-tumoral contra cánceres humanos de hígado (hepatomas) y del tracto gastrointestinal superior pero es tóxico al tracto urinario (Wang, 1989). Norcantaridina, una cantaridina desmetilada, mantiene la actividad antitumoral de cantaridina contra hepatomas y cánceres del estómago y esófago, pero no tiene o tiene pequeña toxicidad al tracto urinario. Norcantaridina también estimula la producción de células blancas de la sangre en pacientes y ratones, un fenómeno no entendido desde el punto de vista el mecanismo, pero un efecto farmacológico de beneficio potencial como un agente contra el cáncer (Wang et al., 1986; Wang, 1989).

La publicación de un reporte según el cual la cantaridina actúa como un inhibidor de proteína de fosfatasa estimuló un interés más general en compuestos con este tipo de estructura química (Li y Casida, 1992). Previamente se había hallado que el congénere más simple y subproducto de hidrólisis, (disponible comercialmente como el herbicida endothall) son hepatotóxicos (Graziano y Casida, 1997). Los objetivos primarios en el hígado parecen ser las proteínas fosfatasas PP2A y PP1, donde todos los compuestos muestran valores ED₅₀ al nivel micromolar. Estudios asociados han mostrado que la acción de ciertos homólogos de cantaridina es directa en PP2A e indirecta en PP1 (Honkanen et al., 1993; Li et al., 1993). La fosfatasa PP1B es afectada sólo a niveles milimolares de estos

compuestos, mientras la enzima PP2C no es influenciada en absoluto.

En el pasado, se habían sintetizado varios análogos de cantaridina y se había evaluado su actividad anti-fosfatasa y su habilidad para inhibir el crecimiento de células de cáncer en cultivo (Sakoff y McClusky, 2004; Hart et al., 2004). Algunas de las moléculas de norcantaridina modificadas evaluadas previamente inhibieron el crecimiento de varias líneas de célula de tumor humano. No se analizó la actividad de análogos de norcantaridina contra células de tumores que sobreexpresan N-CoR o la actividad de norcantaridinas combinadas con otros potenciales agentes anti-tumor. Estudios adicionales incluyeron 16 "norcantaridinas modificadas" evaluadas frente a la actividad contra cuatro líneas de células de tumor humano, incluyendo ovario, riñón, colorectal y pulmón así como una línea de leucemia en ratón. Ninguna fue tan activa como los agentes individuales como cantaridina o norcantaridina y en ninguna se evaluó la actividad en combinación con otro agente antitumor (McCluskey et al., documento de EEUU No. 2006/0030616, 2006).

Se había sintetizado previamente una serie diferente de análogos de cantaridina y se había evaluado como pesticida y respecto a actividad antitumoral contra líneas de células de cáncer. Se han desarrollado 43 análogos de endothal y cantaridina y se han evaluado respecto su actividad como herbicidas y su letalidad a ratones (Matsuzawa et al., 1987). Se mostró que el tioanhídrido de endothal era un herbicida más potente que endothal pero era tóxico al hígado del ratón (Matsuzawa et al., 1987; Kawamura et al., 1990).

Más recientemente, se ha hallado que el tioanhídrido de endothal es un agente activo contra PP2A y PP1 in vivo (Erdodi et al., 1995). endothal y tioanhídrido de endothal, como cantaridina, inhiben la actividad de PP2A y en alguna extensión, la actividad de PP1 (Erdodi et al., 1995). En el hígado, el principal objetivo parece ser PP1. En fibroblastos, sólo el tioanhídrido de endothal causó cambios morfológicos marcados, mientras cantaridina y endothal no lo hicieron (Erdodi et al., 1995). Se piensa que el aumento en la actividad de tioanhídrido de endothal in vivo está relacionado con su carácter lipofílico mejorado, que da como resultado un incremento en la difusión a través del plasmalema (Essers et al., 2001). Una publicación más reciente ha descrito la síntesis de los análogos mono-, y di-fluorados de endothal y también los correspondientes anhídridos, sin embargo este trabajo de síntesis no fue acompañado con datos farmacológicos (Essers et al., 2001).

De los congéneres conocidos de este tipo de compuesto, sólo el progenitor, cantaridina y su derivado de bis(normetil), norcantaridina, ha visto algún uso como sustancia medicinal contra el cáncer y sólo norcantaridina es usado como un agente antineoplásico (Tsauer et al., 1997).

En la búsqueda del desarrollo de nuevas sustancias medicinales en esta área, se ha hallado esencial desarrollar inhibidores que tengan mayor especificidad, especialmente hacia aquellas enzimas que despliegan elevada actividad contra los procesos de replicación de células de cáncer. La elevada especificidad también ofrece la posibilidad de evitar objetivos importantes para la función celular normal. Desde el punto de vista de las características físicas de cualquier sustancia medicinal recientemente desarrollada, de manera preeminente tiene que poseer buena permeabilidad de la membrana (es decir tener un valor log P de entre 2 y 4 unidades).

Los compuestos descritos aquí tienen un efecto antagonístico sobre fosfatasa-2A y fosfatasa 1. Se ha confirmado que por lo menos los compuestos 100, 105, y 102 son efectivos en la inhibición del crecimiento de células de tumores que sobreexpresan N-CoR. Los compuestos 100 y 105 son ventajosos sobre otros homólogos de cantaridina dado que ellos existen como zwitteriones, lo cual los hace solubles en agua y estables a pH ácido, rasgos deseables para fármacos oralmente efectivos. El compuesto 102 es soluble en lípidos, lo cual proporciona una mayor habilidad que los compuestos 100 y 105 para cruzar la barrera sangre-cerebro. Esto es especialmente importante cuando se tratan tales tumores como glioblastoma multiforme.

Se evaluaron el compuesto 100, norcantaridina (nor-Can), endothal (End), y tioanhídrido de endothal (ET) respecto su habilidad para inhibir el crecimiento de GBMs en una manera dependiente de la dosificación in vivo, como se muestra en la figura 1.

A partir de las gráficas de la línea de células U373 de glioblastoma multiforme GBM (disponible del National Institute of Neurological Disorders and Stroke Molecular Pathogenesis Unit, edificio 10, sala 5 D37, National Institutes of Health, 900 Rockville Pike, Bethesda, Maryland, 20892) como una función de la exposición a diferentes dosificaciones de fármaco por 7 días, se estimó la concentración de cada compuesto que inhibe la proliferación de células de tumor cerebral, en 50% (IC₅₀). Los IC₅₀s expresados en micro-molaridad (µM), fueron: 2.5, 3.0, 12.0, y 15.0 para tioanhídrido de endothal, compuesto 100, norcantaridina, y endothal respectivamente, como se ve en la Figura 1. Como se muestra, sobre una base molar, el compuesto 100 fue un potente inhibidor de GBMs in vitro.

En combinación con anti-fosfatasas, los retinoides inhiben de manera sinérgica la proliferación de glioblastoma multiforme. Se dice que el sinergismo (potenciación) de la actividad inhibitoria de dos fármacos en combinación está presente cuando la supervivencia porcentual en presencia de dos fármacos es mayor que la suma de las supervivencias porcentuales de los dos fármacos usados solos, en las mismas dosificaciones que en la

combinación.

Se evaluó adicionalmente la actividad inhibidora de compuesto 100, en combinación con retinoides así como individualmente. Como se muestra en la figura 2, la combinación de compuesto 100 con ácido retinoico todo trans (ATRA) demostró una reducción sinérgica en el crecimiento celular.

- 5 La supervivencia porcentual esperada de células U373 expuestas a la combinación de ATRA y End es 50% (77% por ATRA x 65% por End = 50%) mientras la supervivencia observada fue 32%. La supervivencia porcentual esperada en presencia de la combinación de ATRA y compuesto 100 es 60% (77% por ATRA x 78% por compuesto 100 = 60%), mientras la supervivencia observada fue 53%.

10 Para determinar si hay especificidad de tipo de tumor de las propiedades de inhibición de los inhibidores PP2A, ácido retinoico y tricostatina A se midieron sus efectos inhibidores como agentes individuales contra la línea GBM U373, una línea de cáncer de mama, MCF-7 (obtenida de ATCC) y una línea de cáncer de riñón, UMRC (UMRC obtenida por Dr. Zhuang, NINDS, NIH del Intramural Research Support Program, SAIC, National Cancer Institute, Frederick Cancer Research y Development Center).

15 La línea de cáncer de riñón, UMRC (Figura 3) fue menos sensible que la línea de tumor celular, U373 (Figura 4) mientras la línea de cáncer de mama, MCF-7 (Figura 5) fue tan sensible como U373 al ácido retinoico todo trans, tioanhídrido de endothal, norcantaridina, endothal, y tricostatin A. Existe alguna especificidad por el tipo de célula de estos fármacos por GBMs. La actividad de esos fármacos contra células MCF-7 indica que los regímenes que están en desarrollo para el tratamiento de tumor cerebral son probablemente útiles también contra el cáncer de mama y otros tumores que sobreexpresan N-CoR.

20 Se ha mostrado que el compuesto 100 tendrá efectos inhibidores similares en el tratamiento del cáncer de mama y otros tumores que sobreexpresan N-CoR debido a las similitudes estructurales del compuesto 100 con endothal así como con sus efectos similares en el tratamiento de glioblastoma multiforme.

25 Endothal es conocido también como defoliante activo y potente herbicida de contacto usado en muchas situaciones agrícolas. Se le considera efectivo como desecante previo a la cosecha y como un herbicida selectivo previo a la emergencia (Crafts, 1953).

30 Endothal, norcantaridinas y cantaridina son inhibidores bien conocidos de proteína fosfatasa de mamíferos así como potentes herbicidas (Matsuzawa et al., 1987). El mecanismo por el cual endothal y otros homólogos ejercen su potente actividad herbicida no ha sido estudiado extensamente, independientemente del difundido uso de endothal, internacionalmente en agricultura. Debería notarse que endothal es soluble en agua, donde cantaridina y norcantaridina no lo son.

35 Se asumió que la actividad de endothal como un herbicida y defoliante de contacto está relacionada con la toxicidad irritante conocida de su compuesto progenitor, norcantaridina. Sin embargo, estudios más recientes sugieren que la actividad herbicida de endothal puede ser una función primariamente de su actividad de proteína fosfatasa anti-planta (PP2A). Li et al. (1993) mostraron que cantaridina y endothal inhiben PP2A y PP1 de hoja de espinaca e inhiben la activación de nitrato reductasa por la luz en la hoja intacta de espinaca, un proceso mediado por PP2A. Smith et al. (1994) demuestran que el inhibidor de proteína de fosfatasa estructuralmente relacionado, ácido ocadaico y caliculina-A son potentes inhibidores del crecimiento de ciertas plantas a concentraciones nanomolares. La actividad de ácido ocadaico y caliculina-A sugiere fuertemente que la actividad de endothal como un herbicida es debida a su actividad anti-fosfatasa.

40 Baskin y Wilson (1997) mostraron que inhibidores de fosfatasa de proteína de serina-treonina, incluyendo cantaridina, inhiben la organización de microtúbulos de planta. Ayaydin et al. (2000) muestran que endothal inhibió actividad de PP2A causando alteración de la división celular en células cultivadas de alfalfa. Se notó que endothal era permeable en las células.

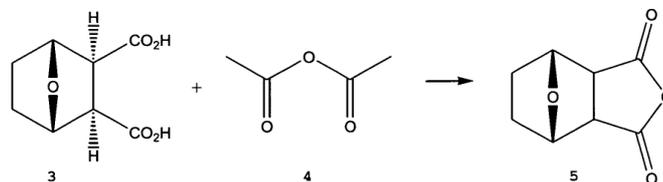
45 Como endothal, los compuestos 100 y 105 son solubles en agua. Pero a diferencia de endothal, que es un diácido, los compuestos 100 y 105 pueden ser zwitteriones. El hecho de que los compuestos divulgados aquí tales como compuesto 100 sean más potentes que endothal contra crecimiento de células de cáncer mamífero puede ser debido a la mayor permeabilidad celular de los zwitteriones frente al diácido. Los compuestos 100 y 105 son herbicidas más potentes sobre una base molar debido a la mejor penetración celular. Los compuestos 100 y 105, como zwitteriones, son también menos tóxicos a los distribuidores y aplicadores del herbicida así como el público expuesto de manera inadvertida al agente. Los compuestos 100 y 105 no tienen el carácter ácido de endothal.

50 Los compuestos de aquí, incluyendo compuestos 100 y 105, son por ello herbicidas útiles, comercialmente factibles, y más seguros respecto a la exposición humana y al ambiente.

Detalles experimentales

Métodos y materiales

Preparación de anhídrido de endothal

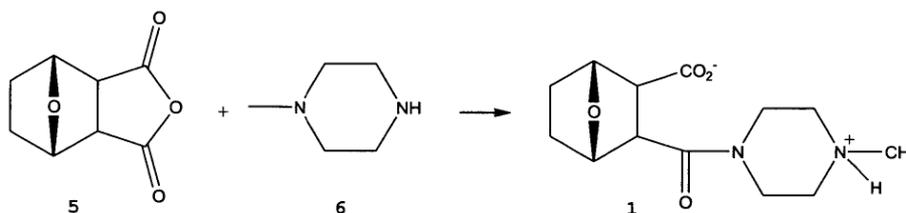


Esquema 1

- 5 Como se muestra en el esquema 1, se preparó anhídrido de endothal mediante adición de anhídrido acético (0.5 mL) (4) a una suspensión de endothal (186 mg) (3) en benceno (3 mL) y se agitó entonces la mezcla hasta que el sólido hubo pasado a solución (2 horas). Se calentó entonces la solución bajo vacío para retirar el benceno y se calentó entonces el residuo a 80°C por 30 min. Se añadió entonces éter de petróleo (5 mL) y el anhídrido deseado cristalizó espontáneamente. Se retiró el producto mediante filtración, se lavó con éter de petróleo para dar el producto puro (85 mg) cual fue usado inmediatamente en las siguientes dos preparaciones.

10

Preparación de endothal 4-metilpiperazina monoamida (EMPM) (compuesto 100)



Esquema 2

- 15 Anhídrido de endothal (85 mg) (5) preparado se describió anteriormente, fue disuelto en benceno (2 mL) y se añadió N-metilpiperazina (60 mg)(6) en una porción, a temperatura ambiente. Casi de inmediato apareció un producto cristalino blanco. Se dejó la mezcla a temperatura ambiente durante la noche y se retiró entonces el producto mediante filtración, se lavó con un poco de benceno y se secó (145 mg). Un espectro de masas de ion negativo mostró un ion progenitor a m/z 267 (teo. 267) confirmando el peso molecular como 268 unidades de masa. Se recristalizó el producto desde DMF caliente para dar 95 mg de la monoamida pura, compuesto 100 (1) p.f. 226-227°C con alguna descomposición comenzando en 224°C. El espectro ¹HRMN de la sal de sodio de compuesto 100 confirma la estructura. Sal de sodio. ¹H RMN: (D₂O): 1.41-1.70 (m, 4H), 2.18 (s, 3H), 2.21-2.55 (m, 4H), 2.92 (d, 1H), 3.17 (d, 1H), 3.22-3.40 (m, 2H), 3.45 (m, 2H), 4.60 (q, 1H), 4.78 (q, 1H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 100 mostraron picos a 141 m/z, 167 m/z, 254 m/z 199 m/z y 185 m/z correspondiendo a fragmentos negativamente cargados (Tabla 1).

20

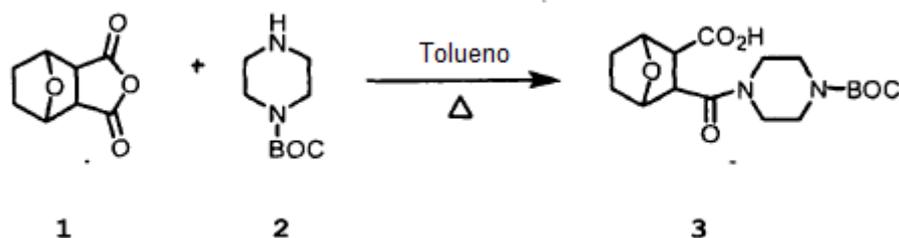
25 Preparación de endothal 4-etilpiperazina monoamida (EPPM) (compuesto 105)

- Se añadieron anhídrido de endothal (1.68g; 10mmol) y N-etilpiperazina (3.42g; 30mmol) a 10 mL de tolueno y se calentó bajo reflujo por 18h. Se evaporó entonces el solvente bajo presión reducida y se cristalizó el residuo desde metil t-butil éter para dar el producto crudo (1.8g). La recristalización desde el mismo solvente dio un total de 1.2g (rendimiento de 42.5%) en dos cosechas. P.f. 215-218°C (con descomposición). El ¹H RMN de la sal de sodio en D₂O y el espectro MS de ion negativo confirman la estructura y peso molecular (m/z 282.2 ams), respectivamente. Sal de sodio. ¹H RMN: (D₂O): 0.95 (t, 3H), 1.42-1.65 (m, 4H), 2.20-2.42 (m, 4H), 2.43-2.55 (m, 2H), 2.93 (d, 1H), 3.08 (d, 1H), 3.20-3.33 (m, 2H), 3.42-3.58 (m, 2H), 4.45 (q, 1H), 4.75 (q, 1H). El espectro MS indica la presencia de la asociación de dímero a m/z 563.3 ams, lo cual podría esperarse para un zwitterion. Adicionalmente, está presente una traza de endothal (MS m/z 185 ams) pero eso no es evidente en el espectro RMN. Un espectro de masas de ion negativo mostró un ion progenitor a 282.2 m/z (teo. 282.2) confirmando el peso molecular como 282.2 unidades de masa.

30

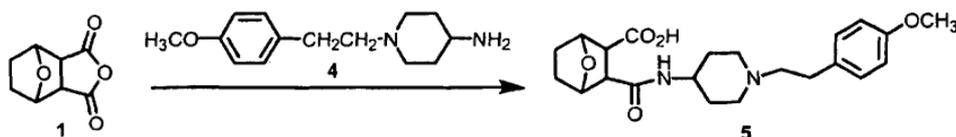
35

Preparación de tert-butil éster del ácido 4-(3-carboxi-7oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carbonil)piperazin-1-carboxílico (compuesto 102) :



Se añadieron anhídrido de endothal (1) (500 mg, 3 mmol) y N-BOC piperazina (2) (1.86g, 10 mmol) tolueno seco (8 mL) y se calentó a 100-110 °C por 8h. Se retiró el solvente en un evaporador rotativo y al residuo se agregó una mezcla de ácido cítrico acuoso 10% (20 mL) y acetato de etilo (20 mL). Se filtró el sólido separado (compuesto 102) (3), se lavó con hexano y se secó bajo vacío. Rendimiento 500mg (47%). P.f. 206-208° C. El espectro de masas y los datos de ¹HRMN confirmaron la identidad del compuesto 102. Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga del compuesto 102 mostraron picos a 141.1 m/z, 185 m/z, y 354 m/z. ¹H RMN: (DMSO-d₆) : 1.42 (s, 9H), 1.45-1.72 (m, 4H), 3.02-3.15 (d, 1H), 3.20-3.55 (m, 9H), 4.65-4.70 (m, 2H).

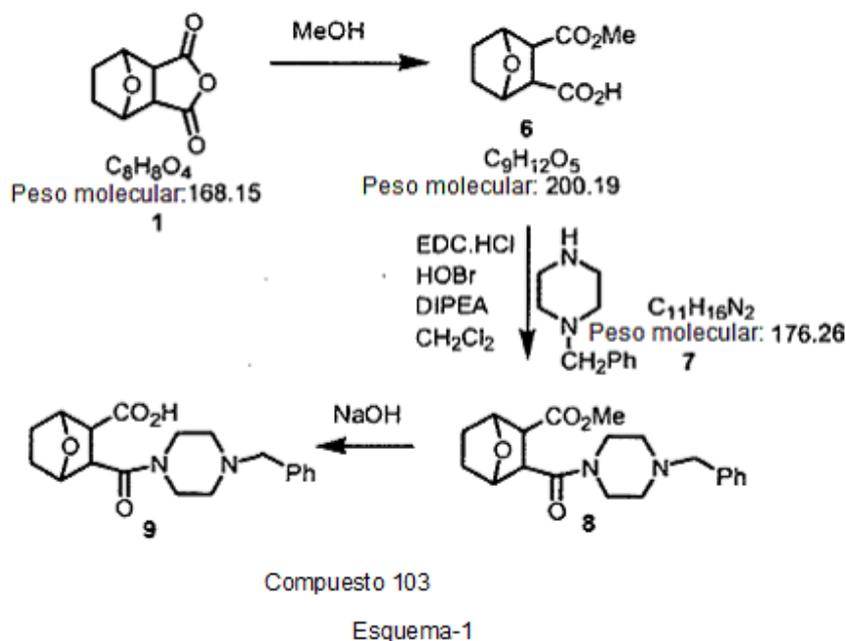
Preparación de ácido 3-{1-(2-(4-metoxi-fenil)-etil)piperidin-4-ilcarbamoil}-7-oxa-biciclo[2.2.1]-heptano-2-carboxílico (compuesto 104) :



Se añadieron anhídrido de endothal (1) (500 mg, 3 mmol) y amina (4) (2.34 g, 10 mmol) a tolueno seco (8 mL) y se calentó a 100°C por 20 h. Se evaporó entonces en solvente bajo presión reducida y se recibió el residuo en agua, y se acidificó la solución a pH 5.5 a 6 con HCl diluido. Se filtró el sólido y se recrystalizó desde metanol para dar (5) puro (compuesto 104). Rendimiento 450 mg (36%). P.f. 140-142° C. El espectro de masas y los datos de ¹HRMN confirmaron la identidad del compuesto 104. Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga del compuesto 104 mostraron picos a 385. ¹H RMN: (CDCl₃): 1.48-1.65 (m, 4H), 1.78-1.95 (m, 2H), 1.98-2.15 (t, 2H), 2.40-2.60 (m, 4H), 2.68-2.78 (m, 2H), 2.80 (s, 2H), 3.02-3.15 (d, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.82-3.98 (m, 1H), 4.82-4.88 (m, 2H), 6.78-6.82 (d, 2H), 7.09-7.12 (d, 2H).

Preparación de ácido 3-(4-bencilpiperazin-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (compuesto 103):

Este compuesto fue preparado en 3 pasos partiendo de anhídrido de endothal (1) como se muestra abajo en el esquema 1.



Paso 1: Preparación de monometil éster de ácido de 7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2,3-dicarboxílico:

Se calentó bajo reflujo anhídrido de endothal (1) (4g, 24 mmol) en metanol seco (20 mL) por 3 h. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se filtró el sólido separado (6) y se cristalizó desde metanol. Rendimiento 4.6 g (96%). P.f. 114-146°C.

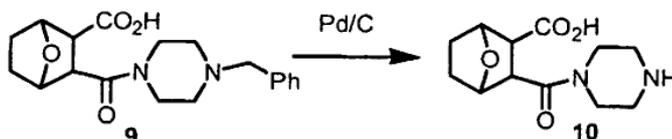
Paso 2: preparación de metil éster de ácido 3-(4-bencil-piperazin-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (8):

A la mezcla de derivado de ácido (6) (2.6 g, 13 mmol) en cloruro de metileno (40 mL) se añadió EDC.HCl (2.75 g, 15 mmol) seguido de HOBT (150 mg). Se agitó la mezcla por 10 minutos a temperatura ambiente antes de añadir N-bencil piperazina (7) (1.76 g.) seguido de DIPEA (3.5 mL, 20 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió agua a la mezcla de reacción, se separó la capa de cloruro de metileno, se lavó una vez con NaHCO₃ acuoso, luego se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. Se purificó el residuo crudo mediante cromatografía en columna usando 1-2% metanol en cloruro de metileno como eluyente, para dar el material puro requerido (8). Rendimiento 2.7g. (58%).

Paso 3: preparación de ácido 3-(4-bencil-piperazin-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (compuesto 103):

A una solución de éster (8)(2.50g, 7 mmol) en metanol (20 mL) se añadió NaOH acuoso (360 mg disueltos en 5 mL de agua) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se evaporó entonces el solvente hasta sequedad, se añadió agua (20 mL) se ajustó entonces el pH de la solución a pH 5 usando HCl 6N. Se evaporó entonces a sequedad, y se añadió cloruro de metileno (30 mL). Se retiró mediante filtración el NaCl residual sólido y se concentró el filtrado. Se trituró entonces el sólido resultante con isopropil éter para dar el ácido (9) puro (compuesto 103). Rendimiento 1.8g (75%). P.F. > 190°C (desc). El espectro de masas y los datos de ¹HRMN confirmaron la identidad de compuesto 103. ¹H RMN: (CDCl₃): 1.45-1.84 (m, 4H), 2.45-2.68 (m, 2H), 2.75-2.95 (m, 2H), 3.12-3.35 (m, 2H), 3.38-3.55 (m, 2H), 3.60-3.80 (m, 2H), 3.95-4.20 (m, 2H), 4.75-4.85 (m, 2H), 7.40 (s, 5H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 103 mostraron picos a 177.2 m/z, 345 m/z y 711 m/z.

Preparación de ácido 3-(piperazin-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (compuesto 101):

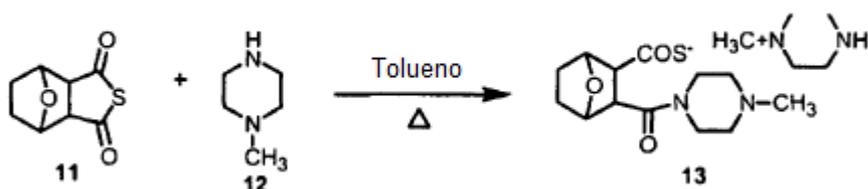


El derivado (9) ácido protegido en N con bencilo (500 mg, 1.45 mmol) en metanol fue hidrogenado usando globo de hidrógeno sobre un catalizador de Pd/C (5%, 50 mg) a temperatura ambiente durante la noche. Se retiró el catalizador de la mezcla de reacción mediante filtración y se concentró a sequedad. Se cristalizó el residuo crudo desde 2-propanol para dar amina (10) (compuesto 101) como sólido blanco puro. Rendimiento 215 mg (58%). P.f. > 240°C (desc). El espectro de masas y los datos de ¹HRMN confirmaron la identidad de compuesto 101. ¹H RMN: (CDCl₃-CD₃OD): 1.42-1.78 (m, 4H), 2.92-3.15 (m, 8H), 3.52-3.82 (m, 2H), 4.58 (q, 1H), 4.78 (q, 1H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 101 mostraron picos a 177.2 m/z, 255.2 m/z, 277.2 m/z y 318.2 m/z.

5

Preparación de sal de N-metil piperazina y ácido 3-(piperazin-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]heptano-2-carboxílico (compuesto 108):

10



Se añadieron tioanhídrido de endothal (11) (552 mg, 3 mmol) y N-metil piperazina (12) (1 g, 10 mmol) a tolueno seco (10 mL) y se calentó bajo reflujo por 2.5 h. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y el sólido que había sido separado, fue filtrado y cristalizado desde cloruro de metileno/acetato de etilo para dar (13) puro requerido (compuesto 108). Rendimiento 585 mg (51%) P.f. >180°C (desc). El espectro de masas y los datos de ¹HRMN confirmaron la identidad de compuesto 108. ¹H RMN: (CDCl₃): 1.52-1.56 (m, 2H), 1.82-1.85 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.28-2.42 (m, 11H), 3.01 (s, 3H), 3.28-3.36 (m, 2H), 3.42-3.49 (m, 4H), 3.60-3.78 (m, 2H), 4.89-4.91 (m, 2H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 108 mostraron picos a 217 m/z, 251 m/z y 351 m/z.

15

Preparación de metil éster de ácido 3-(4-metil-piperazine-1-carbonil)-7-oxa-biciclo[2.2.1]2-carboxílico (compuesto 107):

20



A una suspensión del derivado (14) ácido (536 mg, 2 mmol) en cloruro de metileno se añadió cloruro de tionilo (0.5 mL) seguido por 2 gotas de DMF. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Era una suspensión de sal clorhidrato de cloruro ácido. Se añadió metanol seco (10 mL) y se agitó por 30 minutos y se evaporó hasta sequedad usando evaporador rotativo. Al residuo se añadió agua (20 mL) y se realizó extracción con acetato de etilo (20 mL). Se ajustó el pH de la capa acuosa 4.5 usando NaHCO₃ acuoso (10%) y se evaporó a sequedad. El residuo fue convertido en azeótropo con acetonitrilo. Se disolvió nuevamente en acetonitrilo y se retiró mediante filtración el NaCl separado. Se evaporó el filtrado a sequedad y se trituró con acetato de etilo para tener un sólido pegajoso, que fue secado en un horno al vacío para tener el compuesto requerido como un sólido incoloro (15) (compuesto 107). Rendimiento 140 mg (25%, p.f. 105-107°C). Los datos de ¹HRMN fueron compatibles con el espectro esperado compuesto 107. ¹H RMN: (D₂O) : 1.49-1.53 (m, 2H), 1.60-1.64 (m, 2H), 2.8 (s, 3H), 2.96-3.36 (m, 10H), 3.52 (s, 3H), 4.84-4.86 (m, 2H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 107 mostraron picos a 123 m/z, 183 m/z, 251 m/z y 283 m/z.

25

30

Preparación de 1-{N-(3-exocarboxi-7-oxabicyclo[2.2.1]heptano-2-exocarboxil)amino-2-(N,N-dimetil)aminoetano (compuesto 106)

35

Se añadieron anhídrido de endothal (1.68g; 10 mmol) y N,N-dimetiletilen diamina asimétrica (2.64g; 30 mmol) a tolueno (10 mL) y se calentó bajo reflujo por 2 h. Se retiró entonces el solvente mediante evaporación bajo presión reducida y se trituró el residuo con un poco de di-isopropil éter para causar cristalización. Se recrystalizó entonces el producto dos veces desde hexano mediante enfriamiento a -20°C. El producto puro (1.9g; rendimiento 74%) fundió a 48-50°C. El espectro ¹HRMN está en perfecto acuerdo con la estructura que es zwitteriónica y soporta un intercambio de dos protones cuando es tratado con D₂O. El espectro de masas también confirmó la identidad de

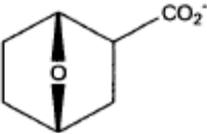
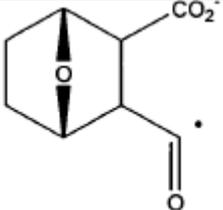
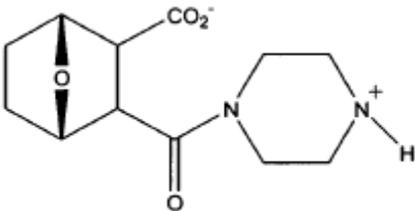
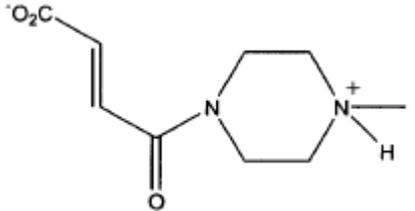
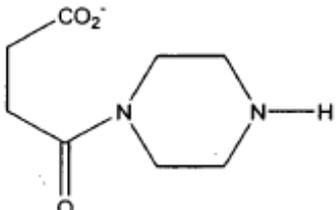
40

compuesto 106. ^1H RMN: (CDCl_3): 1.62-1.75 (m, 2H), 1.85-1.95 (m, 2H), 2.2 (s, 6H), 2.45 (t, 2H), 2.92 (s, 2H), 3.60 (t, 2H), 4.85-4.95 (m, 2H). Los datos de espectrometría de masas midiendo la relación masa a carga de compuesto 106 mostraron picos a 239.2 m/z, 257 m/z y 513 m/z.

Espectrometría de masas

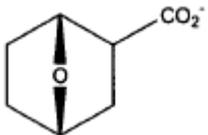
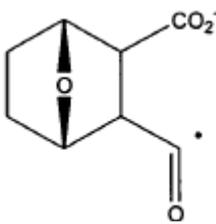
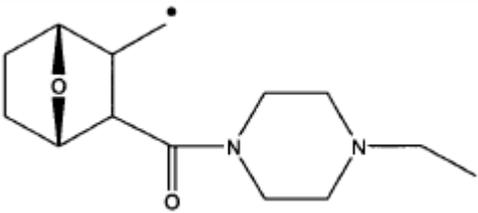
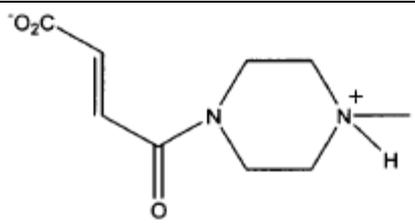
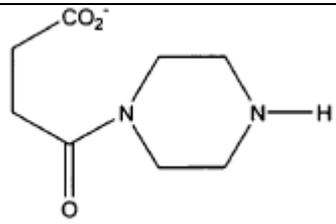
- 5 La Tabla 1 muestra la correlación entre la relación masa a carga de los iones y las correspondientes estructuras. En el espectrómetro de masas se ionizó una muestra del compuesto 100. Se separaron iones de diferentes masas y se midió su abundancia relativa.

Tabla 1: Relación masa a carga de iones

Relación masa a carga (m/z)	Estructura teórica de iones
141	
167	
254	
199	
185	

- 10 La Tabla 2 muestra la correlación entre la relación masa a carga de los iones y las correspondientes estructuras. En el espectrómetro de masas se ionizó una muestra del compuesto 105. Se separaron iones de diferentes masas y se midió su abundancia relativa.

Tabla 2: Relación masa a carga de iones

Relación masa a carga (m/z)	Estructura teórica de iones
141	
	Estructura teórica de iones
167	
249	
199	
185	

Ejemplo 1: efecto del compuesto 100 y análogos relacionados sobre células GBM

- 5 Para identificar objetivos terapéuticos novedosos para el tratamiento de glioblastoma multiforme (GBM), se evaluaron análogos de cantaridina respecto a su habilidad para inhibir el crecimiento de células de glioblastoma multiforme. Específicamente, en las evaluaciones se usó la línea de células GBM U373.

Los homólogos de cantaridina que fueron evaluados fueron norcantaridina (nor-Can), que es una bis(normetil) cantaridina; endothal (End), que es un derivado de ácido dicarboxílico de norcantaridinas; tioanhídrido de endothal (ET); y compuestos 100 y 105, preparados como se describió anteriormente.

El día uno se colocaron en placa células en triplicado sin y con diferentes cantidades de cada fármaco disuelto en

medio (compuesto 100, compuesto 105, y endothal) o en dimetilsulfóxido (tioanhídrido de endothal y norcantaridina). Se contó el número total de células en los cultivos triplicados a cada dosificación y en los controles después de 7 días y se determinó el número promedio de células y la desviación estándar.

5 La cantidad de inhibición de crecimiento de células GBM es expresada como la proporción del número de células en los platos experimentales comparado con el número de células en los platos de control, que contienen sólo el fármaco vehículo y medio de cultivo. Se realiza una gráfica del porcentaje promedio de control y se acota por una desviación estándar calculada a partir de las mediciones en triplicado.

Resultados

10 Cada uno de los análogos de norcantaridina inhibió el crecimiento de GBMs de una manera dependiente de la dosificación in vivo, como se muestra en la Figura 1.

A partir de la gráfica de línea de células GBM U373 como una función de la exposición a diferentes dosificaciones de fármaco por 7 días, se estimó la concentración de cada compuesto que inhibió proliferación de células de tumor cerebral en 50% (IC50). Los IC50s expresados en micro-molaridad (uM), fueron: 2.5, 3.0, 12.0, y 15.0 para tioanhídrido de endothal, compuesto 100, norcantaridina, y endothal respectivamente, como se ve en la Figura 1.

15 Adicionalmente, las curvas logarítmicas de línea de células gliomales U373 tratadas con diferentes dosificaciones de compuesto 105 por tres (Figura 6) y siete días (Figura 7), indican que el incremento en la dosificación demuestra una mayor inhibición de crecimiento. Además, la Figura 8 es una curva de dosificación-respuesta para compuesto 105 contra el crecimiento de células GBM humanas durante siete días a diferentes concentraciones de compuesto 105. Debería notarse que el compuesto 100 fue incluido a una concentración individual de 10 µM y que a esta
20 concentración los dos compuestos tienen idénticos valores de inhibición.

Ejemplo 2: efecto de compuesto 100 combinado con ácido retinoico

Para identificar el efecto de combinaciones de anti-fosfatasas PP2A y retinoides que afectan complejos nucleares, el foco estuvo en derivados de cantaridina solubles en agua, que habían mostrado ser activos contra GBMs humanas in vitro, endothal y compuesto 100.

25 Para observar los efectos de compuesto 100 en combinación con ácidos retinoicos, se combinó el compuesto 100 con ácido retinoico todo trans. El día uno se colocaron las células en placa en triplicado sin y con diferentes cantidades de cada fármaco disuelto en medio (compuesto 100 y endothal). Se contó el número total de células en los cultivos en triplicado a cada dosificación y en los controles después de 7 días y se determinó el número promedio de células y la desviación estándar.

30 La cantidad de inhibición de crecimiento de células GBM es expresada como la proporción del número de células en los platos experimentales comparado con el número de células en los platos de control, que contienen sólo el fármaco vehículo y medio de cultivo. Se realiza una gráfica del porcentaje promedio de control y se acota por una desviación estándar calculada a partir de las mediciones en triplicado.

Resultados

35 La Figura 2 muestra que el compuesto 100 así como endothal, cada uno en combinación con ATRA, inhiben de manera sinérgica la proliferación de línea de células GBM U373. Se dice que el sinergismo (potenciación) de la actividad inhibidora de los fármacos en combinación está presente, cuando el porcentaje de supervivencia en presencia de dos fármacos es inferior al producto de los porcentajes de supervivencia de los dos fármacos usados solos en las mismas dosificaciones que en la combinación. La extensión del sinergismo de compuesto 100 y
40 endothal (end) en combinación con ATRA es cuantificada abajo en la tabla 3.

Tabla 3. Endothal y compuesto 100 +/- ATRA Inhibición de células U373.

	Porcentaje de control	
	Observado	Esperado si aditivo
ATRA 25 uM	77%	-
END 10 uM	65%	-
ATRA 25 uM + END 10 uM	32%	50%
Compuesto 100 1 uM	78%	-

	Porcentaje de control	
	Observado	Esperado si aditivo
ATRA 25 uM + Compuesto 100 1uM	53%	60%

5 El porcentaje esperado de supervivencia de células U373 expuestas a la combinación de ATRA y compuesto 1 fue 60% (77% por ATRA x 78% por compuesto 100 = 60%), mientras la supervivencia observada fue 53%. El porcentaje esperado de supervivencia en presencia de la combinación de ATRA y End fue 50% (77% por ATRA x 65% por End = 50%) mientras la supervivencia observada fue 32%.

El compuesto 100, cuando se combina con tricostatina A o cuando se combina con ácido 13-cis retinoico inhibe de manera sinérgica el crecimiento de línea de células GBM U373 como se muestra abajo en la tabla 4.

10 Tabla 4. Compuesto 100 +/- ácido 13-cis retinoico (CIS-RA) y compuesto 1 +/- tricostatina A (TSA) inhibición de línea de células GBM U373

	Porcentaje de control	
	Observado	Esperado si aditivo
Cis-RA 50 µM	93.3 +/- 2.2	
TSA 0.033 µM (0.01 µg/ml)	71.6 +/- 0.4	
Compuesto 100 - 1 µM	97.9 +/- 1.0	
Compuesto 100 - 5 µM	52.5 +/- 2.9	
Cis-RA 50 µM + Compuesto 100 - 1 µM	79.3 +/- 3.2	91.3
Cis-RA 50 µM + Compuesto 100 - 5 µM	31.6 +/- 2.0	49.0
TSA 0.033 µM + Compuesto 100 - 1 µM	65.7 +/- 2.0	70.1
TSA 0.033 µM + Compuesto 100 - 5 µM	13.9 +/- 1.0	37.6

15 Los dos fármacos fueron sinérgicos en su inhibición del crecimiento de células U373. El porcentaje de supervivencia de las células después de la exposición a los dos fármacos en combinación, fue inferior a lo que se esperaría del porcentaje de supervivencia de las células cuando se exponen a cada uno de los dos fármacos, a las mismas dosificaciones usadas en la combinación.

Ejemplo 3: determinación de especificidad de tipo de tumor.

20 Para determinar si existe especificidad de tipo de tumor de las propiedades inhibitoras de análogos de compuesto 100, ácido retinoico y tricostatina A, se midieron sus efectos inhibitoras como agentes individuales contra la línea GBM U373, una línea de cáncer de mama, MCF-7 (obtenida de ATCC) y una línea de células de cáncer, UMRC (UMRC obtenida por Dr. Zhuang, NINDS, NIH del Intramural Research Support Program, SAIC, National Cancer Institute, Frederick Cancer Research and Development Center).

Resultados:

25 La línea de células de cáncer de riñón, UMRC (Figura 3) fue menos sensible que la línea de tumor cerebral, U373 (Figura 4) mientras la línea de cáncer de mama, MCF-7 (Figura 5) fue tan sensible como U373 a ácido retinoico todo trans, tioanhídrido de endothal, norcantaridina, endothal, y tricostatina A. Existe alguna especificidad del tipo de célula de estos fármacos para GBMs. La actividad de los fármacos contra células MCF-7 indica que los regímenes que están siendo desarrollados para tratamiento de tumor cerebral pueden ser útiles también contra cáncer de mama así como contra otros tumores que sobreexpresan N-CoR.

Ejemplo 4:

30 Adicionalmente a las actividades inhibitoras a bajas concentraciones micromolares de compuesto 100, el

compuesto 105, como el compuesto 100, es también un zwitterion, y es altamente reactivo como se muestra en la Figura 9. El compuesto 102 soluble en lípidos es también altamente potente en la inhibición de línea de células U373 de glioma (Figura 10). Otros derivados de norcantaridina, los compuestos 101, 103, 104 y 106 tienen menor actividad (Figuras 11-14).

5 Para todos los experimentos de cultivos celulares, se permite que las células crezcan en presencia o ausencia de diferentes concentraciones de fármaco o en la presencia del vehículo usado para disolver el fármaco, PBS para compuesto 100 y DMSO para compuesto 102. Los recuentos de células son hechos por triplicado el día 3 y día 7 y la inhibición del crecimiento es expresada como porcentaje del número de células presentes en el pozo experimental dividido por el número de células en un pozo de control.

10 Existe inhibición dependiente de la dosificación para el compuesto 100 de la línea de células GBM U373 (Figura 15) e inhibición dependiente de la dosificación en la línea de células de meduloblastoma DAOY (Figura 16).

Para experimentos in vivo, se permite que crezcan durante 7 días células de tumor implantadas de manera subcutánea, hasta un tamaño de 5-7mm. El día 7, comienza la administración diaria de fármaco ip por 20 días. Se miden los diámetros perpendiculares máximos de las masas de tumor cada 2 a 5 días. El día 21 después de iniciar el tratamiento, los animales son sacrificados se realiza disección libre de los tejidos subcutáneos y se mide.

15 Se muestra que el compuesto 100 suprime el crecimiento de la línea de células GBM U87 que crecen de manera subcutánea en ratones SCID (Figura 17). También se demuestra que el compuesto 100 y compuesto 102 inhiben ambos la proliferación de células DAOY cuando son implantados de manera subcutánea en ratones SCID (Figura 18).

20 **Ejemplo 5: actividad de fármaco contra líneas de células de cáncer humano diferentes a glioblastomas y meduloblastomas.**

Materiales y métodos

25 Se obtuvieron líneas de células MDA-MB-231, HT-29, NCI-H460, NCI-H522, NCI-H69, GXF-209, HepG2, OVAR-3, PANC-1, DU-145, LNCAP, HL-60, K-562, y MOLT-4 bien sea de American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA), o del National Cancer Institute (NCI; Frederick, MD). Se obtuvo medio RPMI-1640, L-glutamina dipéptido (HyQ SG-200), y HEPES de Hyclone (Logan, UT).

30 Se obtuvo suero bovino fetal (FBS) de Sigma-Aldrich, (San Luis, MO). Se compró DMSO a Fisher Chemicals (Fair Lawn, NJ). El reactivo CellTiter-Glo Luminescent Cell Viability Assay fue obtenido de Promega Corporation (Madison, WI). Todo el material plástico para cultivo celular fue obtenido de Corning Incorporated (Nueva York, NY). El compuesto 100 y compuesto 102 fueron suministrados por Lixte Biotechnology Holdings, Inc. (East Setauket, NY).

Todas las líneas de células fueron cultivadas de manera rutinaria dos veces por semana en medio RPMI-1640 suplementado con L-glutamina dipéptido 2 mM, HEPES 10 mM, y FBS 10%.

35 Las líneas de células adherentes MDA-MB-231, HT-29, NCI-H460, NCI-H522, GXF-209, HepG2, OVAR-3, PANC-1, DU-145, y líneas de células LNCAP fueron sembradas cada una en dos placas de 96 pozos a 2,500 células por pozo en un volumen total de 50 uL y se incubaron durante la noche en una incubadora de cultivo celular con CO₂ a 37° C humidificada a 5%. Las líneas de células en suspensión NCI-H69, HL-60, K-562, y MOLT-4 fueron sembradas cada una dentro de dos placas de 96 pozos a 10,000 células por pozo en un volumen total de 50 uL y se incubaron durante la noche en una incubadora de CO₂ 37° C humidificada a 5%.

40 Se preparó en agua estéril una solución madre 20mM de fármaco compuesto 100 soluble en agua, y se prepararon soluciones madre 20 mM de compuesto 102 en DMSO. A continuación se prepararon soluciones 2X de las concentraciones finales requeridas en medio RPMI-1640. Se añadieron 50uL de las soluciones 2X a los pozos apropiados, que contenían 50 uL de células y medio, para dar las concentraciones finales delineadas en el apéndice. La concentración más alta de compuesto 100 fue esterilizada a través de filtro, antes del uso. Se añadieron 50 uL de medio a los pozos de control de medio y células y se añadieron 50 uL de una solución simulacro 2X DMSO a los pozos de control de vehículo. Al mismo tiempo que se añadieron los fármacos a las células, se usó una de las placas de cada línea de células para el ensayo CellTiter-Glo como se describe abajo, con objeto de obtener valores de día 0 para cada línea de células.

45 A continuación de un período de incubación de 72 hr, el ensayo CellTiter-Glo fue ejecutado sobre la placa restante.

50 Ensayo CellTiter-Glo

El ensayo fue realizado según las instrucciones del fabricante. Brevemente, se retiraron las placas de la incubadora

y se colocaron en el banco a temperatura ambiente por 30 minutos. No se apilaron las placas. A continuación de la incubación a 30 min a temperatura ambiente, se añadieron 100 uL de reactivo CellTiter-Glo a cada pozo en la placa y se mezcló por 2 minutos, seguido por otra incubación de 10 minutos a temperatura ambiente. Se registró entonces la luminiscencia usando el contador de luminiscencia y escintilación PerkinElmer Microbeta (Trilux).

5 Resultados y discusión

Estos estudios fueron ejecutados como se describió en Materiales y Métodos, con los datos crudos y el montaje de placas delineado en el Apéndice. Los valores IC50 obtenidos para cada fármaco en cada línea de células son delineados en la Tabla 5. La representación gráfica del efecto de los compuestos sobre cada línea de células, junto con los ajustes de curva asociados, es ilustrada en las Figuras 19A-N.

- 10 La mayoría de las líneas de células fueron sensibles a todos los fármacos en el rango bajo uM (Tabla 5). Tanto el compuesto 100 como el compuesto 102 tienen actividad significativa (aproximadamente igual para todas las líneas al fármaco comparador positivo contra el cáncer usado clínicamente, doxorubicina). Los fármacos fueron activos contra líneas de células de: cáncer de mama; cáncer de colon; los tres mayores tipos de cáncer de pulmón, cáncer de célula grande, adenocarcinoma y cáncer de célula pequeña; cáncer de estómago; cáncer de hígado (hepatoma);
- 15 adenocarcinoma de ovario; carcinoma de páncreas, dos tipos de carcinoma de próstata; y tres tipos de leucemia, promielocítica, mielocítica crónica, y linfocítica aguda (tabla 5).

Tabla 5: La concentración de compuesto 100 y 102 que da como resultado inhibición de 50% de la proliferación (IC50) obtenida a partir del ajuste de curva de catorce líneas de células humanas de cáncer (Figuras 19A-N)

Línea de célula	IC ₅₀ µM	
	Compuesto 100	Compuesto 102
MDA-MB-231 mama	9.5	6.6
HT-29 Colon	5.3	3.6
NCI-H460- pulmón: célula	24.3	17.5
NCI-H522 adenoca de pulmón	3.4	2.2
NCI-H69 pulmón de célula	23.9	24.6
GXF-209 estómago	7.9	5.3
HepG2 hígado	31.6	22.1
OVCAR-3 adenoca. de ovario	2.9	5.1
PANC-1 Páncreas	25.1	20.7
DU-145 próstata	16.4	13.0
LNCAP próstata	1.5	0.48
HL-60 Leucemia	7.7	6.5
K-562 Leucemia mielo. crónica	10.7	13.7
MOLT-4 linfo. agudo	5.7	5.6

20 **Ejemplo 6: actividad antifúngica**

La creciente población de pacientes inmunocomprometidos debido a trasplantes, HIV/sida y cáncer, primariamente leucemia, ha dado como resultado un incremento de severas infecciones fúngicas. Los hongos recuperados más frecuentemente de infecciones en estos pacientes son *Aspergillus spp.* y *Candida spp.* Están disponibles terapias efectivas para el tratamiento de *Candida spp.* Pero permanece todavía una preocupación acerca del tratamiento de

25 infecciones causadas por *Aspergillus spp.*, las cuales están asociadas con elevada mortalidad en el huésped inmunocomprometido. Tales infecciones son de difícil control en este grupo de pacientes, aumentando así la necesidad con buena actividad contra estos hongos. Adicionalmente, infecciones fúngicas problemáticas menos serias pero crónicas, de las uñas y piel de las manos y pies, la dermatofitosis, afectan a millones de personas a nivel mundial. Como un resultado del cambio de escenario de las infecciones fúngicas y la falta de una cura total de

30 esas infecciones, los compuestos 100 y 102 está soportando pruebas para posible desarrollo futuro.

Materiales y métodos

La prueba antifúngica fue completada con un lote común para los compuestos 100 y 102.

Se pesó una porción de 10 mg de cada polvo y se agregó a 1 ml de agua destilada estéril para compuesto 100 y DMSO para compuesto 102. La concentración resultante de 10 µg/ml fue diluida hasta una concentración de trabajo de 640 µg/ml para cada compuesto. Todas las diluciones subsiguientes fueron hechas también usando los respectivos diluyentes. Las concentraciones finales de prueba variaron de 0.125-64 µg/ml.

Resultados

Se probó un total de 23 productos de aislamiento para incluir 3 *Candida albicans*, 3 *Candida glabrata*, 3 *Cryptococcus neoformans*, 3 *Aspergillus fumigatus*, 3 *Rhizopus oryzae*, 3, *Fusarium solani*, 3 *Pseudallescheria boydii*, y 2 *Trichosporon rubrum*. Todos los productos de aislamiento fueron productos de aislamiento clínico sometidos al Fungus Testing Laboratory para evaluación. La prueba de susceptibilidad antifúngica fue realizada de acuerdo con los métodos delineados en el National Committee for Clinical Laboratory Standards, M-27A2, Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard, y M38-A "Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Conidium-Forming Filamentous Fungi; Approved Standard". Esto incluye prueba en RPMI-1640 con glutamina y sin bicarbonato, un tamaño de inóculo de 0.5-2.5 x 10³ para levaduras o 1 -5 x 10⁴ para hongos, e incubación a 35°C por 24 y 48 horas. La concentración mínima inhibidora (MIC) fue definida como la concentración más baja que dio como resultado una reducción de 50% en la turbidez, comparada con un tubo de control libre de fármaco para la levadura e inhibición de 80% para los hongos.

Mientras no se notó actividad para el compuesto 100 a los niveles probados, se encontró actividad significativa para compuesto 102 contra *T. rubruin* (Tabla 6).

Conclusión

Dependiendo de los niveles alcanzables de este compuesto en sujetos humanos, los perfiles de seguridad y otros factores pertinentes, este compuesto puede ser un aspirante viable para infecciones dermatofíticas causadas por *Trichosporon rubrum*.

Tabla 6

		Compuesto 100 / 24 Horas	Compuesto 100 / 48 Horas	Compuesto 102 / 24 Horas	Compuesto 102 / 48 Horas
CP	Control	>64	>64	>64	>64
07-3006	<i>C. albicans</i>	>64	>64	>64	>64
07-3011	<i>C. albicans</i>	>64	>64	>64	>64
07-3012	<i>C. albicans</i>	>64	>64	>64	>64
07-2964	<i>C. glabrata</i>	>64	>64	>64	>64
07-2965	<i>C. glabrata</i>	>64	>64	>64	>64
07-3013	<i>C. glabrata</i>	>64	>64	>64	>64
07-2665	<i>C. neoformans</i>	>64	>64	>64	>64
07-2737	<i>C. neoformans</i>	>64	>64	>64	>64
07-2829	<i>C. neoformans</i>	>64	>64	>64	>64
07-1870	<i>R. arrhizus</i>	>64	>64	>64	>64
07-2044	<i>R. arrhizus</i>	>64	>64	>64	>64
07-2078	<i>R. arrhizus</i>	>64	>64	>64	>64
07-1399	<i>F. solani</i>	>64	>64	>64	>64
07-1755	<i>F. solani</i>	>64	>64	>64	>64
07-1867	<i>F. solani</i>	>64	>64	>64	>64

ES 2 634 152 T3

		Compuesto 100 / 24 Horas	Compuesto 100 / 48 Horas	Compuesto 102 / 24 Horas	Compuesto 102 / 48 Horas
07-1333	<i>P. boydii</i>	>64	>64	>64	>64
07-1502	<i>P. boydii</i>	>64	>64	>64	>64
07-1601	<i>P. boydii</i>	>64	>64	>64	>64
05-388	<i>A. fumigatus</i>	>64	>64	>64	>64
06-4126	<i>A. fumigatus</i>	>64	>64	>64	>64
07-2039	<i>A. fumigatus</i>	>64	>64	>64	>64
07-1743	<i>T. rubrum</i>	>64	>64	2	2
07-2055	<i>T. rubrum</i>	>64	>64	2	2

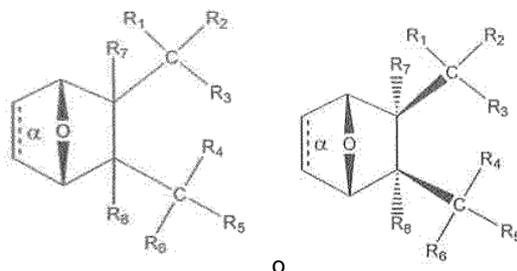
Referencias

- Alder, B., (1938) *Ann. Chem.*, 113, 120.
- Ayaydin, F. et al., (2000) *The Plant Journal*, 23:85-96.
- 5 Baskin, T. y Wilson, J., (1997) *Plant Physiol.* 113:493-502.
- Bastien et al. (2004), *Gene*, Vol. 328, pp. 1-16.
- Bhongle, N.N. et al., (1984) *Indian J. Chem. Sect. B.*, 23, 465-468.
- Blaheta, A et al. (2002), *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 9, pp. 1417-1433.
- Crafts, A.S., (1953) *Rev. Plant. Physiol.*, 4:253-282.
- 10 Drewinko et al. (1967) *Cancer Biochem. Biophys.*, Vol. 1, pp. 187-195.
- Erdodi, F. et al., (1985) *Am. J. Physiol.*, 269 (Cell Physiol. 38) C1176-C1184.
- Essers, M. et al., (2001) *Tetrahedron Lett.*, 42, 5429-5433.
- Fanghaemel, F. et al., (1994) *Synthesis*, 10, 1067-1071.
- Giannini, R. y Cvallini, A. (2005) *Anticancer Research*, Vol. 36, No. 6B, pp. 4287-4292.
- 15 Göttlicher, M et al. (2001) *Eur. Mol. Bio. Journal*, Vol. 20, no. 24, pp. 6969-6978.
- Graziano, M.J. y Casida, J.E. (1987) *Toxicol Lett.*, 37, 143-148.
- Hart, ME et al. (2004) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, Vol. 14, pp. 1969-1973.
- Havrilesky, LJ et al. (2001) *J. Soc. Gynecology. Investig.*, Vol. 8, pp. 104-113.
- Hermanson et al. (2002) *Nature*, Vol. 419, pp. 934-939.
- 20 Honkanan, R.E. et al., (1993) *FEBS Lett.*, 330, 283-286.
- Hughes et al. (1988) *Nature*, Vol. 335, pp. 70-73.
- Kayser, M.M. et al., (1989) *Can. J. Chem.*, 67, 1401-1410.
- Kayser, M.M. et al., (1982) *Can. J. Chem.*, 60, 1199-1208.
- Kawamura, N. et al. (1990) *Chem. Res. Toxicol.*, Vol. 3, pp. 318-324.
- 25 Kovach, JS et al. (1985) *Cancer Treat. Rep.*, Vol. 69, pp. 97-103.
- Li, Y.M. et al., (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89, 11867-11870.
- Li, Y.M. et al., (1993) *Biochem. Pharmacol.*, 46, 1435-1443.

- Matsuzawa, M. et al. (1987) *J. Agric. Food Chem.*, Col. 35, No. 5.
- Momparlet, RL. (1980) *Pharmacol. Ther.*, Vol. 8, pp. 21-35.
- Myers, E. et al. (2005) *Clin. Cancer Res.*, Vol. 11, pp. 2111-2122.
- Park, DM. et al., (2007) *Cell Cycle*, 6(4): 467-70.
- 5 Peng, F. et al. (2002), *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, Vol. 128, pp. 223-230.
- Ramezani, M. et al., (1989) *J. Org. Chem.*, 54, 2852-2854.
- Rutka et al. (1988) *Int. J. Cancer*, Vol. 42, pp. 419-427.
- Sanderson, L et al. (2004) *Drug Metabolism and Disposition*, Vol. 32, No. 10, pp. 1132-1138.
- Sakoff, JA. (2004) *Current Pharmaceutical Design*, Vol. 10, pp. 1139-1159.
- 10 Schweizer, H.R., (1989) *Helv. Chim. Acta.*, 2221-2235.
- Shimi, IR et al. (1982) *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 18:785-793.
- Singh et al. (2003) *Cancer Research*, Vol. 63, pp. 5821-5828.
- Singh et al. (2004) *Nature*, Vol. 432, pp. 396-401.
- Smith et al., (1994) *Planta* 194:516-524.
- 15 Stupp et al. (2005) *N. Engl. J. Med.*, Vol. 352, pp. 987-996.
- Trost, L., (1977) *J. Am. Chem Soc.*, 99, 7079.
- Tsauer, W. et al., (1997) *Anticancer Research* 17, 2095-2098.
- Uchida et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 97, pp. 14720-14725.
- Wang, DS, (1989) *Journal de Ethnopharmacology*, 26:147-162.
- 20 Yi, SN et al., *Bulletin de Hunan Medical University*, (1988), 13:327-330.
- Documento de EEUU No. 6,949,624, Liu et al.
- Documento de EEUU No. 2004/0197888, Armour et al.
- Documento de EEUU No. 2004/0253637, Buechler et al.
- Documento de EEUU No. 2005/0203082, Hsu et al.
- 25 Documento de EEUU No. 2006/0030616A1, registrado el 9 de febrero de 2006 (McCluskey et al.)
- Valeriotte, F., (1975) *Cancer Chemother. Rep.*, Vol. 59, pp. 895-900.
- Wang, GS (1983) *Chin. Pharmac. Bull.*, Col. 18, pp. 18-19.
- Wang, GS (1989) *J. EtnoPharmacol.*, Vol. 26, pp. 147-162.
- Wang, GS et al. (1986), *Chinese. Pharm. Bull.*, Vol. 21, pp. 90-93.
- 30 Wang, GS et al. (1987) *Chinese Pharm. Bull.*, Vol. 22, pp. 517-519.
- Waters, CE et al. (2004) *J. Endocrinol.*, Vol. 183, pp. 375-383.
- Yoshida, M et al. (1990) *Journal de Biological Chem.*, Vol. 265, No. 28, pp. 17174-17179.
- Yung et al. (1996) *Clin. Cancer Res.* Vol. 2, pp. 1931-1935.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura



en la que

5 el enlace α está presente o ausente;

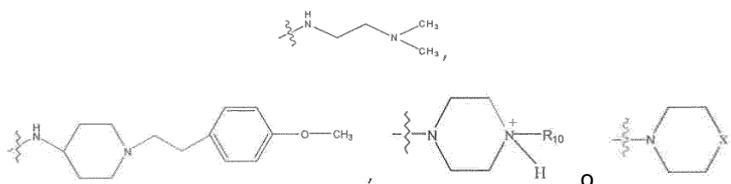
R_1 y R_2 es cada uno independientemente H, O^- u OR_9 ,

donde R_9 es H, alquilo, alquenilo, alquinilo o arilo, o R_1 y R_2 son juntos =O;

R_3 es OH, O^- , OR_9 , SH, S^- , SR_9 ;

R_4 es

10



donde X es O, S, NR_{10} , o $N^+R_{10}R_{10}$,

donde cada R_{10} es independientemente alquilo, alquilo C_2 - C_{12} sustituido, alquenilo, alquenilo C_4 - C_{12} sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R_1 y R_2 son =O,



15 $-CH_2CN$, $-CH_2CO_2R_{11}$, $-CH_2COR_{11}$, $-NHR_{11}$ o $-NH_+(R_{11})_2$,

donde cada R_{11} es independientemente alquilo o H;

R_5 y R_6 es cada uno independientemente H, OH, o R_5 y R_6 tomados juntos son =O; y

R_7 y R_8 es cada uno independientemente H, F, Cl, Br, SO_2F , CO_2CH_3 , o SR_{12} ,

donde R_{12} es H, arilo o un alquilo, alquenilo o alquinilo sustituido o no sustituido,

20 o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

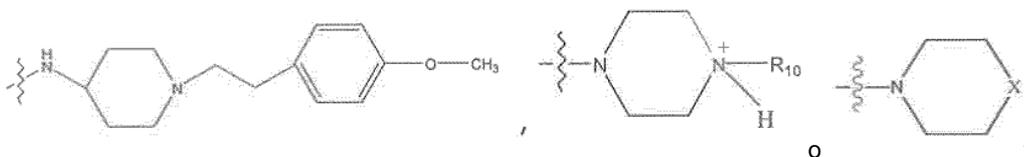
2. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la estructura

en la que

el enlace α está ausente;

R_3 es OH, u O^- ;

25 R_4 es



donde X es NR₁₀, o N⁺R₁₀R₁₀,

donde cada R₁₀ es independientemente C₂-C₁₂ alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,

5



-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁ o -NH⁺(R₁₁)₂,

donde cada R₁₁ es independientemente alquilo o H,

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

10 3. El compuesto de la reivindicación 1, en la que

el enlace α está presente,

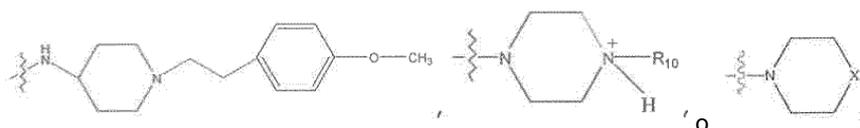
o una sal, enantiómero o zwitterion, del compuesto.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en la que

R₃ es OR₉, SH, S⁻, SR₉,

15 o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en la que R₄ es



donde X es S, NR₁₀, o N⁺R₁₀R₁₀,

donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,

20



-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁ o -NH⁺(R₁₁)₂,

donde cada R₁₁ es independientemente alquilo o H,

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

25 6. El compuesto de las reivindicaciones 1 o 5,

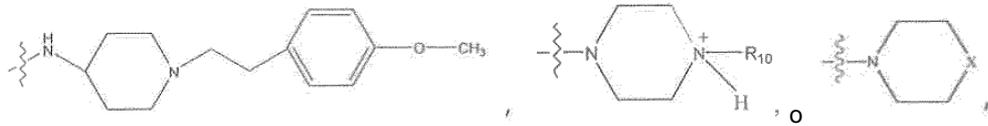
en las que

R₁ y R₂ son juntos =O;

R₃ es O⁻ u OR₉,

donde R₉ es H, metilo, etilo o fenilo;

R₄ es



donde X es S, NR₁₀, o N⁺R₁₀R₁₀,

- 5 donde cada R₁₀ es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,



-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁ o -NH⁺(R₁₁)₂,

donde R₁₁ es alquilo o H;

- 10 R₅ y R₆ tomados juntos son =O; y

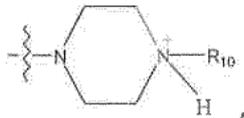
R₇ y R₈ es cada uno independientemente H, F, Cl, Br, SO₂F, CO₂CH₃, o SR₁₂,

donde R₁₂ es un alquilo, alquenilo o alquinilo sustituido o no sustituido,

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

7. El compuesto de las reivindicaciones 1, 3, o 4,

- 15 en las que R₄ es



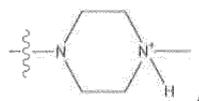
donde R₁₀ es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro cuando R₁ y R₂ son =O,



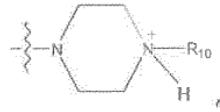
- 20 -CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₁, -CH₂COR₁₁, -NHR₁₁ o -NH⁺(R₁₁)₂,

donde R₁₁ es H o alquilo, o

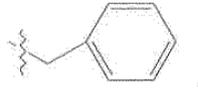
en la que R₄ es



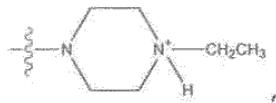
o en la que R₄ es



donde R₁₀ es



o en la que R₄ es



5

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

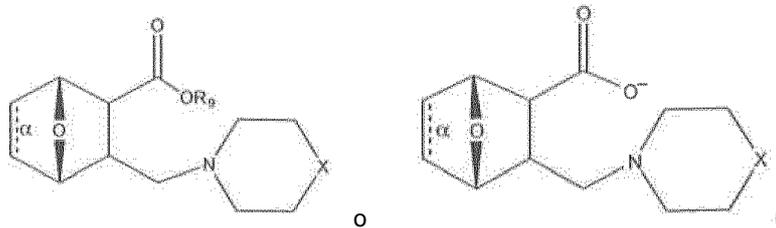
8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6,

en las que R₅ y R₆ son juntos =O; y/o

en las que R₇ y R₈ son cada uno H,

10 o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

9. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la estructura



en la que el enlace α está presente o ausente; R₉ está presente o ausente y cuando está presente es H, C₁-C₁₀ alquilo, C₂-C₁₀ alquenilo o fenilo; y X es O, S, NR₁₀ o N+R₁₀R₁₀,

15 donde cada R₁₀ es independientemente H, alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquilil, alquilil sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,



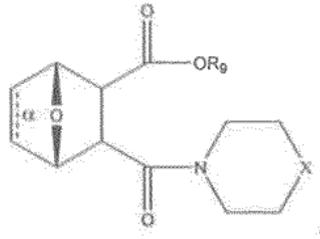
-CH₂CO₂H₁₁, -CH₂COR₁₁, -CH₂CN, o -CH₂CH₂R₁₆,

donde R₁₁ es H o alquilo, y

20 donde R₁₆ es cualquier sustituyente que es un precursor para un intermediario de aziridinilo,

o una sal, zwitterion o enantiómero del compuesto.

10. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la estructura



en la que

el enlace α está presente o ausente;

R_9 está presente o ausente y cuando está presente es H, alquilo, alquenilo, alquinilo o fenilo; y

5 X es NR_{10} , $NH+R_{10}$, o $N^+R_{10}R_{10}$,

donde cada R_{10} es independientemente alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,

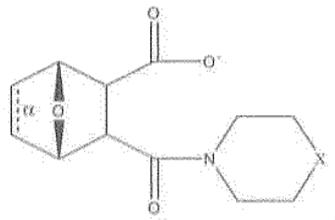


-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₂, o -CH₂COR₁₂,

10 donde R_{12} es H o alquilo,

o una sal, zwitterion, o enantiómero del compuesto.

11. El compuesto de la reivindicación 10, que tiene la estructura

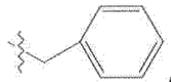


en la que

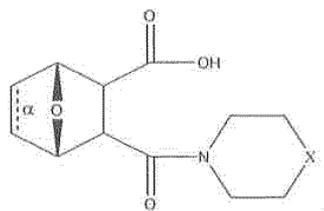
15 el enlace α está presente o ausente; 6

X es NH^+R_{10} ,

donde R_{10} es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, arilo sustituido donde el sustituyente es diferente a cloro,



20 -CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₂, o -CH₂COR₁₂, donde R_{12} es H o alquilo; o



en la que

el enlace α está presente o ausente;

X es NR₁₀,

donde R₁₀ es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido,

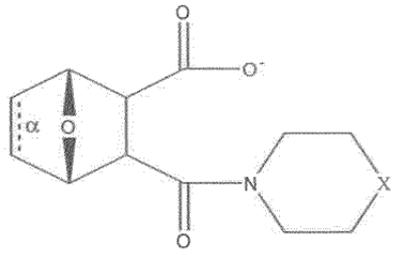


5

-CH₂CN, -CH₂CO₂R₁₂, o -CH₂COR₁₂, donde R₁₂ es H o alquilo,

o una sal, enantiómero o zwitterion, del compuesto.

12. El compuesto de la reivindicación 10, que tiene la estructura



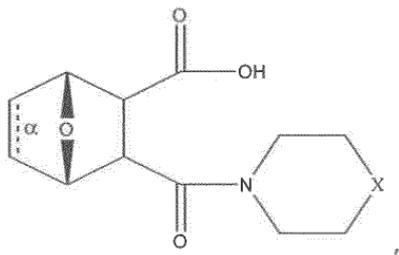
10 en la que

el enlace α está ausente;

X es N⁺HR₁₀,

donde R₁₀ es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo o alquinilo sustituido, o una sal, zwitterion, o enantiómero del compuesto.

15 13. El compuesto de la reivindicación 10, que tiene la estructura



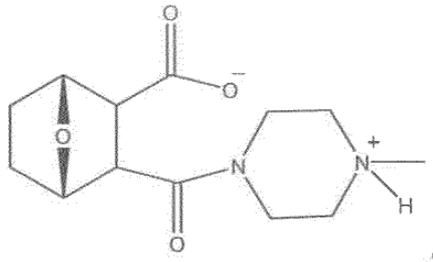
en la que

el enlace α está ausente;

X es NR₁₀,

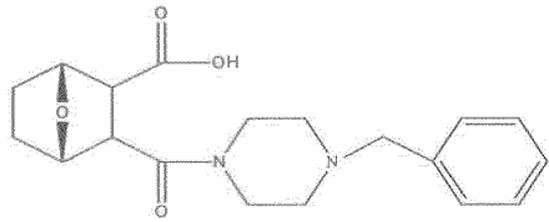
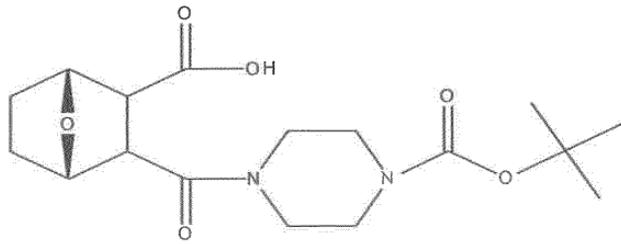
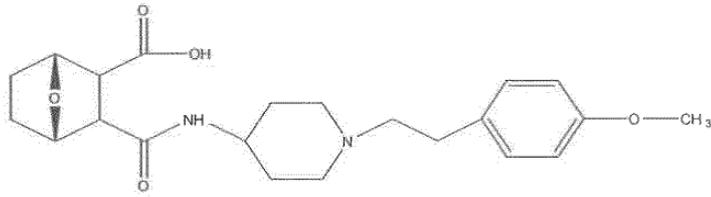
20 donde R₁₀ es alquilo, alquilo C₂-C₁₂ sustituido, alquenilo, alquenilo C₄-C₁₂ sustituido, alquinilo o alquinilo sustituido o una sal, zwitterion, o enantiómero del compuesto.

14. El compuesto de la reivindicación 12, que tiene la estructura



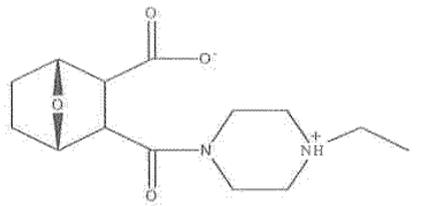
o una sal o enantiómero del compuesto.

15. El compuesto de la reivindicación 2 que tiene la estructura



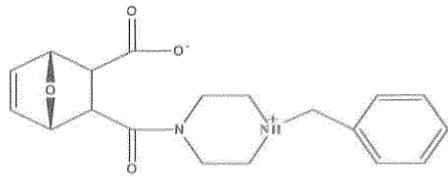
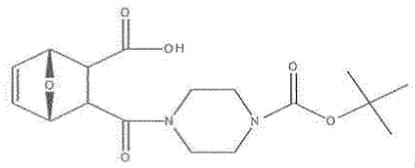
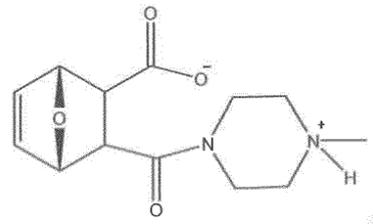
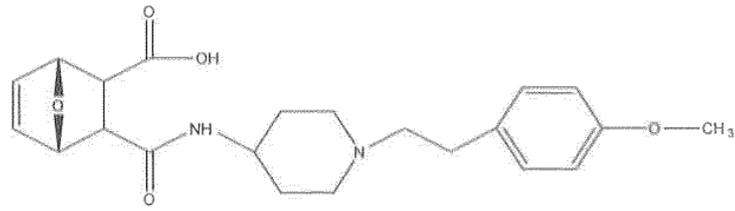
5

o

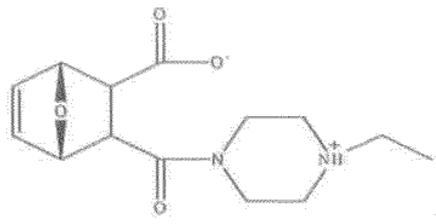


o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

16. Un compuesto de la reivindicación 3 que tiene la estructura



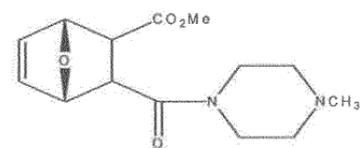
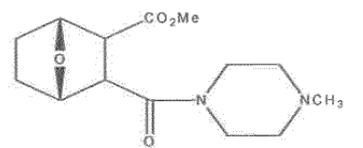
o



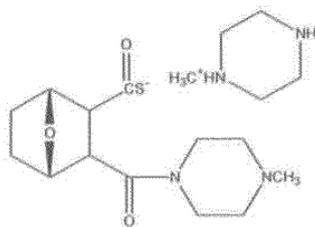
5

o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

17. Un compuesto de la reivindicación 4 que tiene la estructura



o



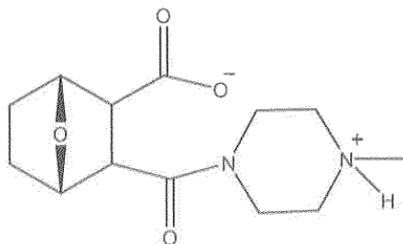
o una sal, enantiómero o zwitterion del compuesto.

18. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-17 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

19. La composición farmacéutica de la reivindicación 18, en la que el vehículo farmacéuticamente aceptable comprende un liposoma.

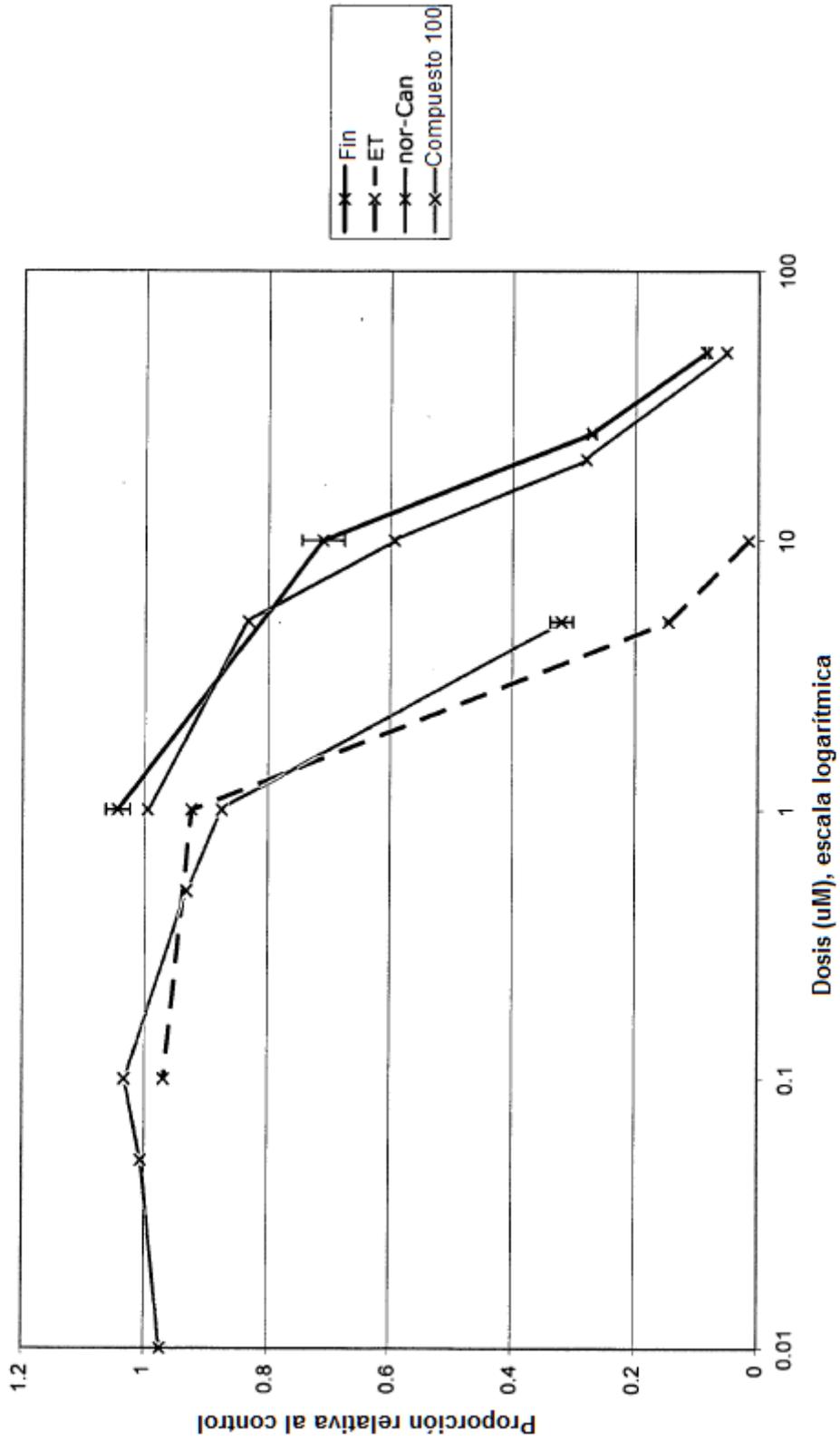
20. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-17 o la composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 18 o 19 para uso en la prevención o tratamiento de una infección fúngica; o para uso en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón de célula grande, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de estómago, cáncer de hígado, adenocarcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, leucemia promielocítica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica aguda, glioblastoma multiforme, cáncer colorectal o cáncer de ovario; o para uso en combinación con un ligando de histona desacetilasa en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón de célula grande, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, leucemia promielocítica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica aguda, glioblastoma multiforme, cáncer colorectal o cáncer de ovario, en la que el ligando de histona desacetilasa es seleccionado opcionalmente de 2-amino-8-oxo-9,10-epoxi-decanoilo, 3-(4-aroil-1H-pirrol-2-il)-N-hidroxi-2-propenamida, compuesto 8 APHA, apicidina, arginina butirato, ácido butírico, depsipéptido, depudecina, bis-hidroxamida de ácido m-carboxicinámico, N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridin-3-ilmtoxocarbolil)aminometil] benzamida, HDAC-3, MS 275, oxamfiatina, fenilbutirato, piroxamida, escriptaid, sirtinol, butirato de sodio, ácido suberico bishidroxámico, ácido suberoilnilido hidroxámico, tricostatina A, trapoxin A, trapoxin B o ácido valproico.

21. El compuesto de la estructura



para uso en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón de célula grande, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de estómago, cáncer de hígado, adenocarcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, leucemia promielocítica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica aguda, glioblastoma multiforme, cáncer colorectal o cáncer de ovario; o para uso en combinación con un ligando receptor de retinoide o un ligando de histona desacetilasa en el tratamiento de cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de pulmón de célula grande, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de pulmón de célula pequeña, cáncer de estómago, cáncer de hígado, adenocarcinoma de ovario, carcinoma de páncreas, carcinoma de próstata, leucemia promielocítica, leucemia mielocítica crónica, leucemia linfocítica aguda, glioblastoma multiforme, cáncer colorectal o cáncer de ovario, en la que el ligando de receptor de retinoide es ácido retinoico todo trans (ATRA) y el ligando de histona desacetilasa es seleccionado opcionalmente de 2-amino-8-oxo-9,10-epoxi-decanoilo, 3-(4-aroil-1H-pirrol-2-il)-N-hidroxi-2-propenamida, compuesto 8 APHA, apicidina, arginina butirato, ácido butírico, depsipéptido, depudecina, bis-hidroxamida de ácido m-carboxicinámico, N-(2-aminofenil)-4-[N-(piridin-3-ilmtoxocarbolil)aminometil] benzamida, HDAC-3, MS 275, oxamfiatina, fenilbutirato, piroxamida, escriptaid, sirtinol, butirato de sodio, ácido suberico bishidroxámico, ácido suberoilnilido hidroxámico, tricostatina A, trapoxin A, trapoxina B o ácido valproico.

Fig. 1 Inhibición de U373 por cuatro análogos de cantaridina



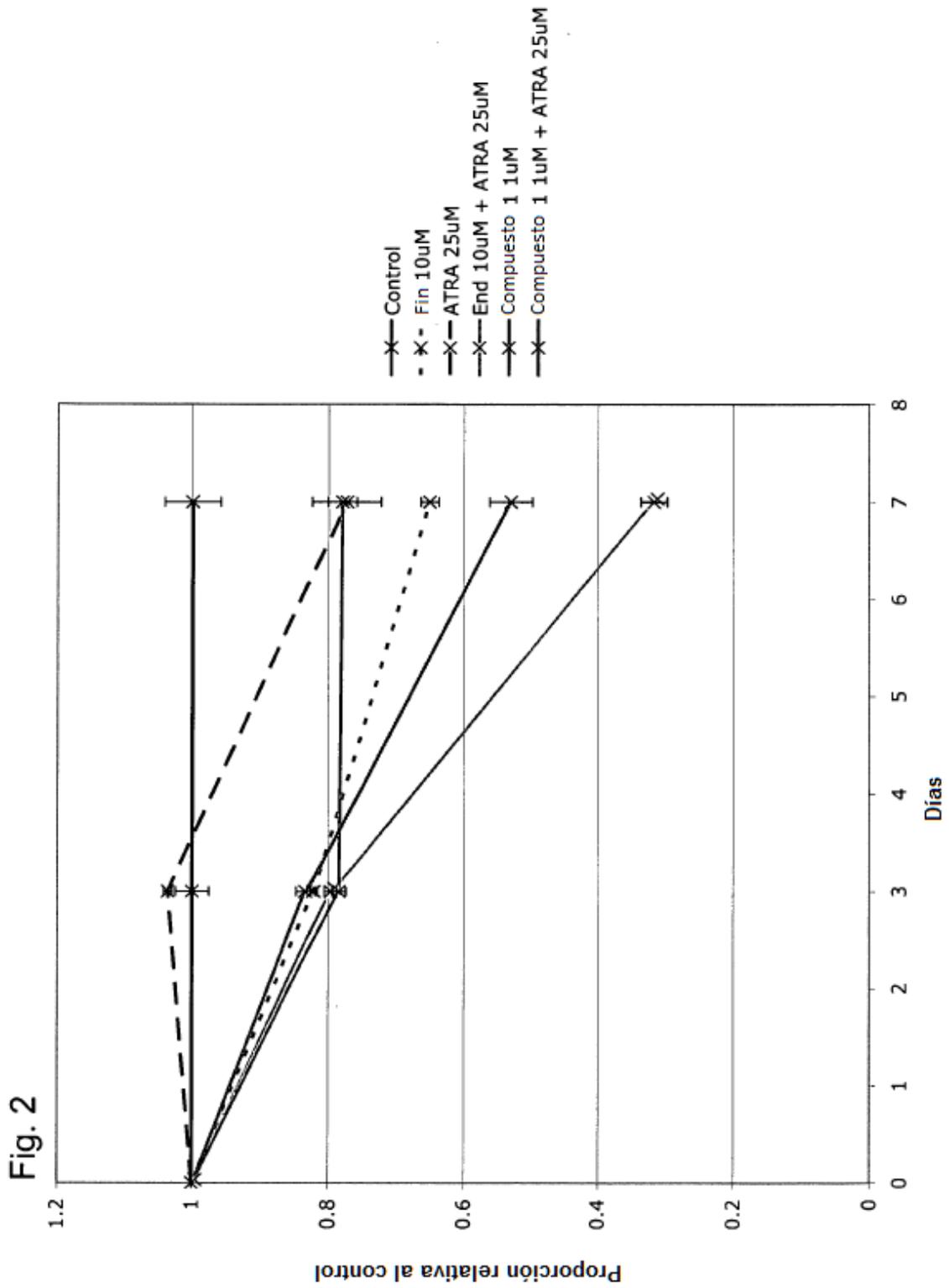


Fig. 3 Inhibición de la línea celular de cáncer de riñón, UMRC

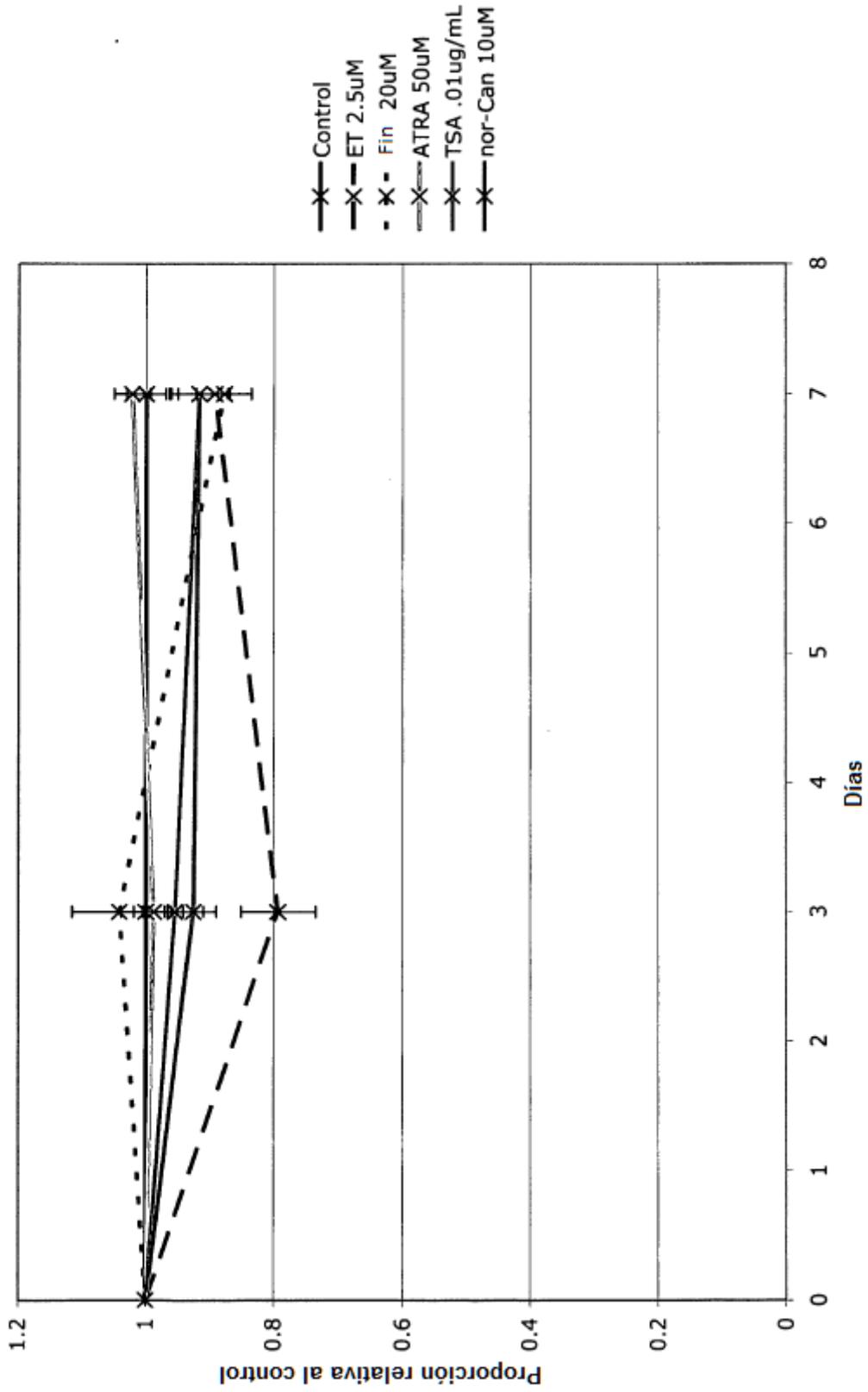


Fig. 4 Inhibición de la línea celular del glioma, U373

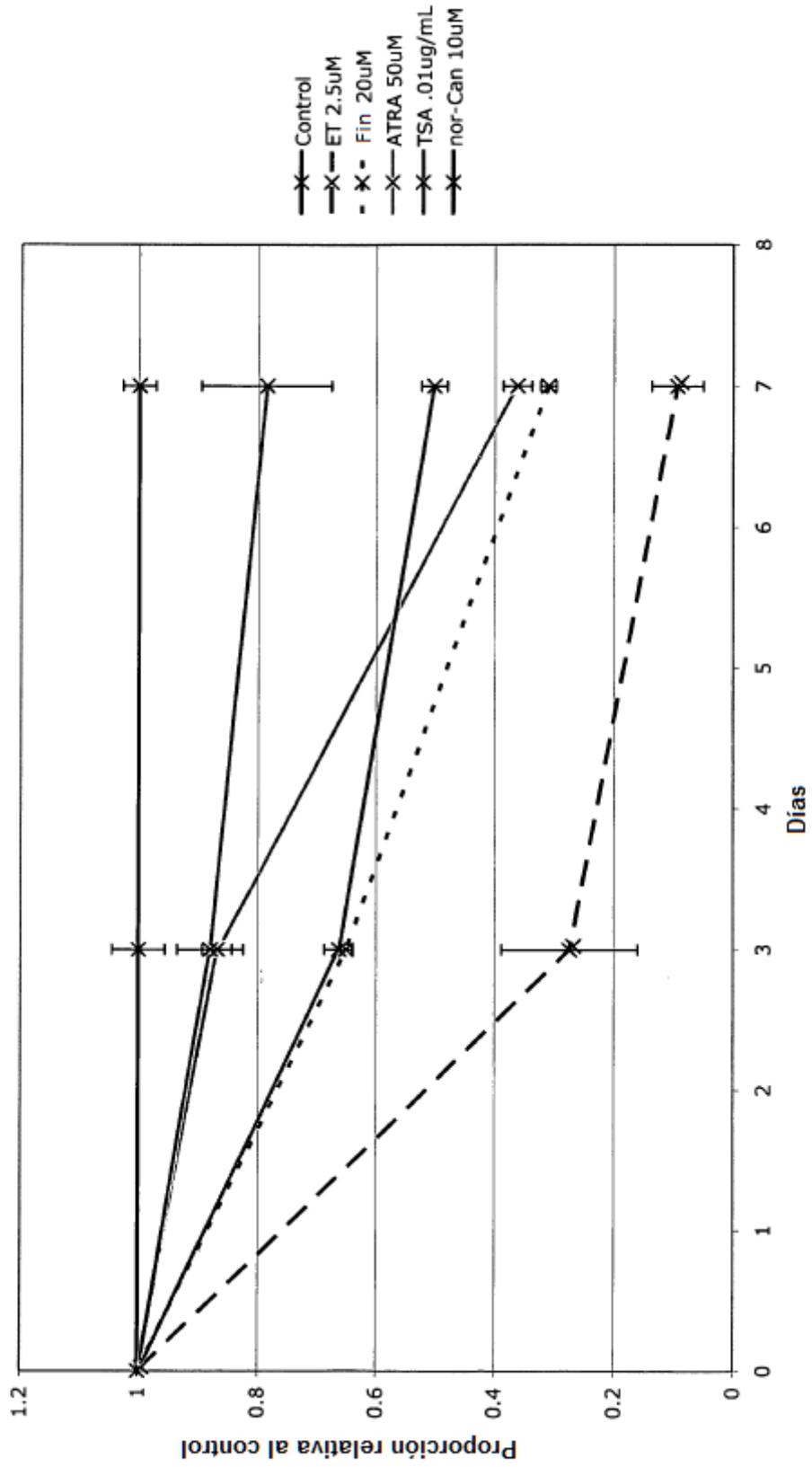


Fig. 5 Inhibición de las líneas celulares del cáncer de mama, MCF-7

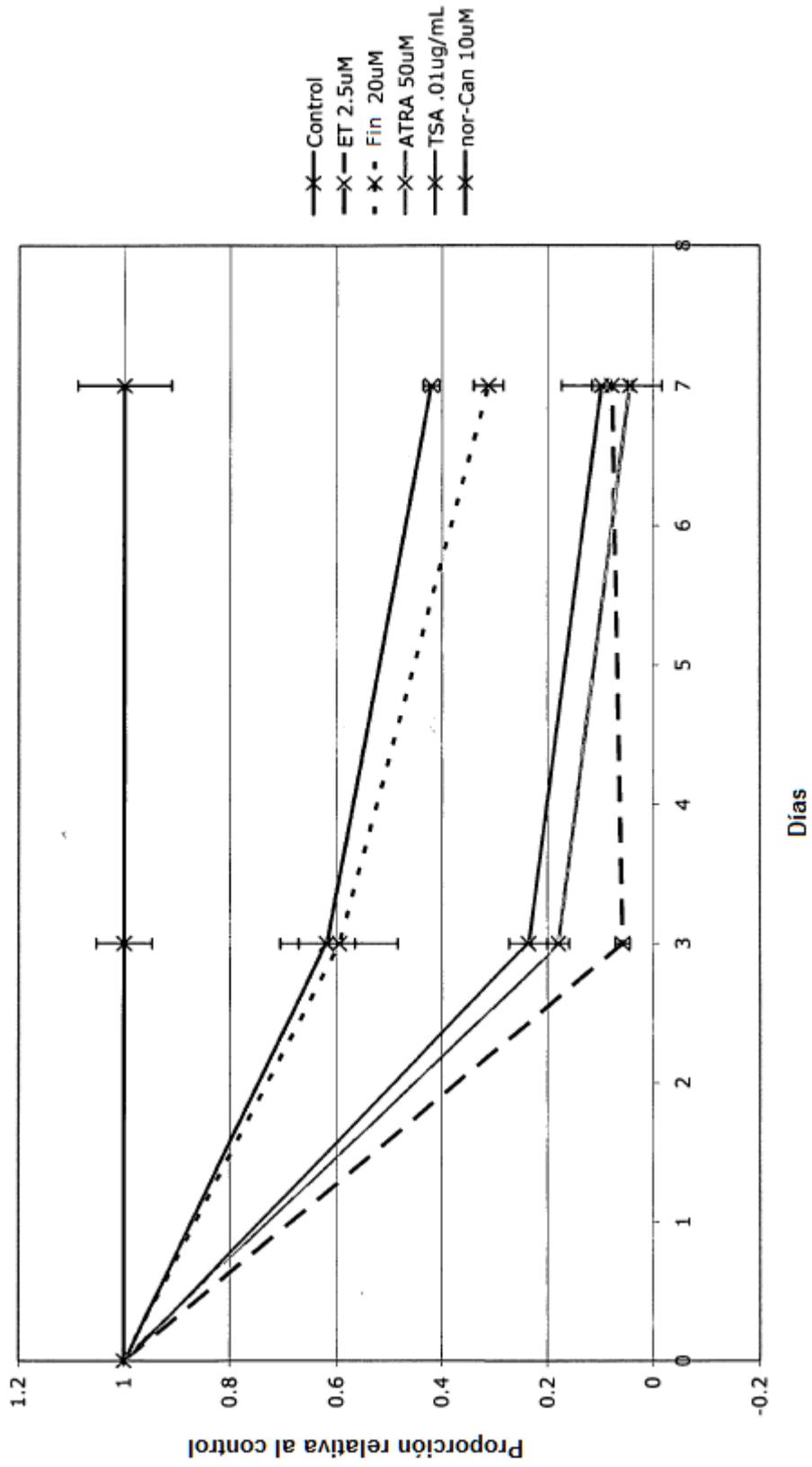


Fig. 6 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

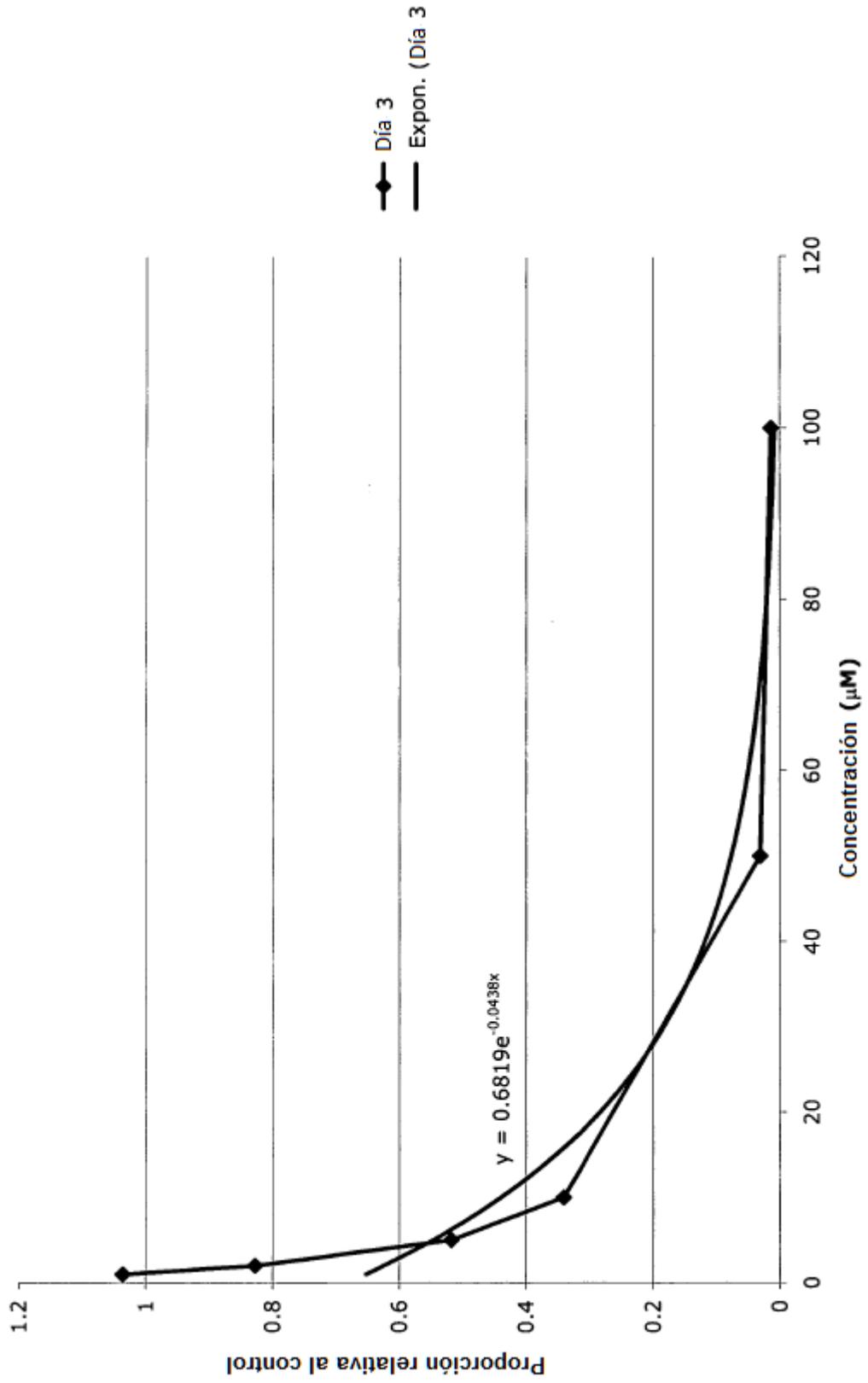


Fig. 7 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

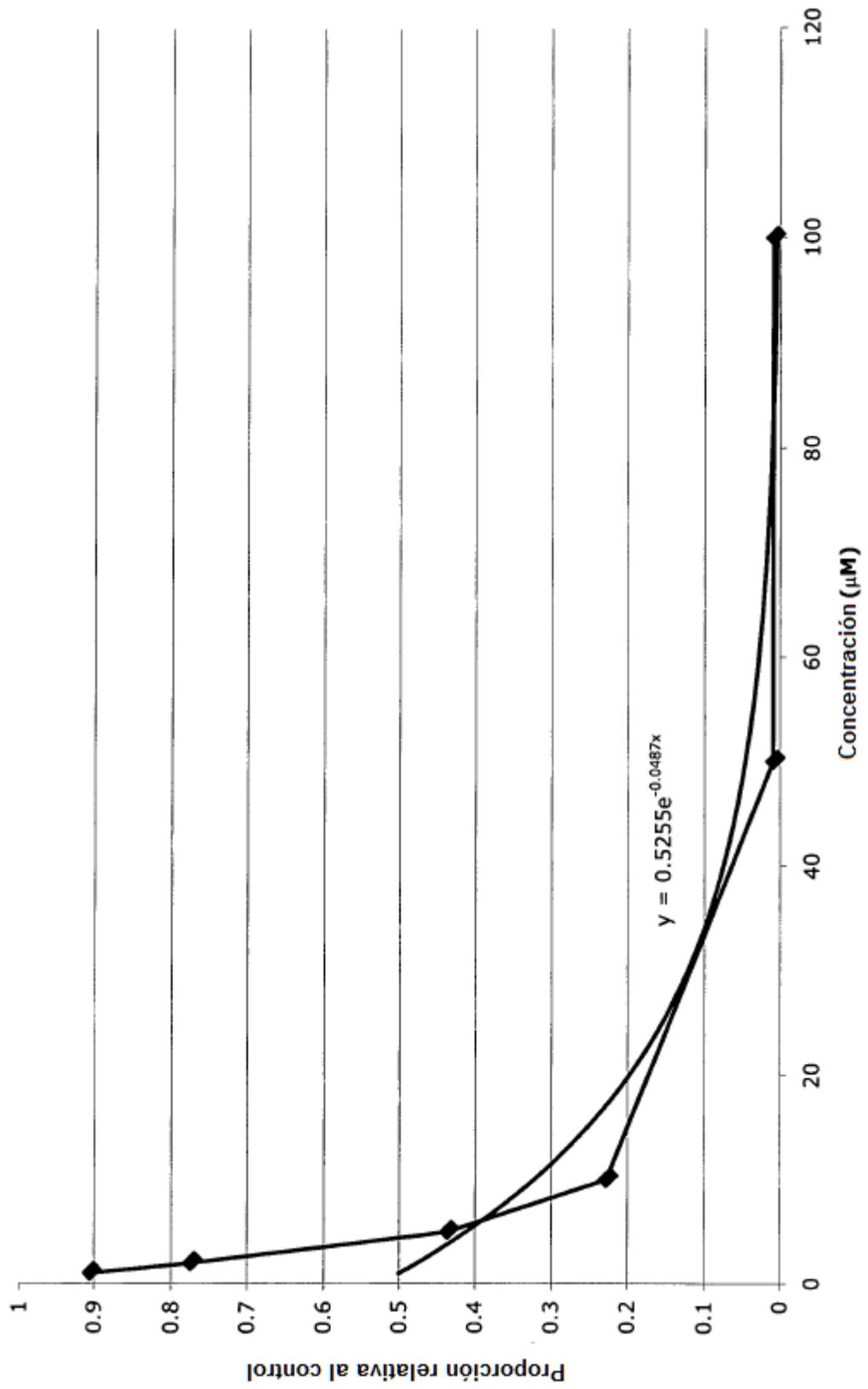


Fig. 8

Glioblastoma Multiforme: Línea U373

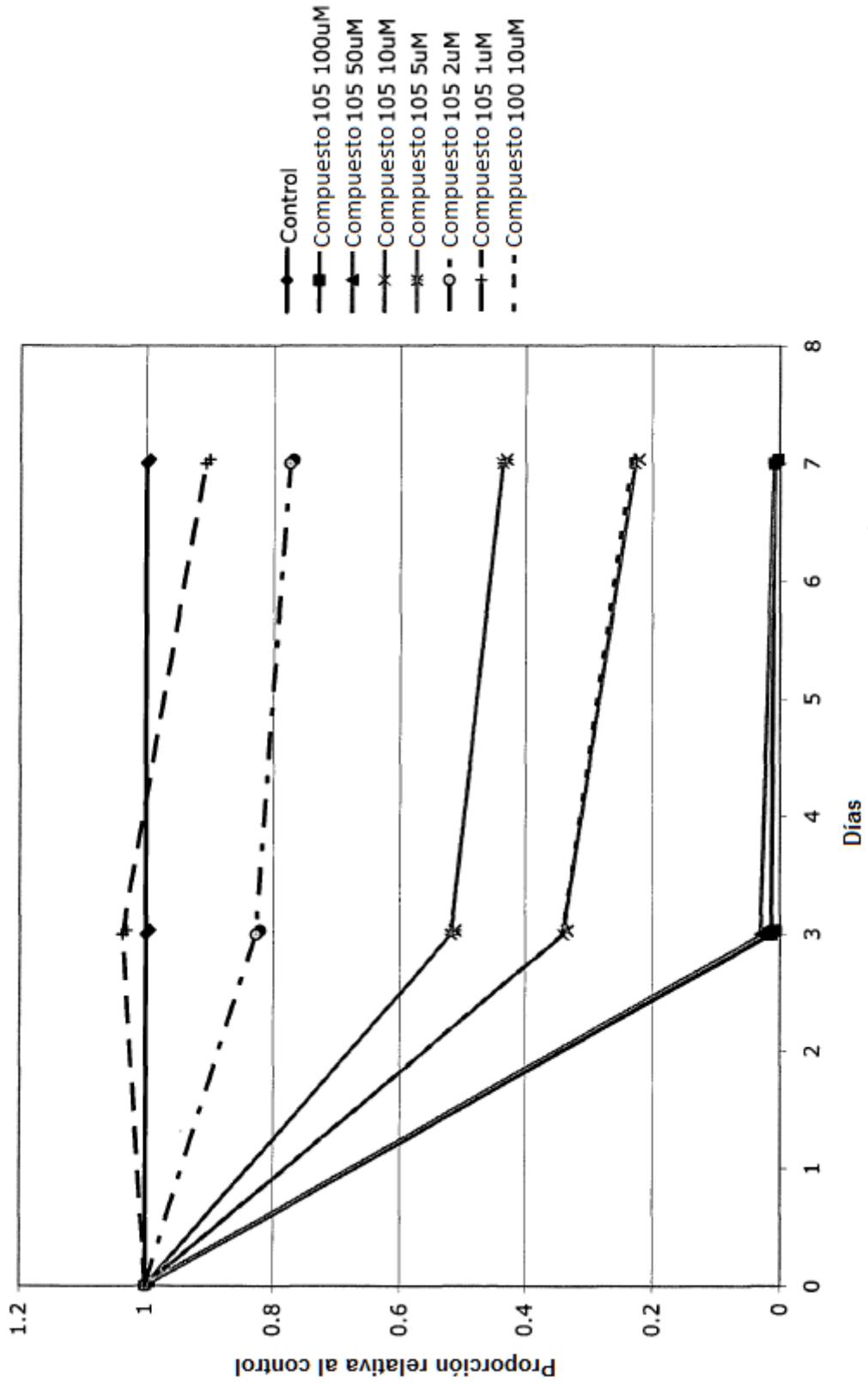


Fig. 9
FIGURA 9
Glioblastoma Multiforme: Línea U373
Dosis respuesta al Compuesto 105 comparado con el Compuesto 100 a 10uM

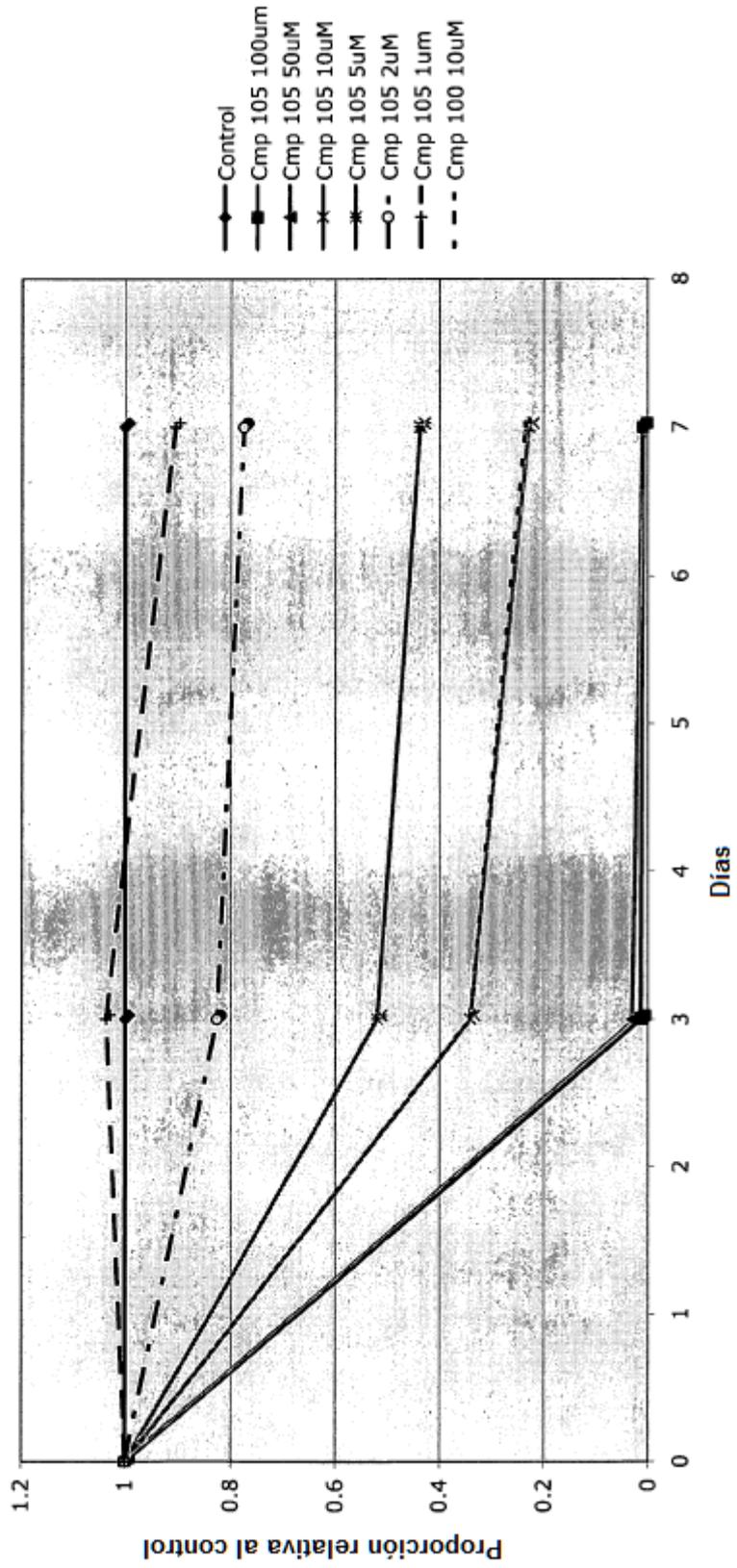
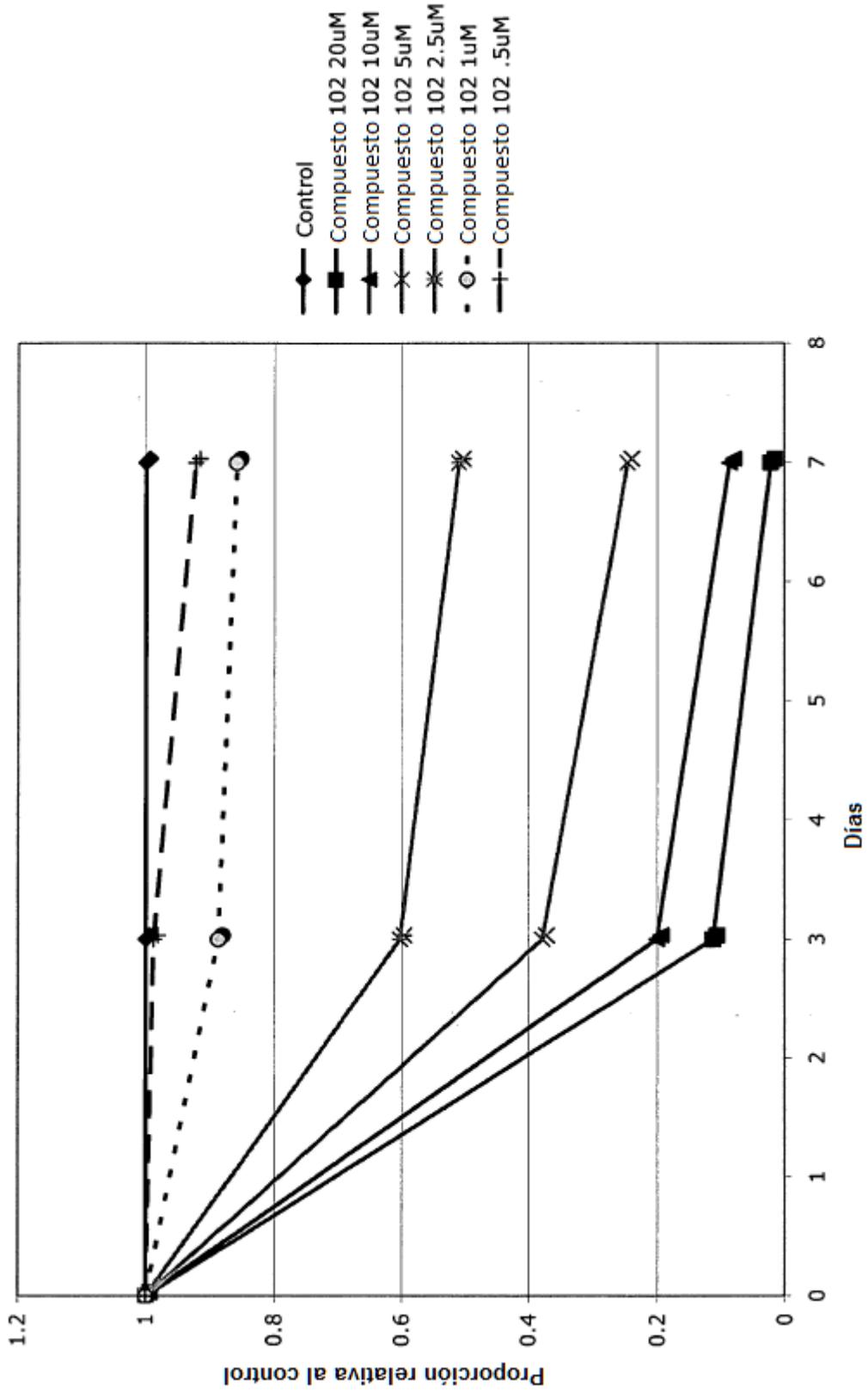


Fig. 10 Glioblastoma Multiforme: Línea U373



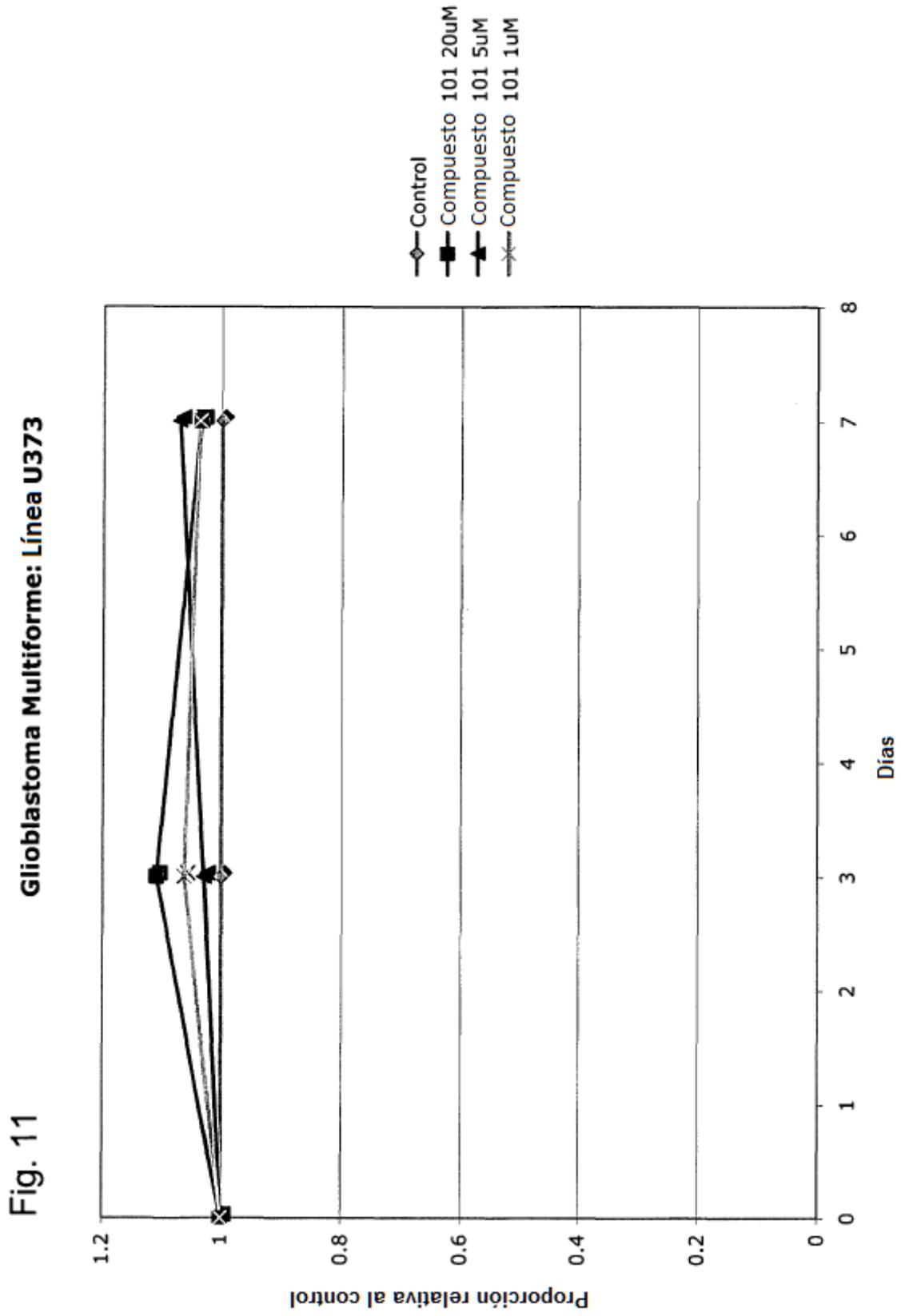


Fig. 12 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

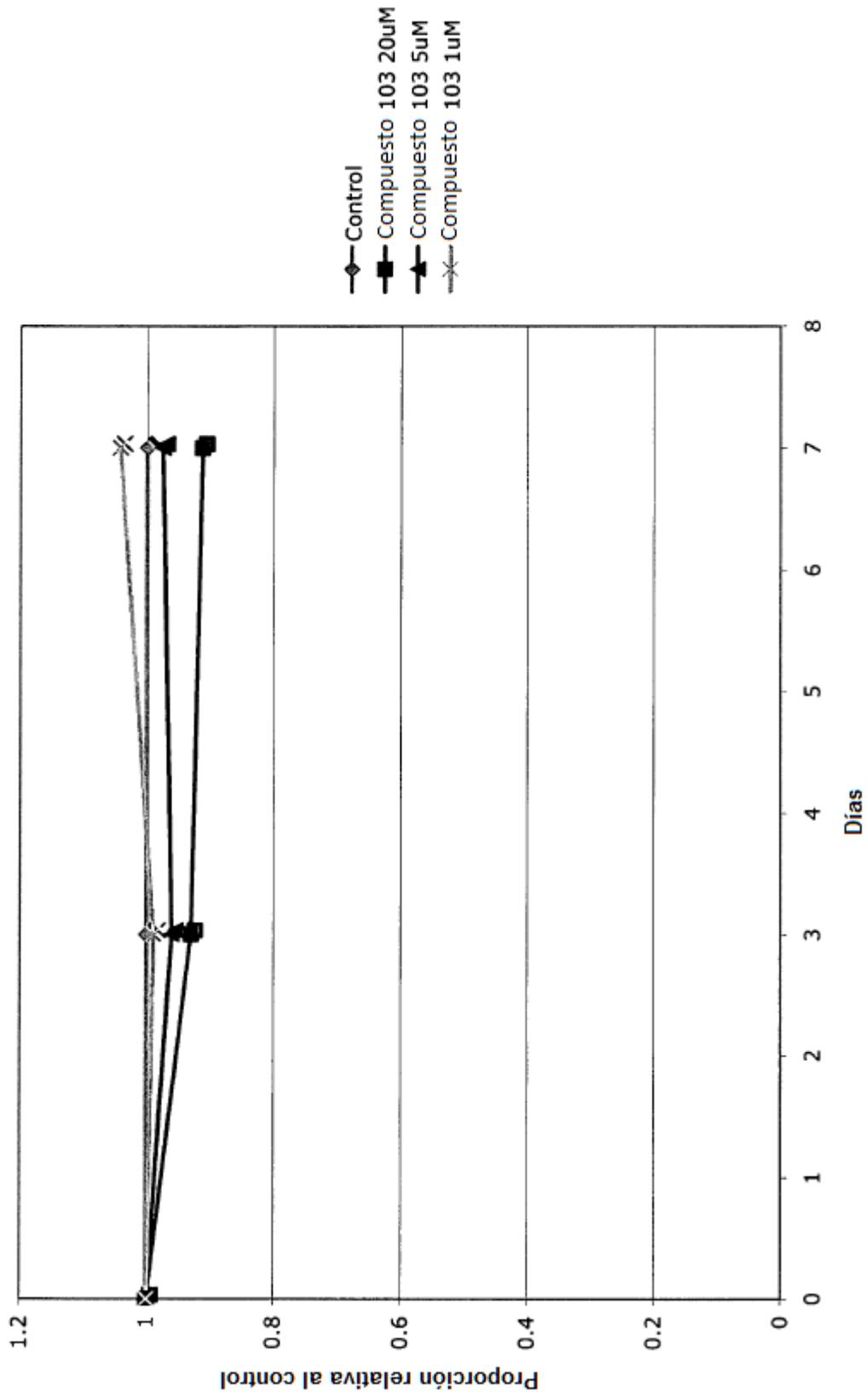


Fig. 13 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

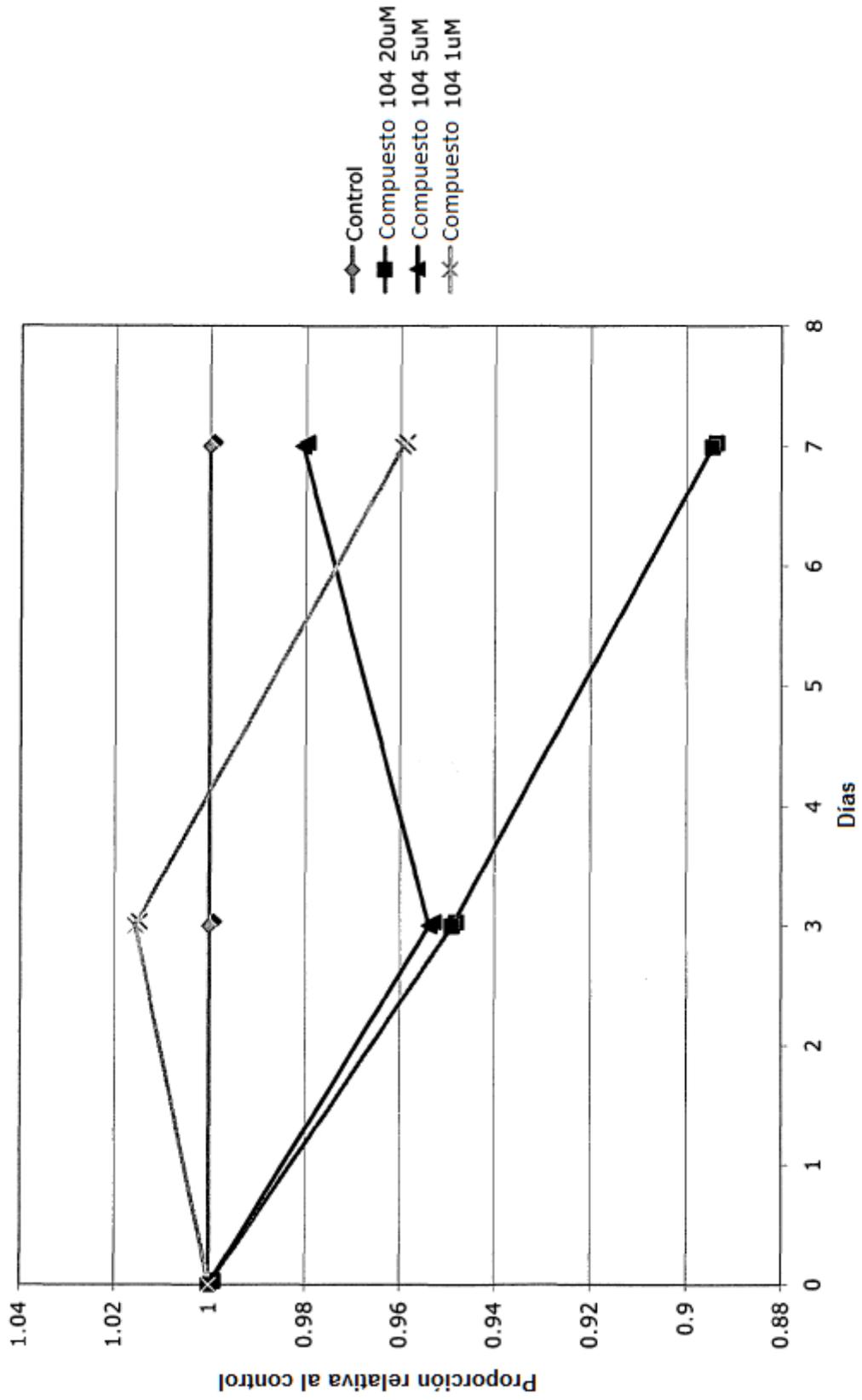


Fig. 14 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

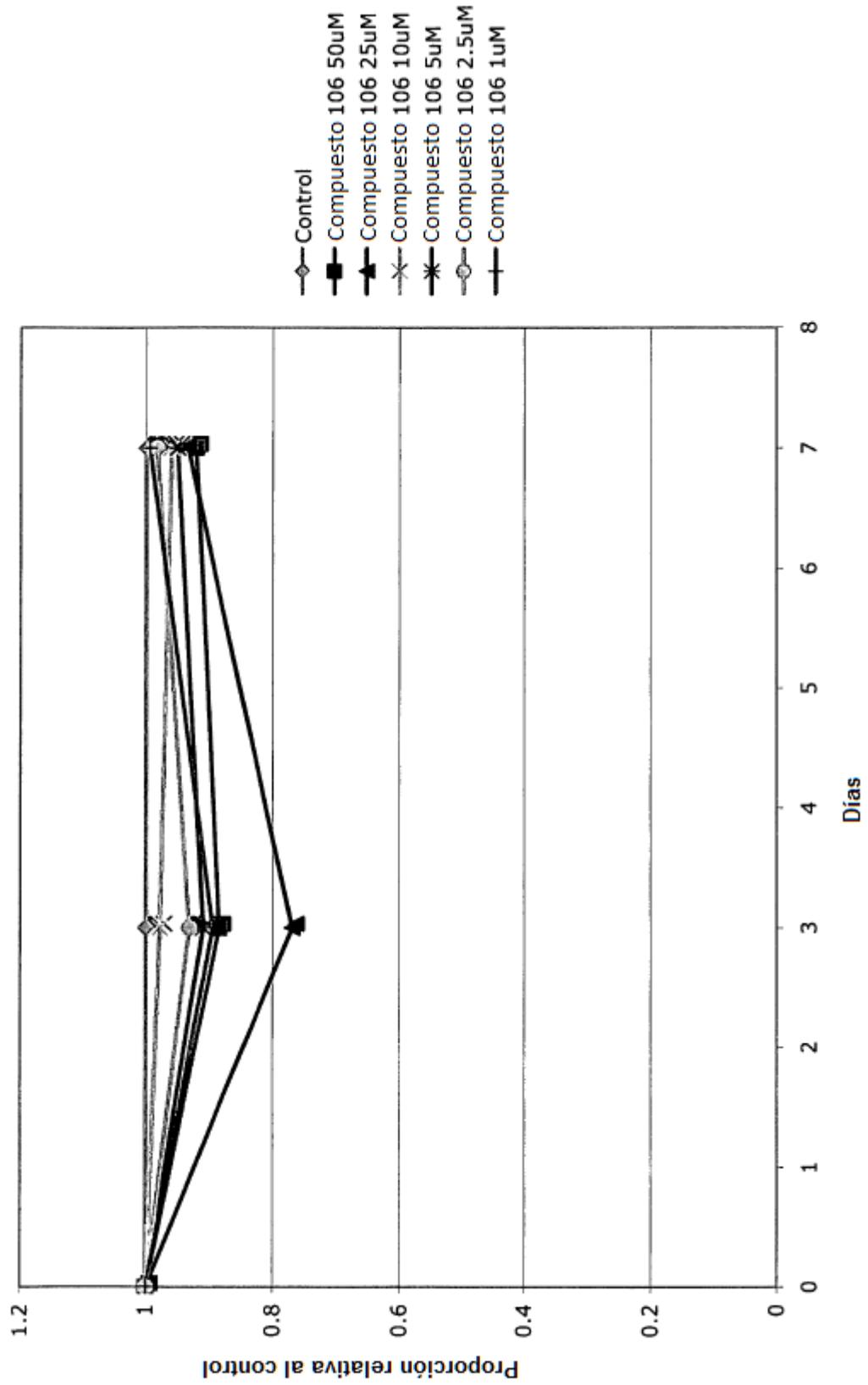


Fig. 15 Glioblastoma Multiforme: Línea U373

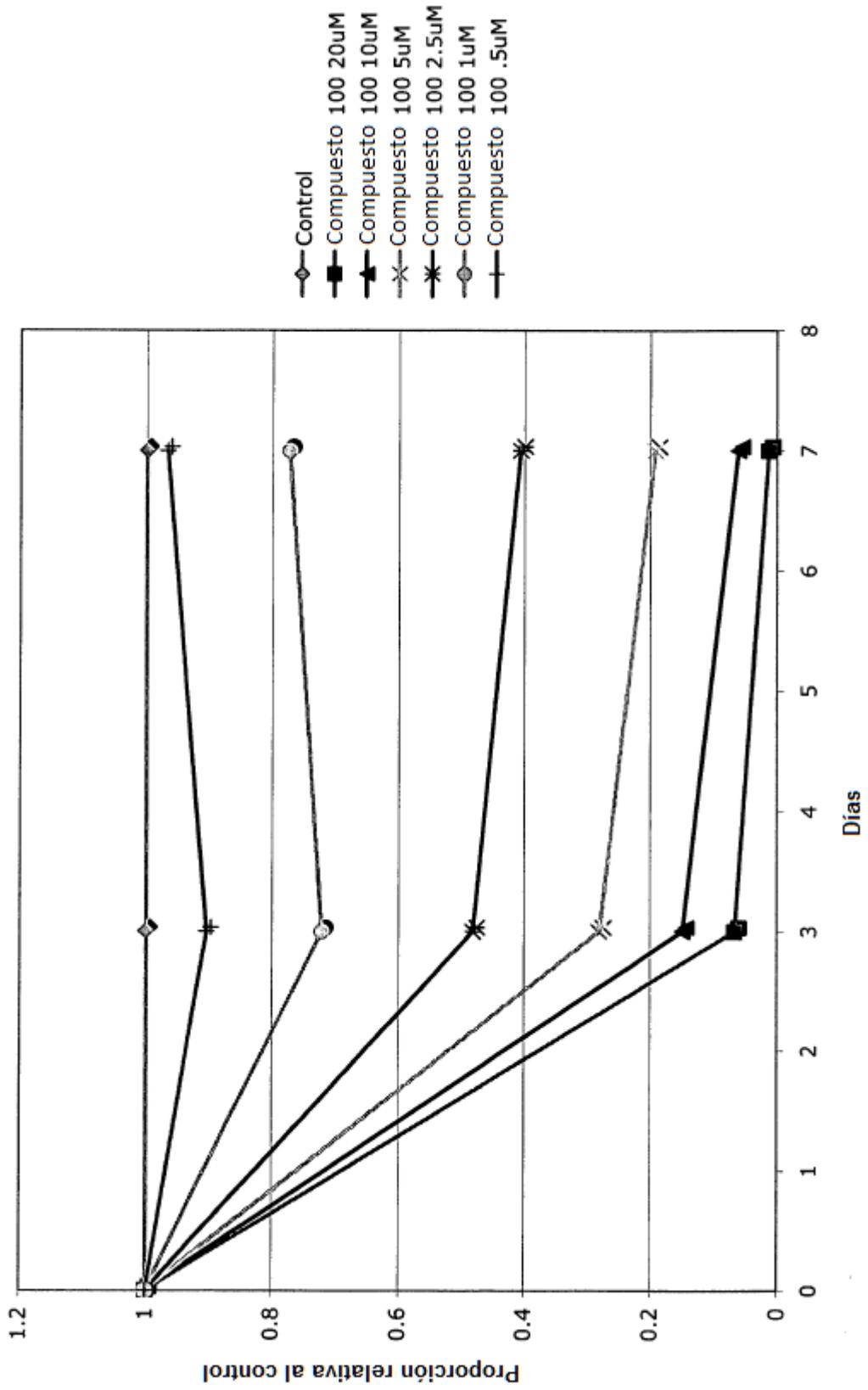


FIGURA 16
Meduloblastoma: Línea DAOY

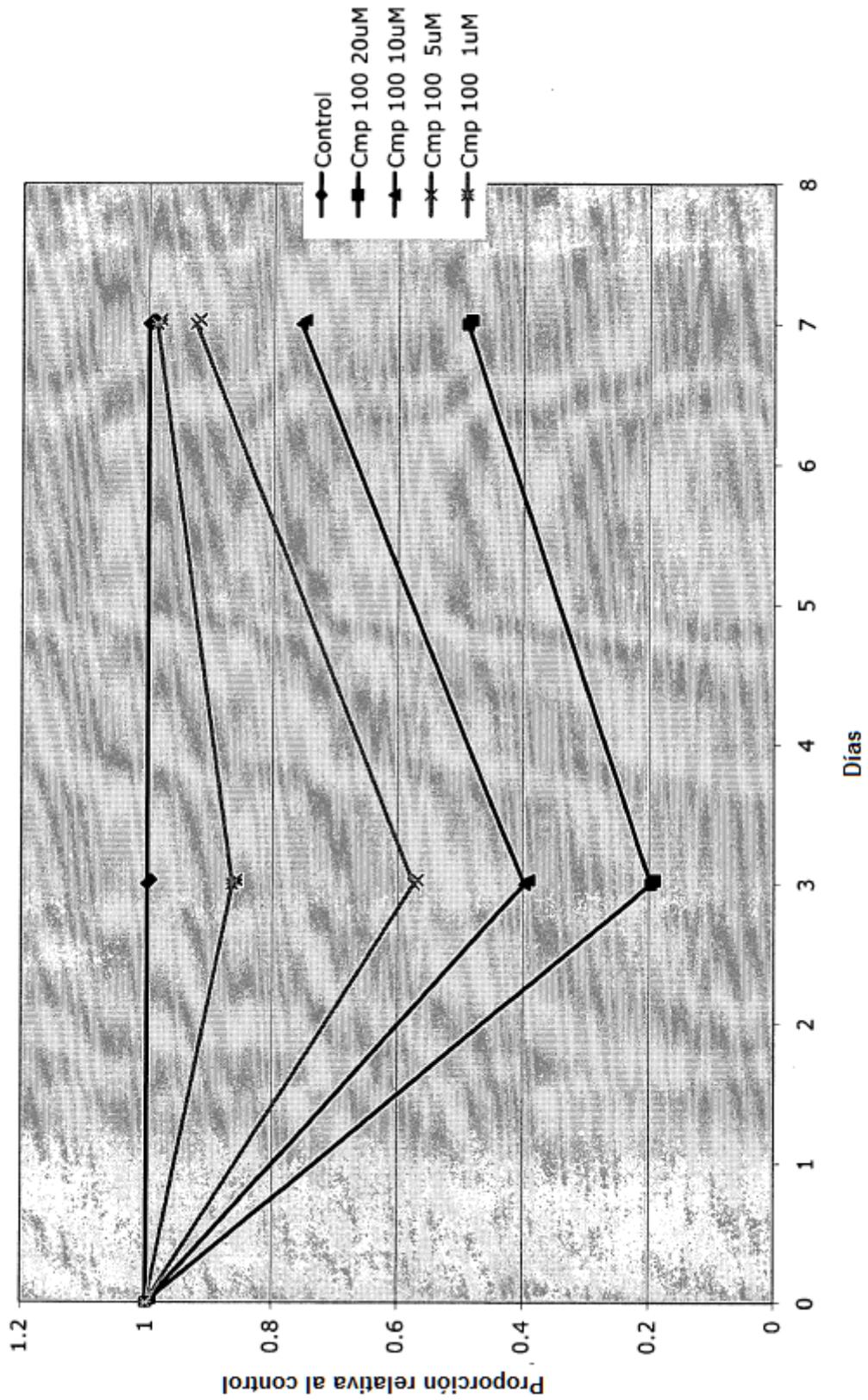


Fig. 17

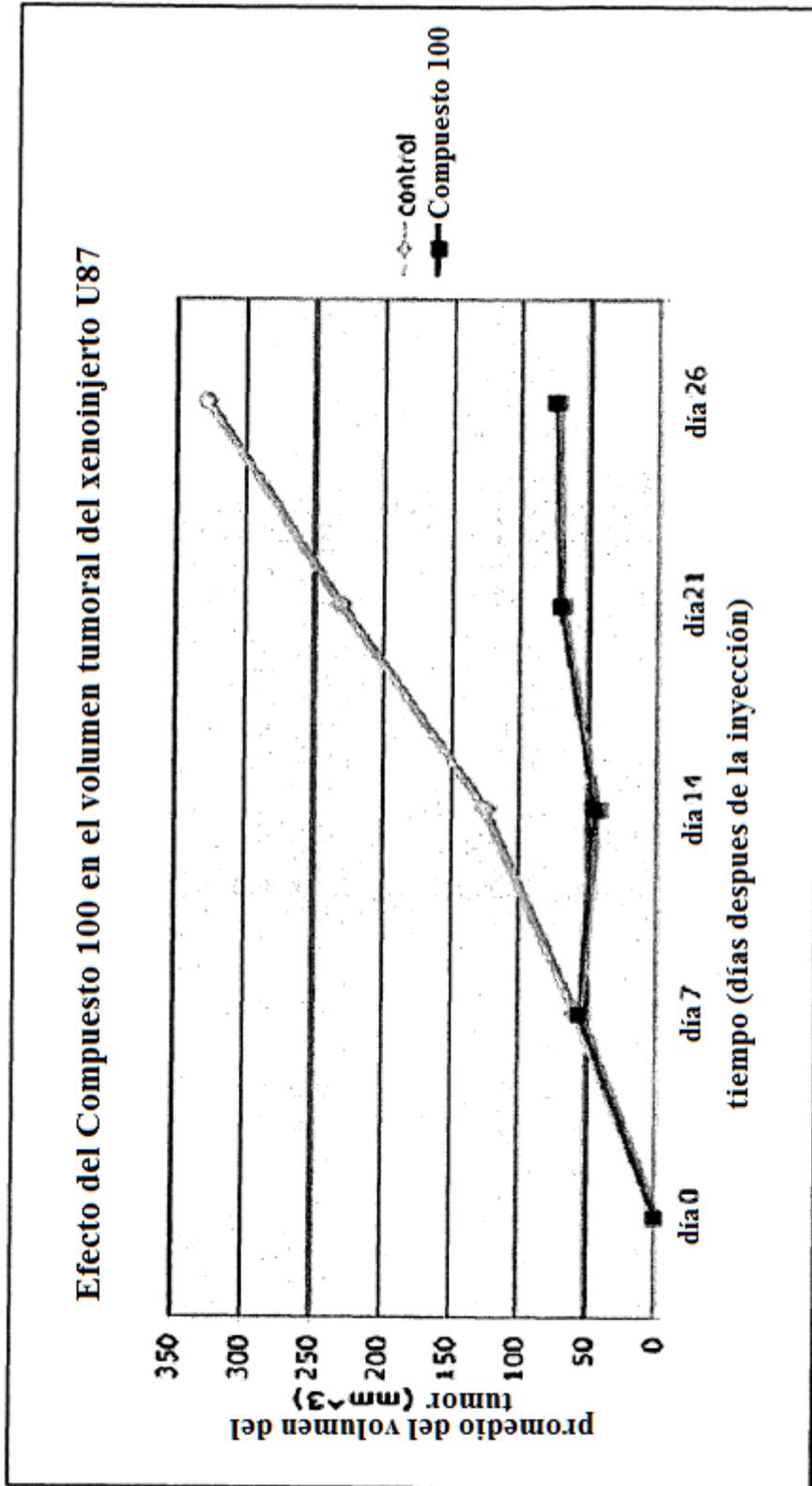


Fig. 18

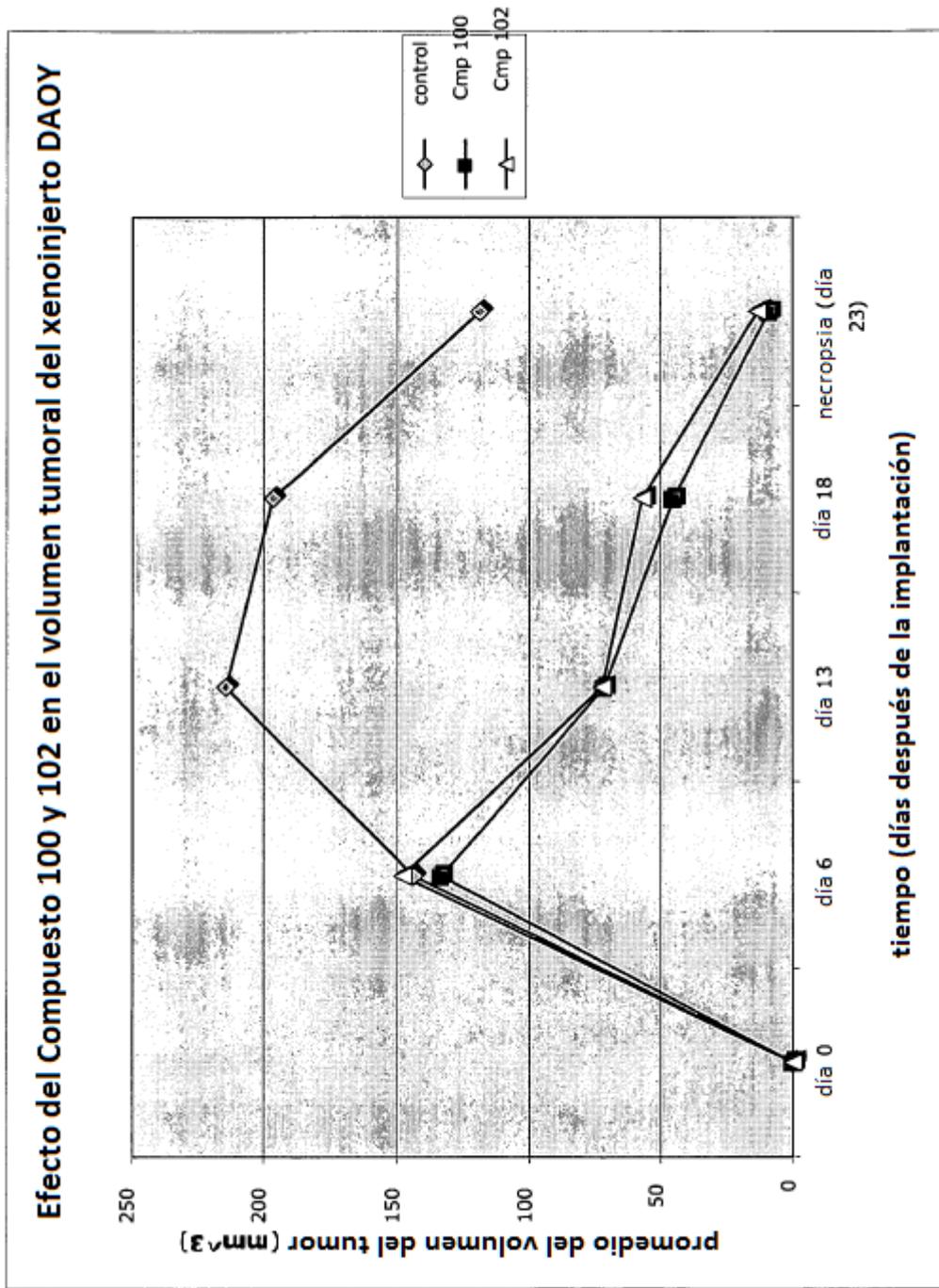


Fig. 19A

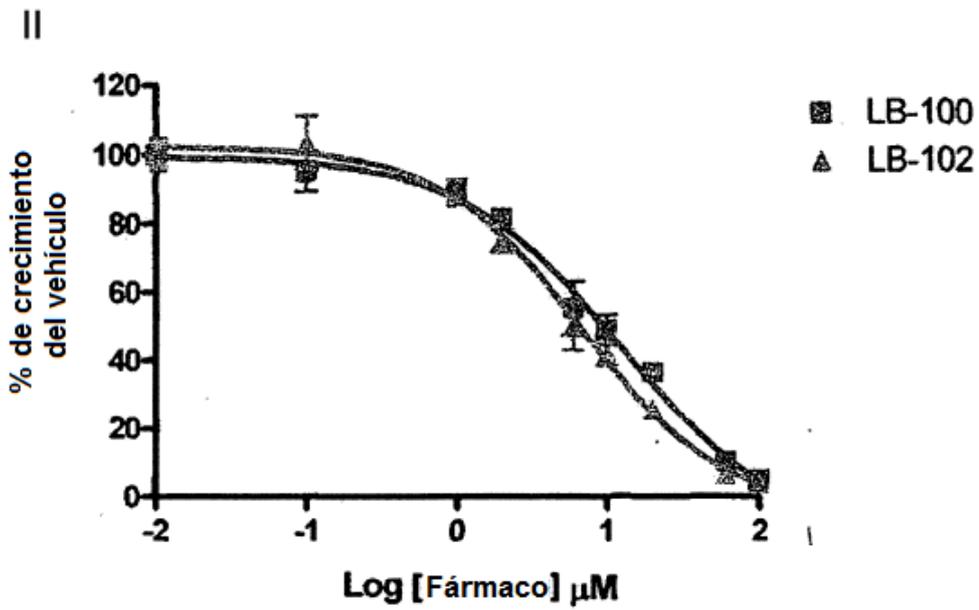
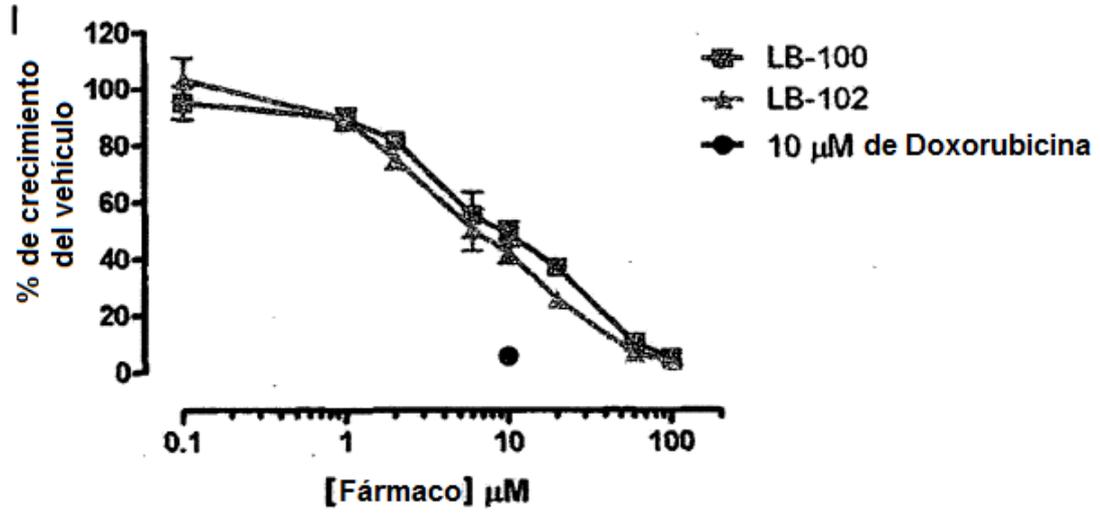


Fig. 19B

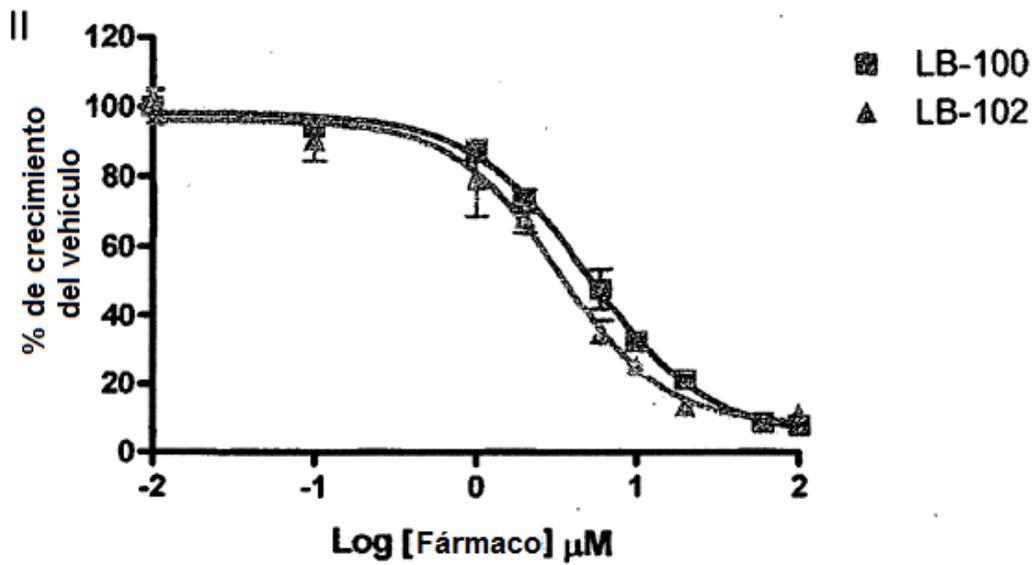
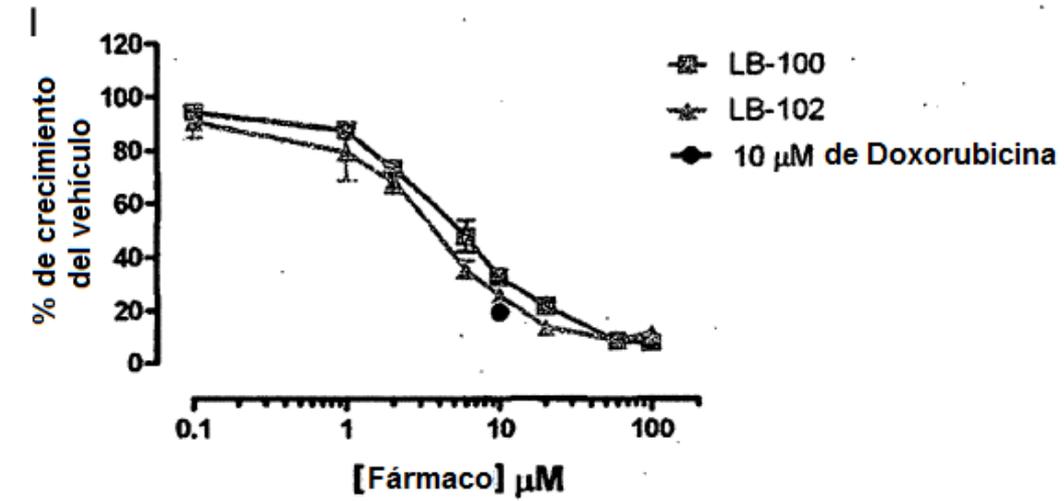


Fig. 19C

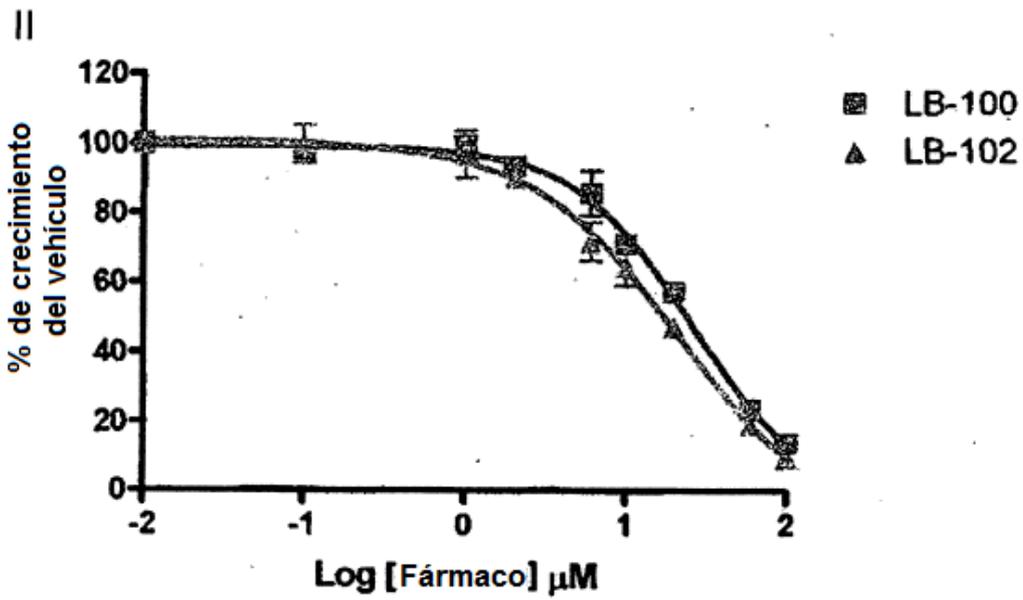
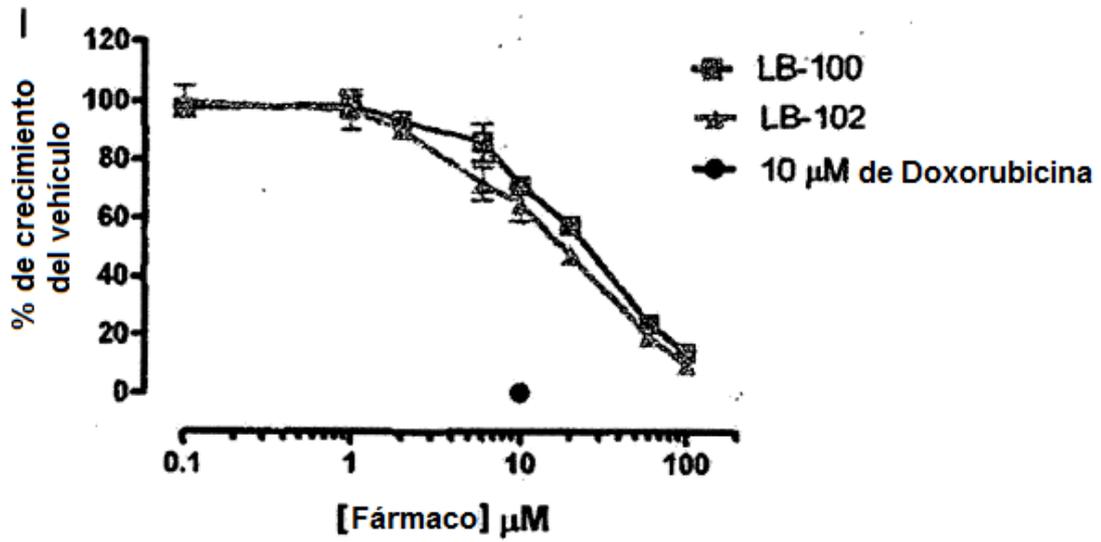


Fig. 19D

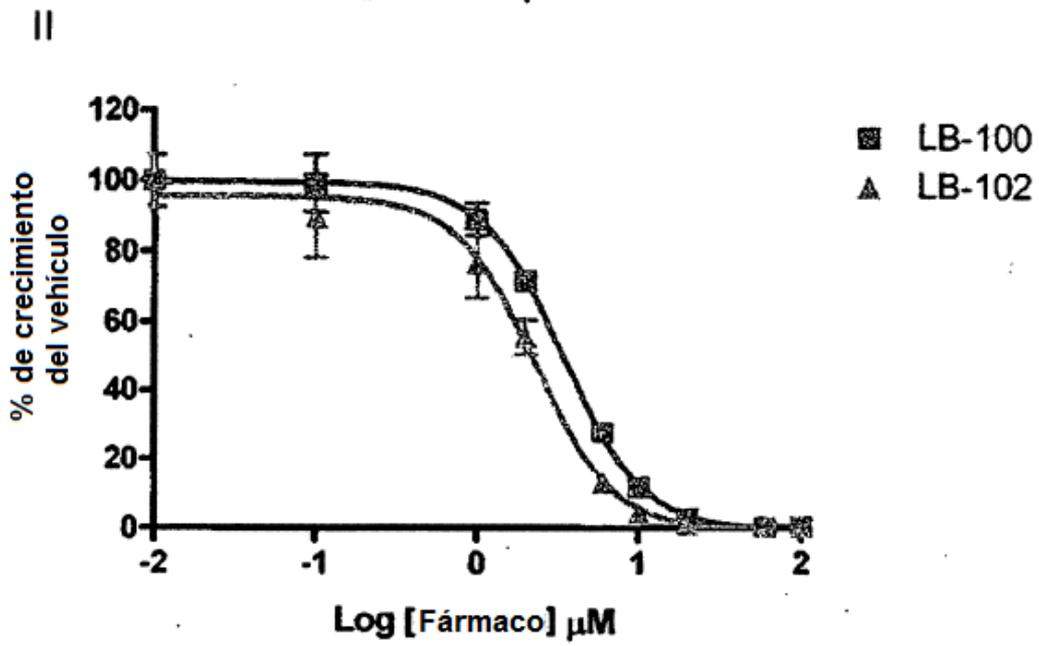
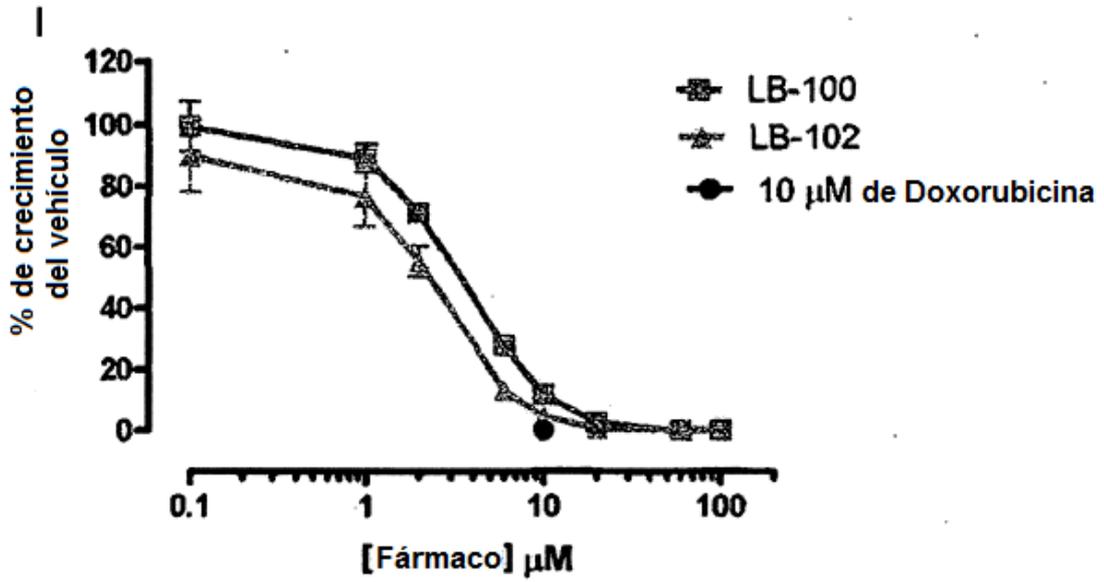
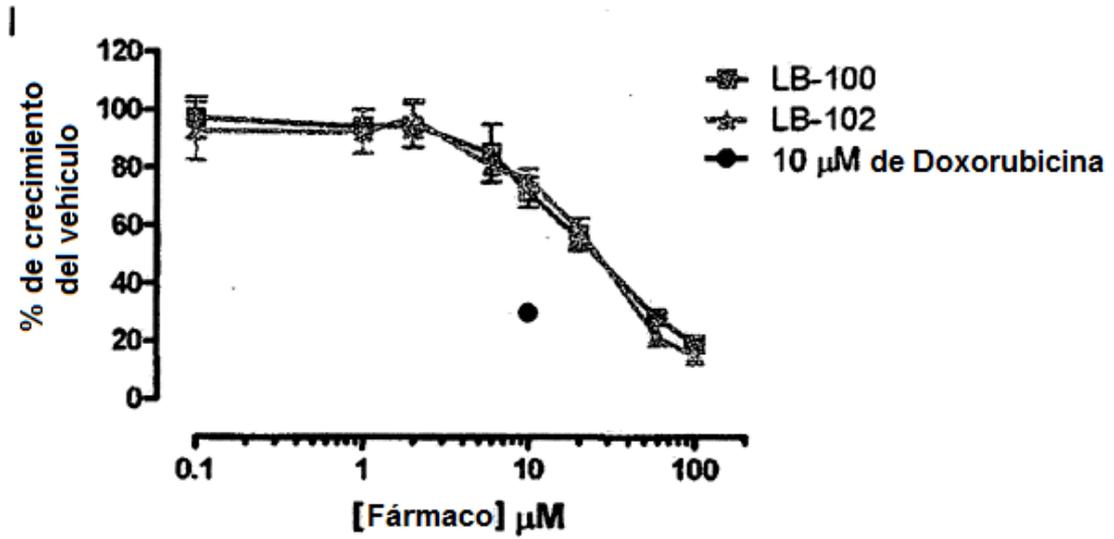


Fig. 19E



II

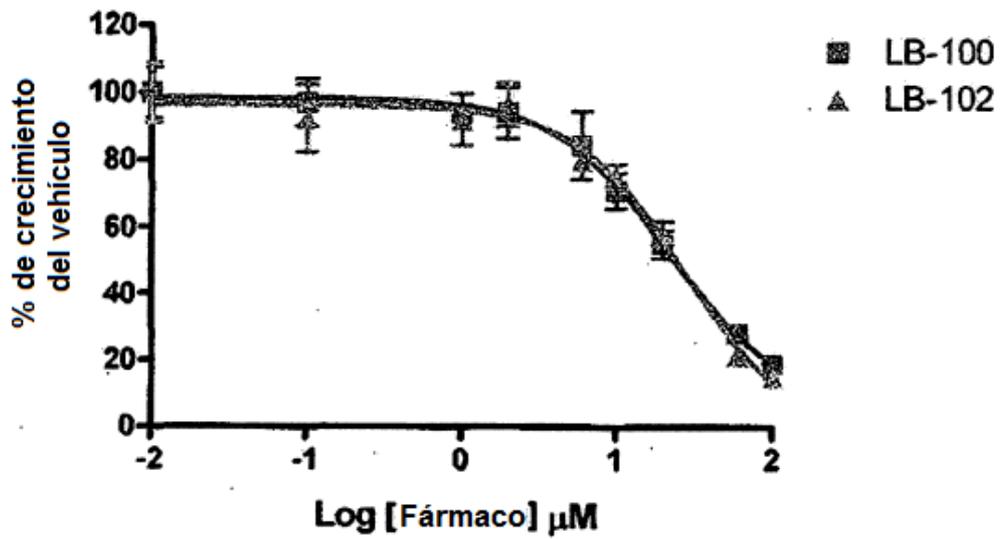


Fig. 19F

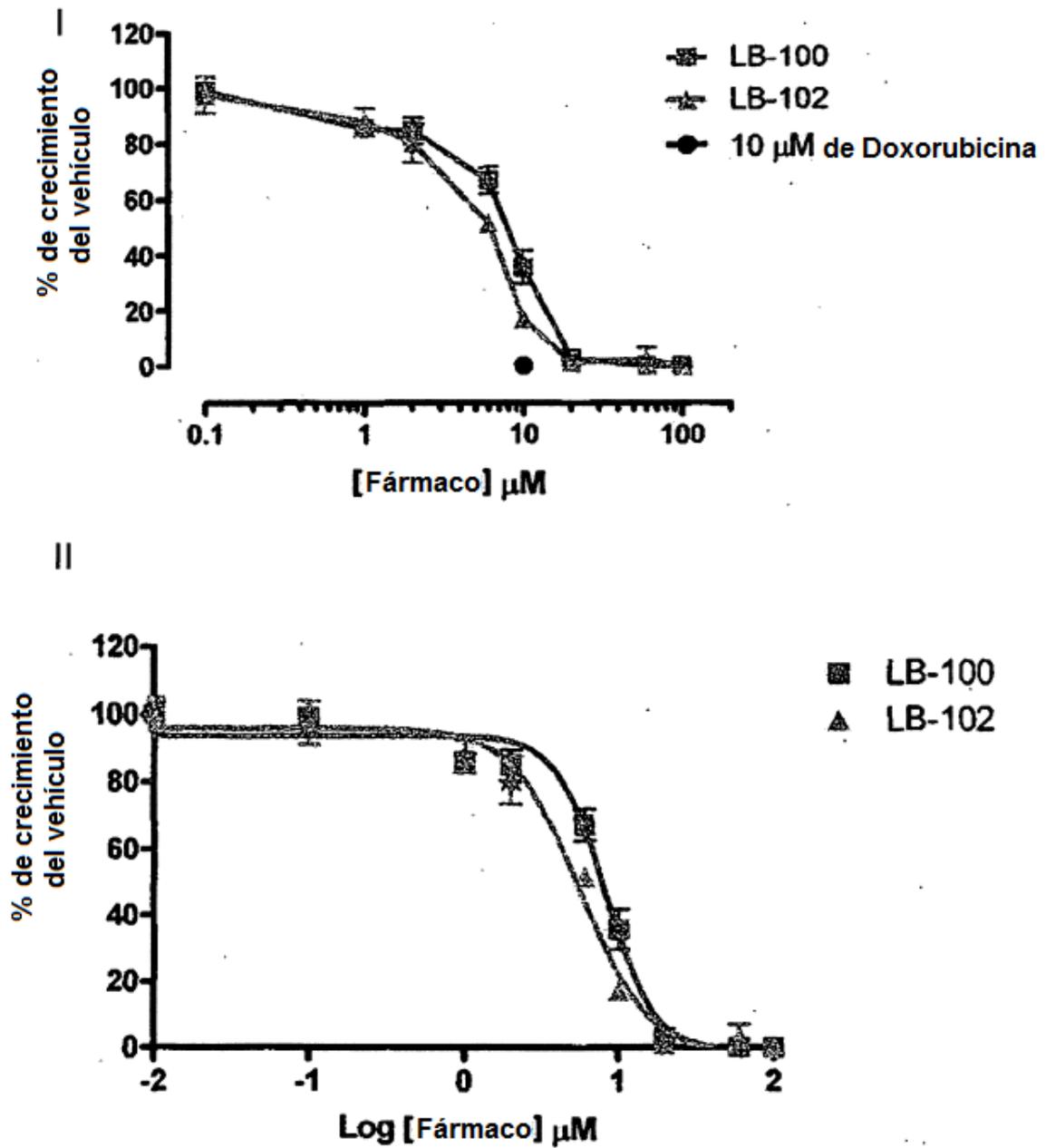


Fig. 19G

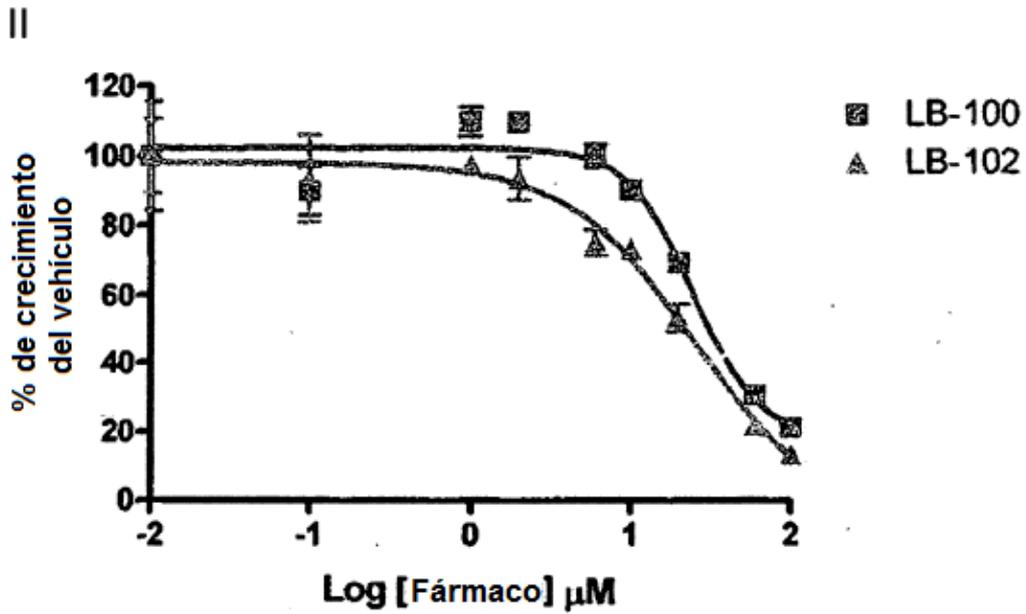
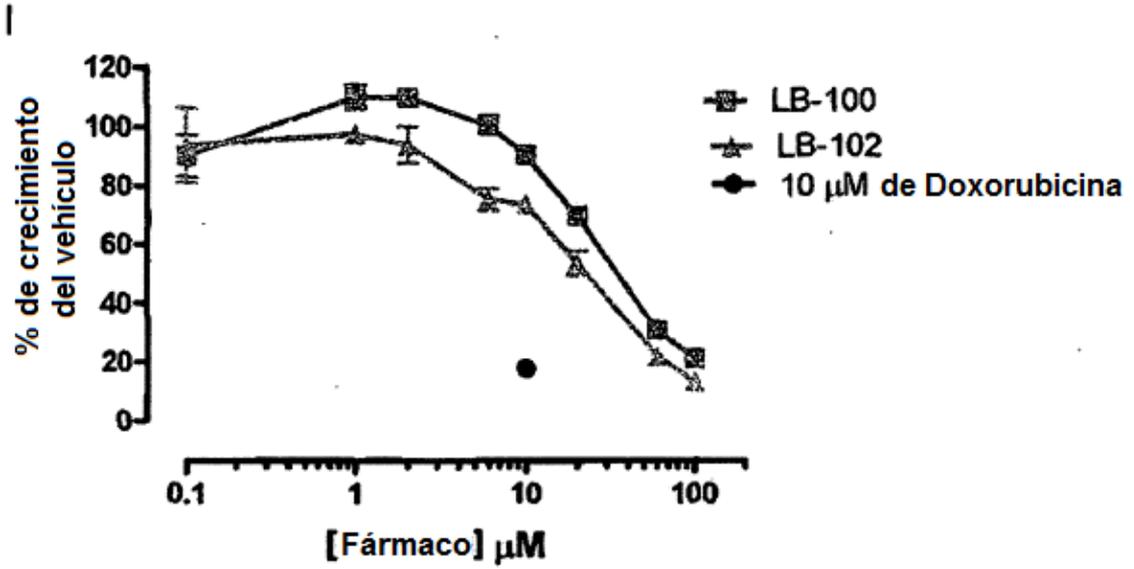


Fig. 19H

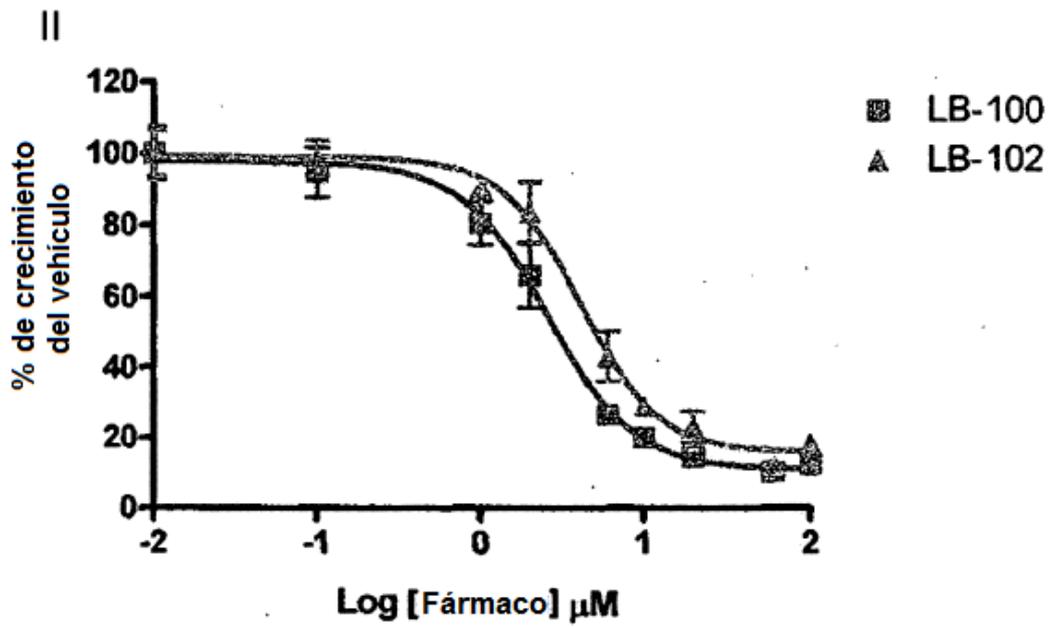
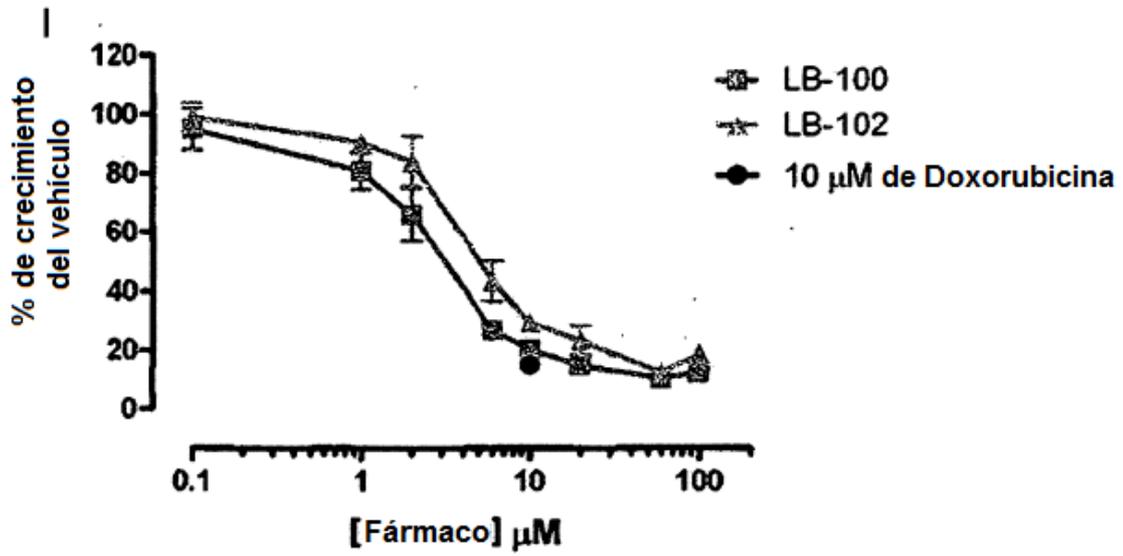


Fig. 19I

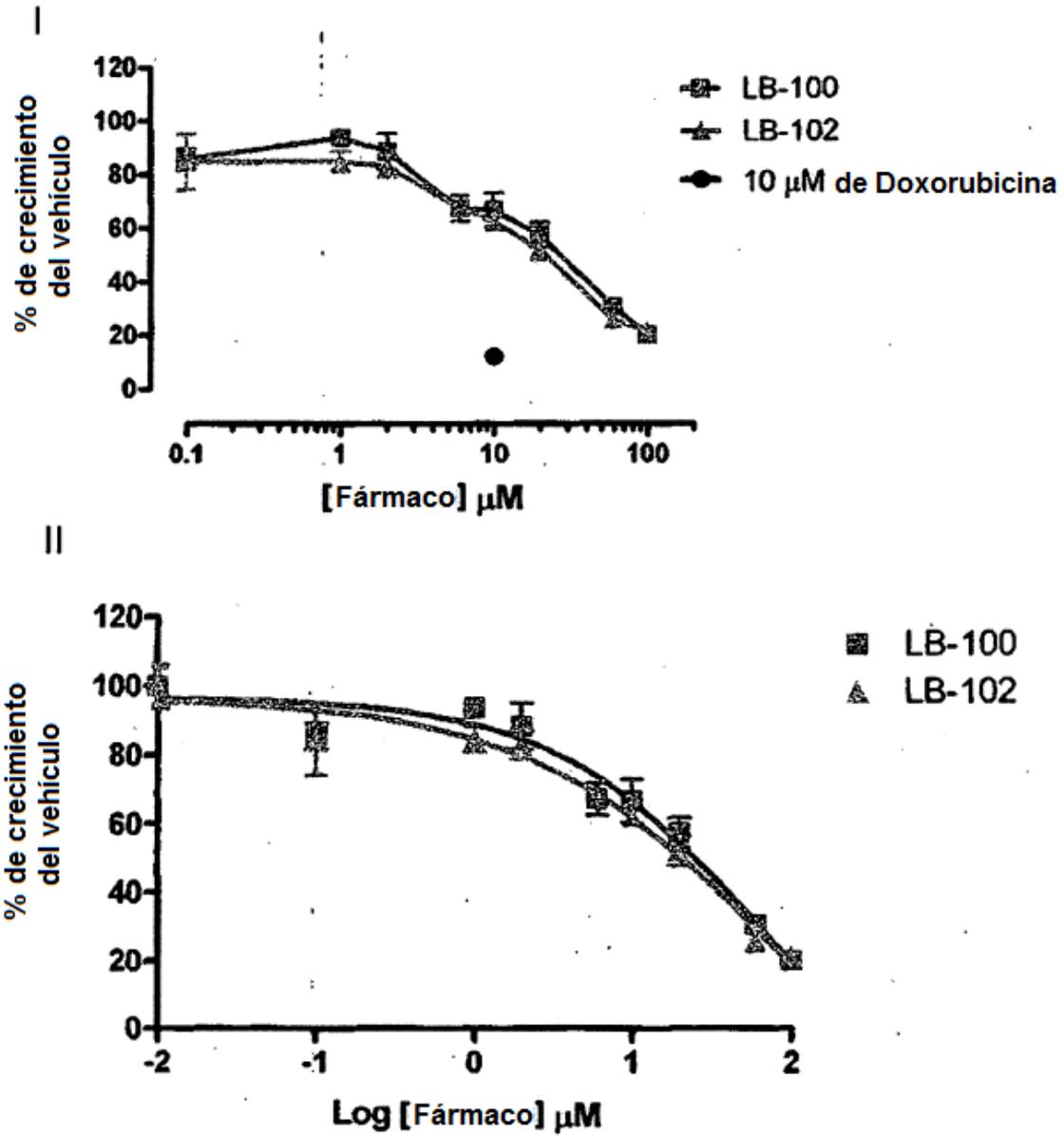


Fig. 19J

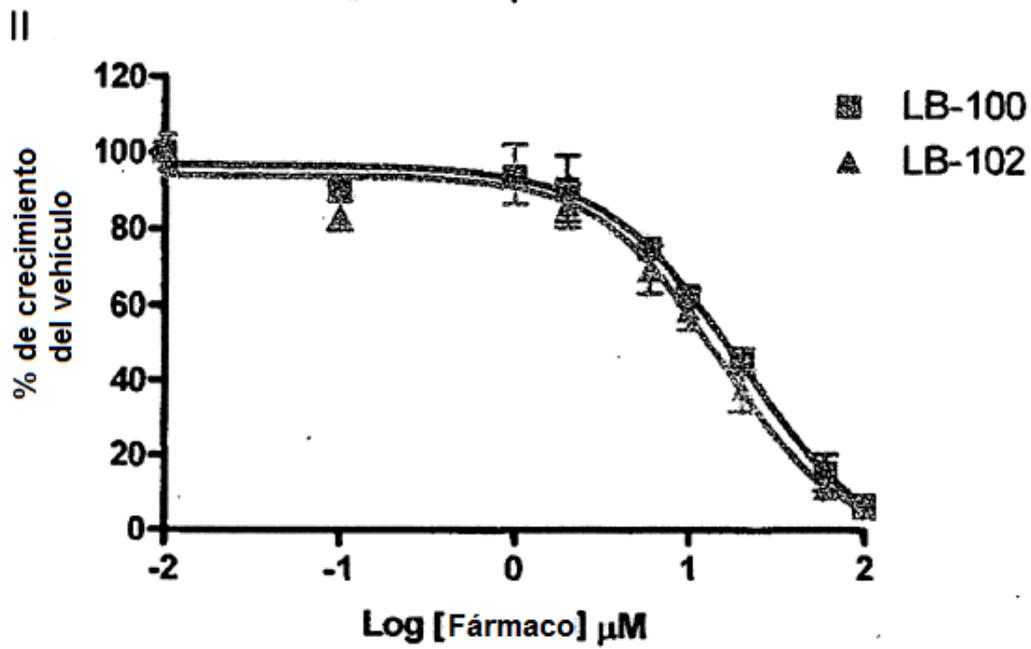
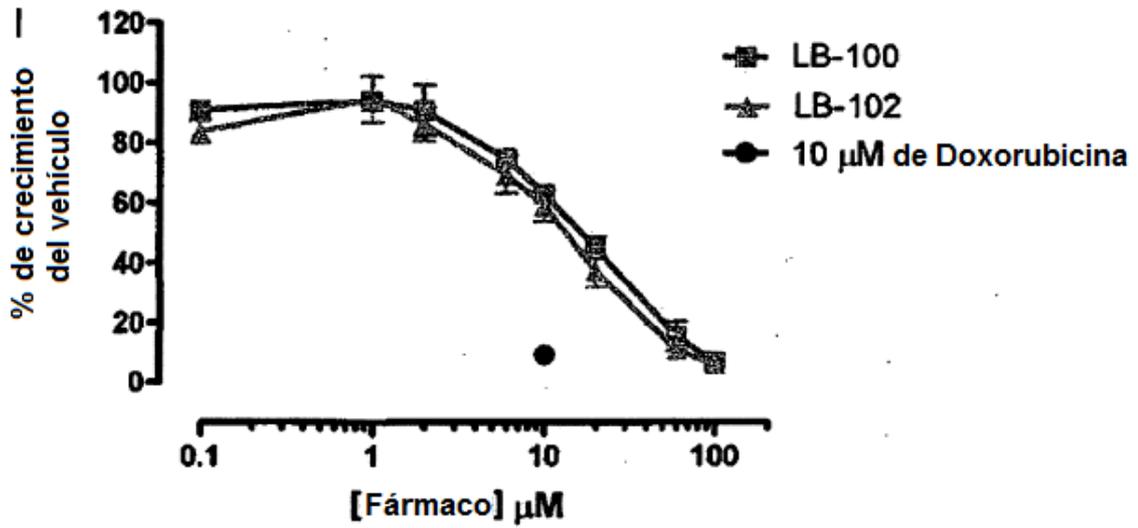


Fig. 19K

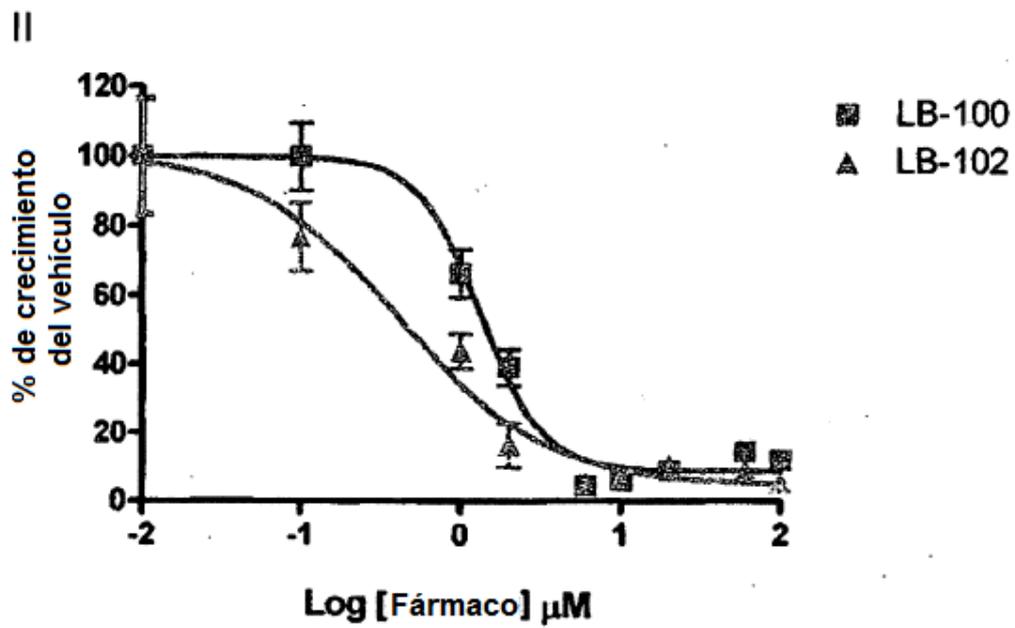
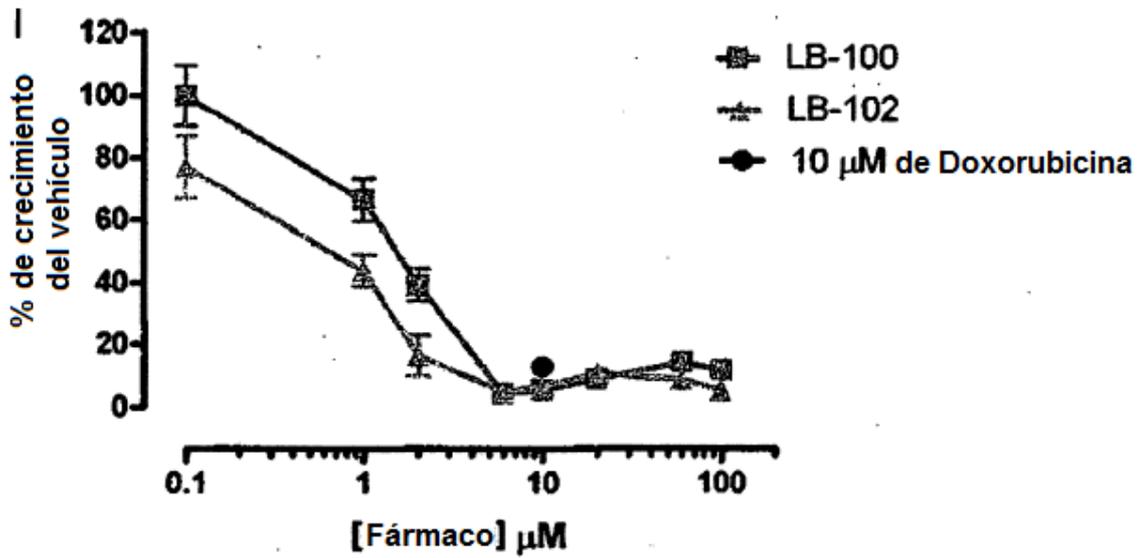


Fig. 19L

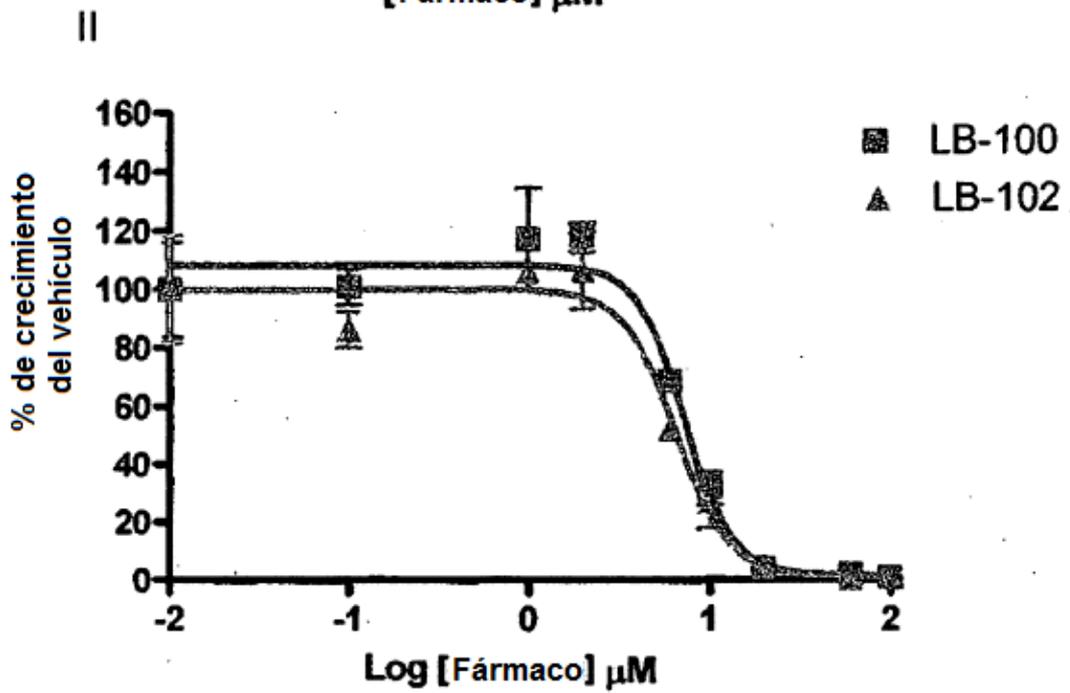
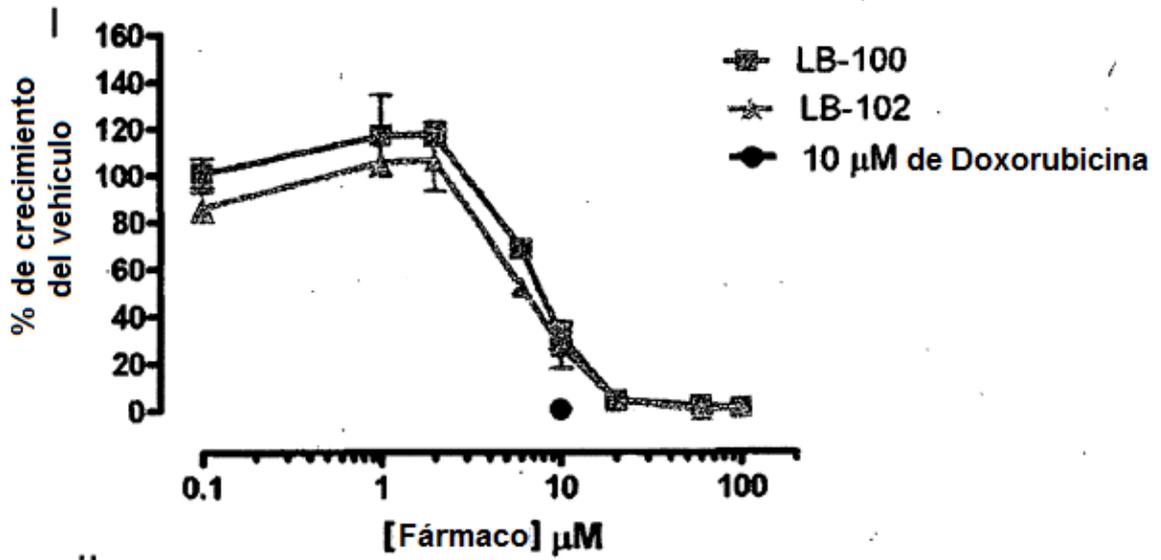


Fig. 19M

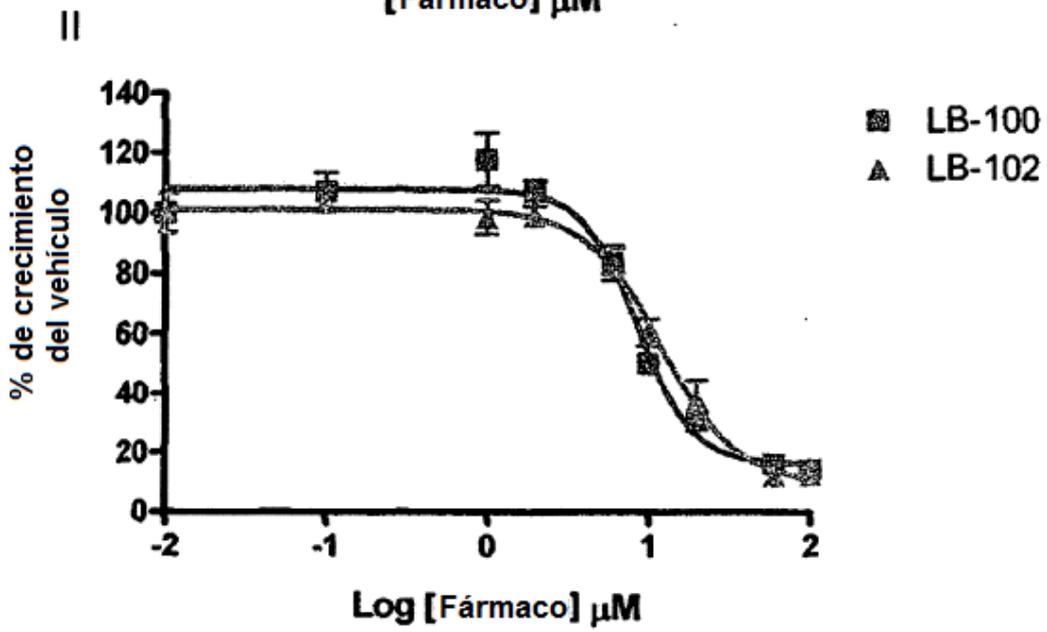
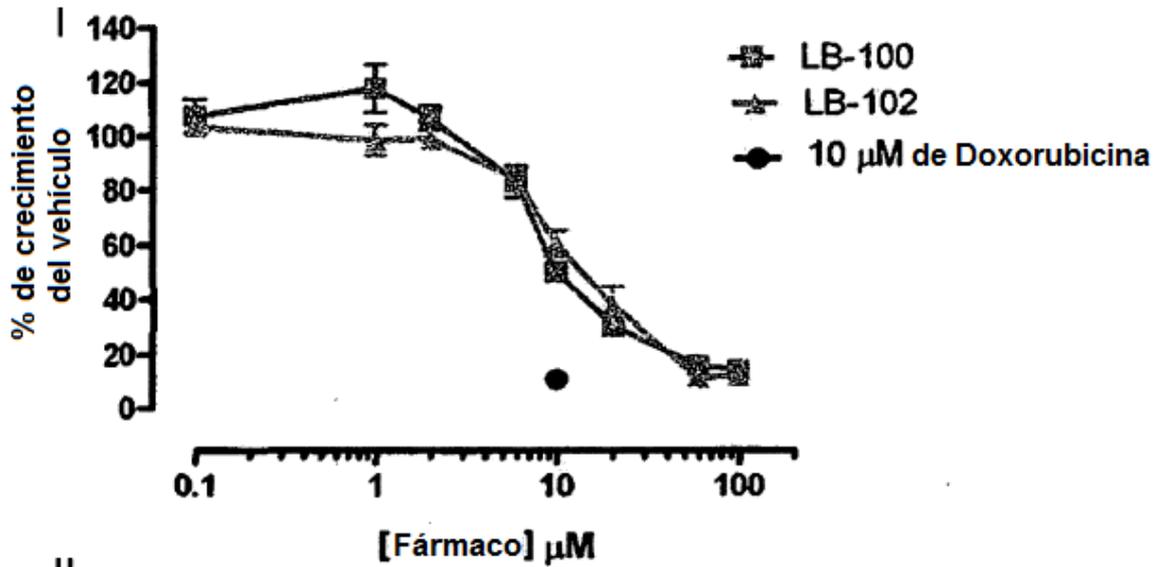


Fig. 19N

