

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 541**

51 Int. Cl.:

A01N 43/16 (2006.01)

A61K 31/35 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.03.2011 PCT/US2011/029281**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.09.2011 WO11116398**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2011 E 11757134 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2017 EP 2547334**

54 Título: **Compuestos y composiciones novedosas para direccionar hacia células madre del cáncer**

30 Prioridad:

19.03.2010 US 315890 P

19.04.2010 US 325814 P

19.03.2010 US 315886 P

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

16.03.2018

73 Titular/es:

**1GLOBE BIOMEDICAL CO., LTD. (100.0%)
8F, Block B, Techart Plaza, No.30 Xueyuan Road,
Haidan District
Beijing 100083, CN**

72 Inventor/es:

**LI, CHIANG, JIA;
LEGGETT, DAVID;
LI, YOUZHI y
LI, WEI**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 659 541 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

Compuestos y composiciones novedosas para direccionar hacia células madre del cáncer

Solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/315,886, presentada el 19 de marzo de 2010; Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/315,890, presentada el 19 de marzo de 2010 y Solicitud Provisional de los Estados Unidos No. 61/325,814, presentada el 19 de abril de 2010.

Esta invención está limitada al asunto objeto definido en las reivindicaciones; la siguiente descripción está sujeta a esta limitación.

Campo de la invención

10 La invención proporciona compuestos de naftofurano, polimorfos de compuestos de naftofurano, compuestos de naftofurano en forma de partículas, composiciones purificadas que contienen uno o más compuestos de naftofurano, composiciones purificadas que contienen uno o más compuestos de naftofurano en forma de partículas, métodos para producir estos compuestos de naftofurano, polimorfos, composiciones y/o formas de partículas purificadas, y métodos para usar estos compuestos de naftofurano, polimorfos, composiciones y/o formas de partículas purificadas para tratar
15 sujetos que lo necesitan.

Antecedentes de la invención

20 Las muertes por cáncer solo en los Estados Unidos ascienden a los cientos de miles cada año. A pesar de los avances en el tratamiento de ciertas formas de cáncer a través de cirugía, radioterapia y quimioterapia, muchos tipos de cáncer son esencialmente incurables. Incluso cuando un tratamiento efectivo está disponible para un cáncer en particular, los efectos colaterales de tal tratamiento pueden ser graves y dar como resultado una disminución significativa de la calidad de vida.

25 La mayoría de los agentes de quimioterapia convencionales tienen toxicidad y eficacia limitada, particularmente en pacientes con tumores sólidos avanzados. Los agentes quimioterapéuticos causan daño a las células cancerosas y no cancerosas. El índice terapéutico de tales compuestos (una medida de la capacidad de la terapia para discriminar entre células cancerosas y normales) puede ser bastante bajo. Con frecuencia, una dosis de un fármaco de quimioterapia que es efectiva para matar células cancerosas también matará células normales, especialmente aquellas células normales (tales como células epiteliales) que se someten a una división celular frecuente. Cuando las células normales se ven afectadas por la terapia, pueden ocurrir efectos colaterales tales como pérdida de cabello, supresión de la hematopoyesis y náuseas. Dependiendo de la salud general de un paciente, tales efectos colaterales
30 pueden impedir la administración de quimioterapia o, al menos, ser extremadamente desagradable e incómodo para el paciente y disminuir severamente la calidad de la vida restante de los pacientes con cáncer. Incluso para pacientes con cáncer que responden a la quimioterapia con regresión tumoral, tal respuesta tumoral frecuentemente no se acompaña de la prolongación de la supervivencia libre de progresión (PFS) o la prolongación de la supervivencia general (OS). Como cuestión de hecho, el cáncer frecuentemente progresa rápidamente y forma más metástasis
35 después de la respuesta inicial a la quimioterapia. Tales cánceres recurrentes se vuelven altamente resistentes o refractarios a los agentes quimioterapéuticos. Tal recurrencia rápida y capacidad de refracción, después de la quimioterapia, se consideran causadas por las células madre del cáncer.

40 Estudios recientes han descubierto la presencia de células madre cancerígenas (CSC, también llamadas células iniciadoras de tumores o células tipo madre de cáncer) que tienen capacidad de autorrenovación y se consideran fundamentalmente responsables del crecimiento maligno, la recaída y la metástasis. Es importante destacar que los CSC son inherentemente resistentes a las terapias convencionales. Por lo tanto, un agente dirigido con actividad contra las células madre del cáncer tiene una gran promesa para los pacientes con cáncer (J Clin Oncol. 2008 10 de junio; 26 (17)). Por lo tanto, las quimioterapias convencionales pueden matar la mayor parte de las células cancerosas, pero dejan atrás las células madre del cáncer. Las células madre del cáncer pueden crecer más rápido después de la
45 reducción de las células cancerosas normales no provenientes del tallo mediante la quimioterapia, lo que se considera el mecanismo para la recaída rápida después de las quimioterapias.

50 STAT3 es un oncógeno que se activa en respuesta a citoquinas y/o factores de crecimiento para promover la proliferación, supervivencia y otros procesos biológicos. El STAT3 se activa por fosforilación de un residuo de tirosina crítico mediado por tirosina quinasas receptoras del factor de crecimiento, Janus quinasas o las quinasas de la familia Src. Tras la fosforilación de tirosina, STAT3 forma homodímeros y se transloca al núcleo, se une a elementos específicos de respuesta de ADN en promotores del gen diana e induce la expresión génica. STAT3 activa genes implicados en tumorigénesis, invasión y metástasis, que incluyen Bcl-xl, Akt, c-Myc, ciclina D1, VEGF y survivina. STAT3 es aberrantemente activo en una amplia variedad de cánceres humanos, incluidos todos los carcinomas

principales, así como algunos tumores hematológicos. El STAT3 persistentemente activo ocurre en más de la mitad de los cánceres de mama y pulmón, cánceres colorrectales, cánceres de ovario, carcinomas hepatocelulares y mielomas múltiples, etc.; y más del 95% de los cánceres de cabeza/cuello. STAT3 se considera uno de los principales mecanismos para la resistencia a los fármacos de las células cancerosas. Sin embargo, STAT3 ha demostrado ser un objetivo difícil para descubrir inhibidores farmacéuticos. Hasta el momento, no se ha identificado ningún inhibidor directo de STAT3 con potencia clínicamente relevante después de décadas de esfuerzos en la industria.

En consecuencia, existe una necesidad de descubrir compuestos y composiciones farmacéuticas para direccionar selectivamente hacia células cancerosas, para direccionar hacia células madre de cáncer, y para inhibir STAT3, y métodos para preparar estos compuestos y composiciones farmacéuticas para aplicaciones clínicas.

El documento WO 2009/036099 se refiere al uso de inhibidores de la ruta de STAT-3 tales como nafto[2,3-b]furan-4,9-diona y compuestos relacionados, incluido 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9 diona, para apuntar a las células madre del cáncer y para tratar las enfermedades malignas.

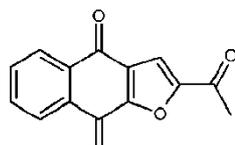
El documento WO 2004/026253 se refiere a derivados de lapacho sintéticos y sus usos para el tratamiento o prevención de trastornos de proliferación celular.

Resumen

La invención proporciona compuestos de naftofurano, polimorfos de compuestos de naftofurano, composiciones purificadas que contienen uno o más compuestos de naftofurano y compuestos de naftofurano en forma de partículas. Estos compuestos de naftofurano (incluidos los que están en forma de partículas), polimorfos y composiciones purificadas son inhibidores selectivos de células madre cancerosas y de STAT3. Los documentos WO 2009/036099 y WO 2009/036101 divulgan que los compuestos de naftofurano se dirigen a las células madre cancerosas. También inhibe las células cancerosas no madre a través de la inhibición de STAT3. Esos compuestos son capaces de matar muchos tipos diferentes de células cancerosas, sin causar daño a las células normales bajo ciertas condiciones de exposición. Por lo tanto, los compuestos pueden usarse para el tratamiento del cáncer, especialmente para el tratamiento y la prevención de cánceres metastásicos, recurrentes, refractarios o cánceres que expresan STAT3. Las publicaciones también describen los procedimientos para preparar compuestos de naftofurano, derivados e intermedios de los mismos, y la composición farmacéutica de compuestos relevantes.

Estos compuestos de naftofurano (incluyendo aquellos en forma de partícula), polimorfos y composiciones purificadas descritos en este documento son útiles en una variedad de indicaciones, que incluyen, por ejemplo, tratar, retrasar la progresión de, prevenir una recaída de, o aliviar un síntoma de un trastorno de proliferación celular. Por ejemplo, el compuesto de naftofuranos (incluidos los que están en forma de partículas), polimorfos y composiciones purificadas son útiles para tratar, retrasar la progresión de, prevenir una recaída de, aliviar un síntoma de, o de otra manera mejorar un cáncer.

En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano es un polimorfo del compuesto que se muestra a continuación, denominado en este documento "Compuesto 1",



O

(1)

En particular, la presente invención proporciona una forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en picos al menos aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0 grados 2θ y en donde la forma cristalina está en forma de partículas, teniendo las partículas un diámetro de menos de aproximadamente 150 μm.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. El análisis de difracción en polvo de rayos X mostrado en la Figura 1 se realizó usando un difractómetro Philips PW1800 usando radiación de Cu a 40 KV/30 mA en el rango de 5° a 70° Con un tamaño de etapa de 0.03 ° y un tiempo de recuento de 3 horas. El análisis se realizó a partir de 2-45° 2-theta usando las siguientes condiciones: hendidura de divergencia: 0,6 mm, hendidura antidispersión: 0,6 mm, hendidura de recepción: 0,1 mm, hendidura del detector: 0,6 mm, tamaño de la etapa: 0,02°, tiempo de etapa: 5 segundos. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al

expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3. El análisis de difracción en polvo de rayos X que se muestra en las Figuras 2 y 3 se realizó usando un difractómetro Bruker D8 Advance. El análisis se realizó a partir de 2-45° 2-theta usando las siguientes condiciones: hendidura de divergencia: 0,6 mm, hendidura antidispersión: 0,6 mm, hendidura de recepción: 0,1 mm, hendidura del detector: 0,6 mm, tamaño de la etapa: 0,02°, tiempo de etapa: 5 segundos.

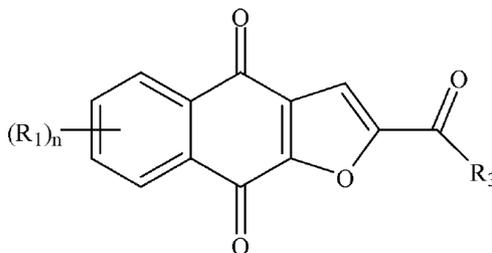
Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ, y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

La presente invención también proporciona compuestos de naftofurano en forma de partículas. Por ejemplo, el compuesto de naftofurano en forma de partículas es una partícula de un compuesto de Fórmula I que se muestra a continuación, que es activo, es decir, tiene una eficacia y/o una actividad antitumoral in vivo. La partícula o partículas eficaces tienen un requisito definido para el tamaño de partícula, por ejemplo, tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 200 μm, aproximadamente 150 μm, aproximadamente 100 μm, aproximadamente 40 μm, o

aproximadamente 20 μm , aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , o aproximadamente 0.2 μm . La partícula o partículas que son más grandes que el tamaño de partícula definido son ya sea inactivas o menos activas.

- 5 En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano en forma de partícula es una partícula de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal o solvato del mismo,



Fórmula I

- 10 en donde la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 200 μm ; en donde cada (R_1) se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, nitro, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido, OR_a , SR_a , y NH_2 ; en donde n es 4; en donde R_3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquilo sustituido con halógeno, alquilo sustituido con hidroxilo, alquilo sustituido con amina, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido, OR_a , SR_a , y NR_bR_c ; en donde R_a es/son independientemente seleccionados del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido; y en donde R_b y R_c se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido, o R_b y R_c junto con el N al que están unidos forman un heterociclo o heterociclo sustituido.

- 25 En algunas realizaciones, cada (R_1) se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl, Br, I, OH, y NH_2 ; R_3 se selecciona del grupo que consiste en metilo y $\text{C}(\text{R}_8)_3$, y cada (R_8) se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl, Br, I, OH, y NH_2 . En algunas realizaciones, como máximo dos de (R_1) y (R_8) son F (flúor) siendo el resto hidrógeno. En algunas realizaciones, R_3 es metilo. En una realización adicional, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo.

- 30 En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano en forma de partícula es una partícula del Compuesto 1.

- 35 En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano en forma de partícula es una partícula de un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3.

- 40 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo

es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 120 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 50 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm . En una realización adicional, la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , aproximadamente 0.2 μm , o aproximadamente 0.1 μm .

La presente invención proporciona una partícula o partículas de un compuesto de naftofurano, por ejemplo, un compuesto de Fórmula I, que son activos, es decir, tienen una eficacia y/o una actividad antitumoral. La partícula o partículas activas tienen cierto tamaño, por ejemplo, tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 200 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm , aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , aproximadamente 0.2 μm , o aproximadamente 0.1 μm . La partícula o partículas que son más grandes que el tamaño determinado son inactivas o menos activas que las partículas descritas aquí.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, una composición farmacéutica incluye partículas de un compuesto, por ejemplo, un naftofurano, de acuerdo con la Fórmula I o una sal o solvato del mismo. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una composición farmacéutica incluye partículas del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, una composición farmacéutica incluye partículas de un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un

patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3.

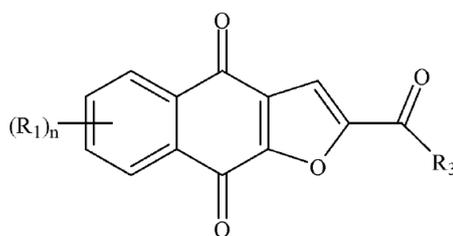
Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Una fracción del total acumulado de las partículas puede tener un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 200 μm . En algunas realizaciones, una fracción de un conjunto de partículas puede ser al menos aproximadamente 1%, al menos aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, o al menos aproximadamente 30% del número total de partículas en el conjunto. En algunas realizaciones, la fracción es una fracción sustancial. Por ejemplo, una "fracción sustancial" de un conjunto de partículas puede ser al menos aproximadamente 99%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 90%, al menos

aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 60%, o al menos aproximadamente 50% del número total de partículas en el conjunto. Cada (R_1) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, nitro, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido, OR_a , SR_a , y NH_2 . n puede ser un entero positivo; por ejemplo, n puede ser 4. R_3 se puede seleccionar del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquilo sustituido con halógeno, alquilo sustituido con hidroxilo, alquilo sustituido con amina, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido, OR_a , SR_a , y NR_bR_c . El R_a se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido. R_b y R_c se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido, o R_b y R_c junto con el N al que están unidos forman un heterociclo o heterociclo sustituido.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, cada (R_1) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl, Br, I, OH, y NH_2 . R_3 se puede seleccionar del grupo que consiste en metilo y $C(R_8)_3$. Cada (R_8) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl, Br, I, OH, y NH_2 . En algunas realizaciones, como máximo dos de (R_1) y R_8 puede ser F (flúor) siendo el resto hidrógeno.



Fórmula I

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, y 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona. En algunas realizaciones, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I es el Compuesto 1. En algunas realizaciones, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I es un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-

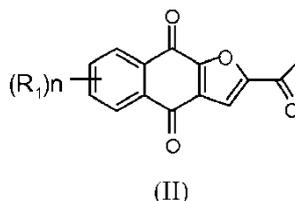
5 b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

10 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

35 Por ejemplo, la composición farmacéutica puede tener al menos aproximadamente 90% del total acumulado de partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , o 2 μm . Por ejemplo, la composición farmacéutica puede tener al menos aproximadamente 50% del total acumulado de partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , o 0.5 μm . Por ejemplo, la composición farmacéutica puede tener al menos aproximadamente 10% del total acumulado de las partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 5 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm , o 0.1 μm . En la composición farmacéutica, las partículas pueden tener un diámetro medio de, por ejemplo, menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 4 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm , 0.3 μm , o 0.2 μm . Por ejemplo, las partículas pueden tener un diámetro medio de aproximadamente 0.2 μm a aproximadamente 50 μm , o un diámetro medio desde aproximadamente 0.5 μm a aproximadamente 30 μm . Por ejemplo, la composición farmacéutica puede tener el total acumulado de partículas que tienen una relación de diámetro medio sobre diámetro medio de como máximo aproximadamente 2 μm . La invención farmacéutica puede tener partículas que incluyen el compuesto en un estado cristalino, en al menos dos estados polimorfos diferentes.

40 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica incluye un compuesto de Fórmula I o un polimorfo de la misma en forma de partículas, donde la partícula o partículas son menos de 20 micrones, 10 micrones, 5 micrones, 2 micrones, 1 micrón o 0.5 micrones.

50 La presente invención proporciona un compuesto sustancialmente puro de Fórmula II,



en donde cada R_1 es independientemente H, Cl, o F; y n es 0, 1, 2, 3, o 4. En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula II está en forma de partículas.

En algunas realizaciones, el compuesto sustancialmente puro es el Compuesto 1. En algunas realizaciones, el Compuesto 1 está en forma de partículas.

5 En algunas realizaciones, el compuesto sustancialmente puro se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo.

10 En algunas realizaciones, el compuesto sustancialmente puro es un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3.

15 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

40 Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a

aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

5 En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 está en forma de partículas.

En algunas realizaciones, el compuesto, producto y o composición farmacéutica tiene una pureza de al menos aproximadamente 80%, aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o aproximadamente 99%. En algunas realizaciones, el compuesto, producto y o composición farmacéutica tiene una pureza de al menos aproximadamente 95.5%, aproximadamente 96%, aproximadamente 96.5%, aproximadamente 97%,
10 aproximadamente 97.5%, aproximadamente 98%, aproximadamente 98.5%, aproximadamente 99%, o aproximadamente 99.5%. En algunas realizaciones, el compuesto, producto y o composición farmacéutica tiene una pureza de al menos aproximadamente 99.1%, aproximadamente 99.2%, aproximadamente 99.3%, aproximadamente 99.4%, aproximadamente 99.5%, aproximadamente 99.6%, aproximadamente 99.7%, aproximadamente 99.8%, o aproximadamente 99.9%.

15 En algunas realizaciones, el compuesto, producto y o composición farmacéutica tiene impurezas de como máximo aproximadamente 10%, aproximadamente 5%, aproximadamente 1%, aproximadamente 0.15%, o aproximadamente 0.5%. En algunas realizaciones, el compuesto, producto y o composición farmacéutica contiene, para cada impureza individual, como máximo aproximadamente 0.5%, aproximadamente 0.2%, aproximadamente 0.15%, o
20 aproximadamente 0.1%. En una realización adicional, las impurezas son una o más del grupo que consiste en 2-acetil-2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2,6-Diacetil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2,7-Diacetil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 3-Acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diol, y 1-(4,9-Dihidroxi-nafto[2,3-b]furan-2-il)-etanol.

En algunas realizaciones, las impurezas incluyen un solvente residual. En algunas realizaciones, el solvente se selecciona del grupo que consiste en acetato de etilo (EtOAc), tolueno, Etanol, metanol, cloroformo, y CH_2Cl_2 /hexano.

25 En algunas realizaciones, la pureza se determina con HPLC (Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento). En algunas realizaciones, la pureza se determina con RMN (Resonancia Magnética Nuclear). En una realización adicional, la pureza se determina tanto con HPLC como con RMN.

La invención también proporciona un polimorfo del Compuesto 1 en una forma de partícula, donde el compuesto está en una forma, producto y/o composición farmacéutica altamente purificada. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el
30 polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura
35 3.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que
40 incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo
45 es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico
50 al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al
55 menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a

aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

El polimorfo del Compuesto 1 está en una forma de partícula. En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 está en una forma de partícula, donde la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 120 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 50 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm . En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 en forma de partículas está en una población de partículas, donde la población de partículas tiene un D_{50} (es decir, el punto mediano de la distribución del tamaño de partícula que divide la distribución en dos partes iguales) de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 120 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 50 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm . En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 está en una forma de partícula, donde la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , aproximadamente 0.2 μm , o aproximadamente 0.1 μm . En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 en forma de partículas está en una población de partículas, donde la población de partículas tiene un D_{50} de menos de o igual a aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , o aproximadamente 0.2 μm .

La presente invención proporciona una partícula o una población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1, que están activas, es decir, tienen una eficacia y/o una actividad antitumoral. La partícula o partículas activas tienen cierto tamaño, por ejemplo, tiene un diámetro o D_{50} de menos de o igual a aproximadamente 200 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm , aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0.5 μm , o aproximadamente 0.2 μm . La partícula o partículas que son más grandes que el tamaño determinado son inactivas o menos activas que las partículas descritas aquí.

Una fracción del total acumulado de las partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener un diámetro o D_{50} de menos de o igual a aproximadamente 200 μm . En algunas realizaciones, una fracción de un conjunto de partículas puede ser al menos aproximadamente 1%, al menos aproximadamente 5%, al menos aproximadamente 10%, al menos aproximadamente 20%, o al menos aproximadamente 30% del número total de partículas en el conjunto. En algunas realizaciones, la fracción es una fracción sustancial. Por ejemplo, una "fracción sustancial" de un conjunto de partículas puede ser al menos aproximadamente 99%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 75%, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 60%, o al menos aproximadamente 50% del número total de partículas en el conjunto.

En algunas realizaciones, la población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener al menos aproximadamente 90% del total acumulado de partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , o 2 μm , 1 μm o 0.5 μm . Por ejemplo, la población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener al menos aproximadamente 50% del total acumulado de partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , o 0.5 μm . Por ejemplo, la población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener al menos aproximadamente 10% del total acumulado de las partículas que tienen un tamaño de partícula de menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 5 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm , o 0.1 μm . En la población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1, las partículas pueden tener un diámetro medio de, por ejemplo, menos de o igual a aproximadamente 160 μm , 40 μm , 20 μm , 10 μm , 5 μm , 4 μm , 3 μm , 2 μm , 1 μm , 0.5 μm o 0.2 μm . Por ejemplo, las partículas pueden tener un diámetro medio de aproximadamente 0.002 μm a aproximadamente 50 μm , o un diámetro medio desde aproximadamente 0.2 μm a aproximadamente 30 μm . Por ejemplo, la población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener el total acumulado de partículas que tienen una relación de diámetro medio sobre diámetro medio de como máximo aproximadamente 2. La población de partículas de un polimorfo del Compuesto 1 puede tener partículas que incluyen el compuesto en estado cristalino, en al menos dos estados polimorfos diferentes.

En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 está en una forma de partícula, donde la partícula tiene un diámetro de menos de o igual a aproximadamente 20 micrones, 10 micrones, 5 micrones o 2-3 micrones, 2 micrones, 1 micrón, 0.5 micrones, 0.2 micrones, o 0.1 micrón. En algunas realizaciones, el polimorfo del Compuesto 1 en forma de partículas está en una población de partículas, donde la población de partículas tiene un D_{50} de menos de o igual a aproximadamente 20 micrones, 10 micrones, 5 micrones, 4 micrones, 5 micrones, 3 micrones, 2 micrones, 1 micrón, 0.5 micrones o 0.2 micrones.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica, que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto de naftofurano sustancialmente puro y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. El excipiente puede incluir, por ejemplo, un éster de glicerol de un ácido graso, un éster de glicerol de un ácido graso saturado, un éster de glicerol de un ácido graso saturado que tiene de 8 a 18 carbonos, laurato de glicerilo, polietilenglicol, celulosa, celulosa microcristalina, carboximetilcelulosa, una fosfatidilcolina, un lípido, un esteroide, colesterol, un surfactante, un polisorbato y/o un alquilato de polioxietileno-sorbitán.

En algunas realizaciones de acuerdo con la invención, un ítem de fabricación puede incluir un recipiente que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un método para producir un compuesto, producto y/o composición farmacéutica de acuerdo con algunas realizaciones de la invención puede incluir moler el compuesto para formar las partículas. Por ejemplo, el compuesto puede ser molido con bolas, molido en rolo, molido a presión, molido en húmedo, molido ultrasónicamente, triturado o tratado con una combinación de estos y/u otros procedimientos de molienda. La temperatura del compuesto puede reducirse, por ejemplo, reducirse a una temperatura criogénica y molerse. Tal reducción de la temperatura puede hacer que el compuesto sea más quebradizo y más susceptible a la reducción del tamaño de partícula mediante molienda.

Un método para producir un compuesto, producto y/o composición farmacéutica de acuerdo con algunas realizaciones de la invención puede incluir cristalización. La distribución del tamaño de partícula (PSD) obtenida durante la cristalización está influenciada por una combinación de diversos mecanismos que ocurren durante la cristalización, tal como nucleación, crecimiento, agregación, atrición, rotura, etc. Cuando el tamaño de partícula no puede controlarse consistentemente durante la cristalización para cumplir especificaciones deseadas, se puede incluir una etapa de procesamiento adicional, tal como la molienda en seco.

Un método de acuerdo con la invención para tratar, retrasar la progresión de, prevenir una recaída, aliviar un síntoma de, o de otro modo mejorar un sujeto humano, mamífero o animal afectado con una neoplasia puede incluir administrar una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto, producto y/o composición farmacéutica, de modo que se produce actividad antineoplásica. Por ejemplo, la actividad antineoplásica puede ser actividad anticancerígena. Por ejemplo, la actividad antineoplásica puede incluir ralentizar el crecimiento volumétrico de la neoplasia, detener el crecimiento volumétrico de la neoplasia o disminuir el volumen de la neoplasia. La neoplasia puede incluir un tumor sólido, una neoplasia maligna, una célula metastásica, una célula madre cancerosa. La neoplasia puede incluir un carcinoma, un sarcoma, un adenocarcinoma, un linfoma o una neoplasia maligna hematológica. La neoplasia puede ser refractaria al tratamiento con quimioterapia, radioterapia y/o terapia hormonal. El compuesto, producto y/o composición farmacéutica se puede administrar para prevenir la recaída de la neoplasia. El compuesto, el producto y/o la composición farmacéutica pueden administrarse como una terapia adyuvante para la resección quirúrgica. El compuesto, producto y/o composición farmacéutica se puede administrar, por ejemplo, por vía oral y/o intravenosa.

Un método de acuerdo con la invención también incluye tratar, retrasar la progresión de, prevenir una recaída de, aliviar un síntoma de, o de otro modo mejorar una enfermedad o trastorno en un sujeto humano, mamífero o animal afectado con esa enfermedad o trastorno. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno se selecciona del grupo que consiste en una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, enfermedades inflamatorias del intestino,

artritis, desorden de desmielinización autoinmune, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, lesión por reperfusión de isquemia y esclerosis múltiple.

5 La administración de los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas a un paciente que padece una enfermedad o trastorno se considera exitosa si se logra cualquiera de una variedad de resultados de laboratorio o clínicos. Por ejemplo, la administración se considera exitosa si uno o más de los síntomas asociados con la enfermedad o trastorno se alivian, reducen, inhiben o no progresan a un estado adicional, es decir, peor. La administración se considera exitosa si el trastorno, por ejemplo, un trastorno autoinmune, entra en remisión o no progresa a un estado adicional, es decir, peor.

10 En algunas realizaciones, los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento se administran en combinación con cualquiera de una variedad de agentes terapéuticos conocidos, que incluyen, por ejemplo, agentes quimioterapéuticos y otros agentes antineoplásicos, compuestos antiinflamatorios y/o compuestos inmunosupresores. En algunas realizaciones, los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento son útiles junto con cualquiera de una variedad de tratamientos conocidos que incluyen, a modo de ejemplo no limitante, tratamientos y métodos quirúrgicos, terapia de radiación, quimioterapia y/o de hormonas. u otro tratamiento relacionado con el sistema endocrino

15 Estas "co-terapias" se pueden administrar de forma secuencial o concurrente. Los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento y la segunda terapia se pueden administrar a un sujeto, preferiblemente un sujeto humano, en la misma composición farmacéutica. Alternativamente, los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento y la segunda terapia pueden administrarse simultáneamente, por separado o secuencialmente a un sujeto en composiciones farmacéuticas separadas. Los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento y la segunda terapia se pueden administrar a un sujeto por la misma o diferentes vías de administración. En algunas realizaciones, las co-terapias de la invención comprenden una cantidad efectiva de los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritas aquí y una cantidad efectiva de al menos otra terapia (por ejemplo, agente profiláctico o terapéutico) que tiene un mecanismo diferente de acción que los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento. En algunas realizaciones, las co-terapias de la presente invención mejoran el efecto profiláctico o terapéutico de los compuestos, productos y/o composiciones farmacéuticas descritos en este documento y de la segunda terapia funcionando juntos para tener un efecto aditivo o sinérgico. En ciertas realizaciones, las co-terapias de la presente invención reducen los efectos colaterales asociados con la segunda terapia (por ejemplo, agentes profilácticos o terapéuticos).

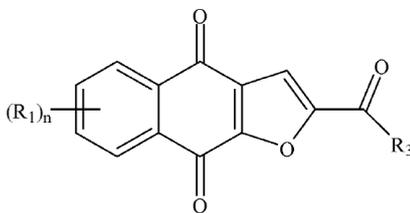
20 En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno se puede tratar administrando el compuesto, producto y/o composición farmacéutica de la siguiente manera. La concentración molar en sangre del compuesto puede ser al menos una concentración efectiva y menor que una concentración nociva durante un primer período de tiempo continuo que es al menos tan largo como un período de tiempo efectivo y más corto que un período de tiempo perjudicial. La concentración molar en sangre puede ser menor que la concentración efectiva después del primer período de tiempo continuo. Por ejemplo, la concentración efectiva puede ser de aproximadamente 0,1 μM , aproximadamente 0,2 μM , aproximadamente 0,5 μM , aproximadamente 1 μM , aproximadamente 2 μM , aproximadamente 3 μM , aproximadamente 4 μM , aproximadamente 5 μM , aproximadamente 6 μM , aproximadamente 10 μM u otra concentración determinada por ser efectiva por un experto en la técnica. Por ejemplo, la concentración nociva puede ser de aproximadamente 1 μM , aproximadamente 3 μM , aproximadamente 10 μM , aproximadamente 15 μM , aproximadamente 30 μM , aproximadamente 100 μM , u otra concentración que el experto en la técnica determine como nociva. Por ejemplo, el período de tiempo efectivo puede ser de aproximadamente 1 hora, 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas u otro período de tiempo determinado como efectivo por uno

25 30 35 40 45

50 En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto, producto y/o composición farmacéutica se selecciona para producir una concentración sanguínea mayor que la IC_{50} de las células del tumor y menor que la IC_{50} de células normales. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva se selecciona para producir una concentración en sangre suficientemente alta para matar las células del tumor y menor que la IC_{50} de las células normales.

55 En algunas realizaciones, el compuesto, producto y/o composición farmacéutica se administra por vía oral en una forma de dosificación, por ejemplo, una tableta, píldora, cápsula (dura o blanda), capsuleta, polvo, gránulo, suspensión, solución, gel, sello, trocillo, comprimidos para deshacer en la boca, jarabe, elixir, emulsión, emulsión de aceite en agua, emulsión de agua en aceite y/o una gragea.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente invención, una composición para reducir o inhibir la replicación o diseminación de células neoplásicas incluye un conjunto de partículas seleccionadas mediante el siguiente método. Se puede proporcionar un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal o solvato del mismo.



Fórmula I

5 En algunas realizaciones, se puede proporcionar el Compuesto 1 o una sal o solvato del mismo. En algunas realizaciones, se puede proporcionar un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a

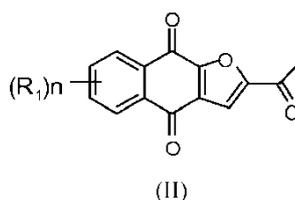
aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Se puede preparar al menos un conjunto de partículas que incluyen el compuesto. Se puede determinar la distribución del tamaño de partícula de cada uno de al menos un conjunto de partículas. Se puede administrar al menos un conjunto de partículas a células neoplásicas y a células normales a una concentración predeterminada y durante un período de tiempo predeterminado. Se puede observar el efecto de las partículas sobre el metabolismo y/o división de las células neoplásicas y las células normales. Se puede asignar una clasificación de efectividad a cada conjunto de partículas en función del efecto de las partículas sobre las células neoplásicas. Se puede asignar una clasificación de toxicidad a cada conjunto de partículas basado en el efecto de las partículas sobre las células normales. La clasificación de efectividad y/o la clasificación de toxicidad del al menos un conjunto de partículas que tienen una primera distribución de tamaño de partícula se puede comparar con la clasificación de efectividad y/o la clasificación de toxicidad de al menos otro conjunto de partículas que tienen una distribución de tamaño de partícula diferente que la primera distribución de tamaño de partícula. El conjunto de partículas que tiene una clasificación de efectividad mayor que, una clasificación de toxicidad menor que, y/o una clasificación de efectividad ponderada y una suma de clasificación de toxicidad mayor que la de al menos otro conjunto de partículas se puede seleccionar como un conjunto óptimo. Por ejemplo, la distribución del tamaño de partícula del conjunto óptimo de partículas se puede identificar como una distribución óptima del tamaño de partícula. Por ejemplo, el conjunto óptimo de partículas puede incluirse en la composición. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede ser proporcional a la actividad antitumoral. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede basarse en la inhibición del metabolismo y/o división de las células neoplásicas. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede ser inversamente proporcional a la tolerabilidad. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede basarse en la inhibición del metabolismo y/o división de las células normales. Por ejemplo, el al menos un conjunto de partículas se puede administrar a las células neoplásicas y a las células normales in vitro. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede ser la IC_{50} de las células neoplásicas. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede ser la IC_{50} de las células normales. Por ejemplo, el al menos un conjunto de partículas se puede administrar a las células neoplásicas y a las células normales in vivo en un animal de prueba. El animal de prueba puede ser, por ejemplo, un mamífero, un primate, un ratón, una rata, un conejillo de Indias, un conejo o un perro. La clasificación de efectividad puede ser la disminución en el volumen de las células neoplásicas, y la clasificación de toxicidad puede ser la disminución en la masa del animal de prueba.

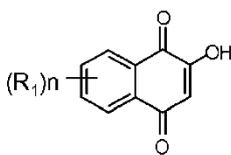
En algunas realizaciones, la preparación del conjunto de partículas que incluye el compuesto puede incluir el aislamiento de partículas de una distribución de tamaño de partícula predeterminada disolviendo y dispersando el compuesto, disolviendo y dispersando el compuesto con una técnica microfluídica, disolviendo y dispersando el compuesto con cavitación o nebulización. moliendo el compuesto, moliendo el compuesto con bolas, moliendo el compuesto con rodillo, moliendo el compuesto por chorro, moliendo el compuesto en húmedo, moliendo ultrasónicamente el compuesto, triturando el compuesto y/o tamizando el compuesto. Las partículas pueden suspenderse en un excipiente farmacéuticamente aceptable. La determinación de la distribución del tamaño de partícula puede incluir el uso de una técnica seleccionada del grupo que consiste en el análisis de tamices, recuento microscópico óptico, recuento de micrográficas electrónicas, recuento de electrorresistencia, tiempo de sedimentación, difracción láser, espectroscopía acústica y combinaciones.

Un método para tratar una neoplasia u otro trastorno de proliferación celular puede incluir administrar a un humano, mamífero o animal afligido con una neoplasia una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición que incluye un conjunto óptimo de partículas de la composición que tiene un tamaño de partícula y distribución óptimas.

La presente invención también proporciona un proceso de preparación de un compuesto de Fórmula II,



donde R_1 es H, Cl o F, incluyendo el proceso, hacer reaccionar un compuesto de Fórmula III,

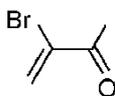


(III)

con una cetona en un primer solvente en presencia de una base, cristalizar el producto crudo a partir de la mezcla de reacción envejecida, y haciendo reaccionar el producto crudo con un agente oxidante en un segundo solvente.

En algunas realizaciones, la reacción se lleva a cabo en un contenedor al aire libre.

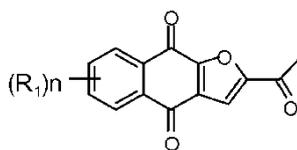
- 5 En algunas realizaciones, la cetona es un compuesto de Fórmula IV.



(4-3)

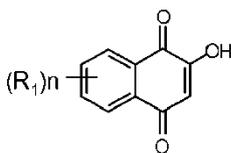
- 10 En algunas realizaciones, el primer solvente se selecciona del grupo que consiste en tetrahidrofurano (THF), dioxano, y tolueno, y la base se selecciona del grupo que consiste en 1, 8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), trietil amina, y diisopropiletil amina. En algunas realizaciones, el agente oxidante es dióxido de manganeso. En algunas realizaciones, el segundo solvente es tolueno. En algunas realizaciones, el proceso incluye además tratar el producto de la oxidación con carbón vegetal.

La presente invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula II,



(II)

en donde R₁ es H, Cl, o F, incluyendo el proceso, hacer reaccionar un compuesto de Fórmula III,



(III)

- 15 con una cetona en un primer solvente mientras está en presencia de una base, cristalizando el producto crudo de la mezcla de reacción envejecida, disolviendo el producto crudo en un segundo solvente y tratando el producto crudo con carbón vegetal.

- 20 La presente invención proporciona un proceso de preparación de un compuesto de naftofurano. El proceso incluye hacer reaccionar un compuesto de naftodihidrofurano o una mezcla que incluye el compuesto de naftodihidrofurano con un agente oxidante en un primer solvente. En algunas realizaciones, la mezcla incluye además un compuesto de naftofurano. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinyl éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo.
- 25 En algunas realizaciones, el agente oxidante es dióxido de manganeso. En algunas realizaciones, el primer solvente es tolueno. En algunas realizaciones, el proceso incluye además filtrar el producto de oxidación a través de una almohadilla de carbón activado. En algunas realizaciones, el proceso incluye además cristalizar el compuesto de naftofurano evaporando el primer solvente. En algunas realizaciones, el proceso incluye además re-cristalizar el
- 30

compuesto de naftofurano con un segundo solvente. En algunas realizaciones, el segundo solvente es acetato de etilo. En algunas realizaciones, el proceso incluye además suspender el compuesto de naftofurano con un segundo solvente, calentar la suspensión, y enfriar la suspensión.

5 La presente invención proporciona un proceso de preparación de un compuesto de naftofurano sustancialmente puro. El proceso incluye cristalizar un compuesto de naftofurano con un primer solvente, y re-cristalizar el compuesto de naftofurano con un segundo solvente. La presente invención proporciona otro proceso de preparación de un compuesto de naftofurano sustancialmente puro. El proceso incluye cristalizar un compuesto de naftofurano con un primer solvente, suspender el compuesto de naftofurano cristalino con un segundo solvente, calentar la suspensión, y enfriar la suspensión. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano se selecciona del grupo que consiste en
10 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo. En algunas realizaciones, el primer solvente es tolueno. En algunas realizaciones, el segundo solvente es acetato de
15 etilo.

La presente invención proporciona un compuesto de naftofurano preparado por uno cualquiera de los procesos anteriores. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano tiene una pureza de al menos aproximadamente 80%, aproximadamente 85% o aproximadamente 90%, aproximadamente 95%, o aproximadamente 99%. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano tiene impurezas de como máximo aproximadamente 10%,
20 aproximadamente 5%, aproximadamente 2%, o aproximadamente 1%, aproximadamente 0.5%, aproximadamente 0.2%, aproximadamente 0.15%, o aproximadamente 0.1%.

La invención proporciona métodos para preparar partículas del Compuesto 1, incluyendo partículas de un polimorfo del Compuesto 1, partículas de formas altamente puras del Compuesto 1 y partículas de formas altamente puras de un polimorfo del Compuesto 1. En algunas realizaciones, partículas que tienen un tamaño de partícula mediano deseado, por ejemplo, aproximadamente 20 micrones, se producen moliendo cristales del Compuesto 1, que incluyen cristales de una forma purificada del Compuesto 1, cristales de un polimorfo del Compuesto 1 y/o cristales de una forma purificada de un polimorfo del Compuesto 1. Por ejemplo, los cristales se muelen usando un método de molienda por chorro donde la presión de Venturi es de aproximadamente 40, la presión del molino es de aproximadamente 100, y la tasa de alimentación es de aproximadamente 1304 g/hora.
30

35 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una ilustración que representa Datos de XRPD de la Forma Cristalina 1.

La Figura 2 es una ilustración que representa Datos de XRPD de la Forma Cristalina 2.

La Figura 3 es una ilustración que representa Datos de XRPD de la Forma Cristalina 3.

40 La Figura 4 es una ilustración que representa la comparación de Datos de XRPD de la Forma Cristalina 1 y de la Forma Cristalina 3.

Las Figuras 5A y 5B son una serie de ilustraciones que representan el proceso sintético para la Forma Cristalina 2.

Las Figuras 6A-6D son una serie de ilustraciones que representan el proceso sintético para la Forma Cristalina 3.

Las Figuras 7A y 7B son fotografías que representan la morfología de las Formas Cristalinas 1 y 3.

45 La Figura 8 es un gráfico que representa la actividad antitumoral limitada de la Forma Cristalina 1.

La Figura 9 es un gráfico que representa la actividad antitumoral de la Forma Cristalina 2.

La Figura 10 es un gráfico que representa la comparación de la actividad antitumoral de la Forma Cristalina 1 y de la Forma Cristalina 3.

La Figura 11 es un gráfico que representa los datos farmacocinéticos (PK) clínicos en pacientes con cáncer para la Forma Cristalina 2.

La Figura 12 es un gráfico que representa datos de PK clínicos de la Forma Cristalina 3 en pacientes con cáncer.

5 La Figura 13 es un gráfico que representa la toxicidad observada con aproximadamente el 90% de la de la Forma Cristalina 2 pura producida usando el proceso sintético ilustrado en las Figuras 5A-5B.

La Figura 14 es un gráfico que representa la seguridad de aproximadamente el 95% de la Forma Cristalina 2 pura producida usando el proceso sintético ilustrado en las Figuras 5A-5B.

La Figura 15 es un gráfico que representa la actividad antitumoral del Compuesto 1 con diferentes rangos de tamaño de partícula.

10 La Figura 16 es un gráfico que representa datos de PK in vivo del Compuesto 1 con diferentes rangos de tamaño de partícula.

La Figura 17 es un gráfico que representa la relación entre la disolución y el tamaño de partícula del Compuesto 1.

La Figura 18 es una ilustración que representa las diferencias entre las terapias contra el cáncer específico de las células madre del cáncer y las convencionales.

15 La Figura 19 es una ilustración que representa una regresión completa de una lesión metastásica de cáncer de colon en el riñón.

La Figura 20 es un gráfico que ilustra la farmacocinética de la dosificación de BID en pacientes, donde los pacientes recibieron dosis de 500 mg dos veces al día (1000 mg de dosis diaria total).

20 La Figura 21 es un gráfico que ilustra la farmacocinética de la dosificación una vez al día en pacientes, donde los pacientes recibieron dosis de 20 mg una vez al día.

La Figura 22 es un gráfico que ilustra la comparación de la supervivencia libre de progresión de pacientes con cáncer colorrectal tratados con el Compuesto 1. La supervivencia libre de progresión (PFS) de pacientes evaluables con cáncer colorrectal tratados con el Compuesto 1 se comparó con datos históricos de PFS para la mejor atención de apoyo en pacientes con cáncer colorrectal.

25 La Figura 23 es un gráfico que ilustra la comparación de la supervivencia libre de progresión (PFS) versus la exposición farmacocinética. La PFS de pacientes evaluables que recibieron el Compuesto 1 se comparó con la exposición al Compuesto 1 por encima o por debajo de 1,6 uM durante al menos 4 horas.

La Figura 24 es un gráfico que ilustra el patrón PK deseable para mejorar la seguridad y eficacia.

30 La Figura 25 es una fotografía que ilustra que los pacientes que lograron una enfermedad estable y prolongada (> 16 semanas) durante el tratamiento con BBI608 tienen altos niveles de p-STAT3 en sus tejidos tumorales antes del tratamiento.

Descripción detallada del invento

Las realizaciones de la invención se discuten en detalle a continuación.

35 En este texto, una "fracción sustancial" de un conjunto de partículas puede ser al menos aproximadamente 99%, al menos aproximadamente 95%, al menos aproximadamente 90%, al menos aproximadamente 85%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 75 %, al menos aproximadamente 70%, al menos aproximadamente 60%, o al menos aproximadamente 50% del número total de partículas en el conjunto.

40 La actividad de células madre anticáncer de una composición puede determinarse in vitro o in vivo. Por ejemplo, la actividad antitumoral de una composición se puede determinar in vitro administrando el compuesto y midiendo la autorrenovación y la supervivencia de las células madre cancerosas. Por ejemplo, la actividad antitumoral de un compuesto puede evaluarse in vitro al comparar el comportamiento de las células tumorales a la que se le ha administrado el compuesto con el comportamiento de las células tumorales a las que no se ha administrado el compuesto (un control). Por ejemplo, la actividad antitumoral de una composición puede determinarse in vivo midiendo, en un animal al que se ha administrado el compuesto, el cambio en el volumen de un tumor, aplicando un modelo
45 metastásico, y/o aplicando un modelo ortotópico. Por ejemplo, la actividad antitumoral de un compuesto puede

evaluarse in vivo comparando un animal al que se ha administrado el compuesto con un animal al que no se ha administrado el compuesto (un control).

5 La tolerabilidad de una composición se puede determinar in vitro o in vivo. Por ejemplo, la tolerabilidad de una composición se puede determinar in vitro administrando el compuesto y midiendo la tasa de división de las células normales, midiendo la absorción de nutrientes de las células normales, midiendo los indicadores de la tasa metabólica de las células normales distintas de la absorción de nutrientes, midiendo el crecimiento de células normales, y/o midiendo otro indicador de la vitalidad de las células normales. Por ejemplo, la tolerabilidad de un compuesto puede evaluarse in vitro comparando el comportamiento de las células normales a las que se ha administrado el compuesto con el comportamiento de las células normales a las que no se ha administrado el compuesto (un control). Por ejemplo, 10 la tolerabilidad de una composición puede determinarse in vivo midiendo, en un animal al que se le ha administrado el compuesto, el peso corporal o la ingesta de alimentos o haciendo observaciones clínicas, tales como retención o pérdida del cabello, actividad y/o capacidad de respuesta a estímulos. Por ejemplo, la tolerabilidad de un compuesto puede evaluarse in vivo comparando un animal al que se ha administrado el compuesto con un animal al que no se ha administrado el compuesto (un control).

15 A un compuesto, producto y/o composición farmacéutica se le puede asignar una clasificación de efectividad y/o una clasificación de toxicidad. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede ser proporcional a la actividad antitumoral o puede ser una función monótonamente creciente con respecto a la actividad antitumoral. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede ser inversamente proporcional a la tolerabilidad o puede ser una función monótonamente decreciente con respecto a la tolerabilidad. Se ha informado que un compuesto de naftofurano carece de actividad antitumoral in vivo. Véase, M.M. Rao y D.G.I. Kingston, J. Natural Products, 45 (5) (1982) 600 - 604. Adicionalmente, 20 se ha informado que el compuesto es igualmente tóxico para las células cancerosas y para las células normales. Es decir, se informó que el compuesto eliminó por igual las células cancerosas como las células normales, y concluyó que el compuesto no tiene potencial para el tratamiento del cáncer. Véase, K. Hirai K. et al., Cancer Detection y Prevention, 23(6) (1999) 539-550; Takano A. et al., Anticancer Research 29:455-464, 2009.

25 Sin embargo, los estudios experimentales informados en este documento indican que cuando el compuesto se administra como partículas que tienen una distribución de tamaño de partícula apropiada para lograr una cierta exposición farmacocinética como se describe en esta publicación, el compuesto tiene actividad antitumoral selectiva.

30 Para los fines de la presente invención, la "biodisponibilidad" de un fármaco se define como la cantidad relativa de fármaco procedente de una forma de dosificación administrada que entra en la circulación sistémica y la tasa a la que aparece el fármaco en la corriente sanguínea. La biodisponibilidad se rige por al menos tres factores: (i) absorción que controla la biodisponibilidad, seguida de (ii) su redistribución tisular y (iii) eliminación (degradación metabólica más mecanismos renales y de otro tipo).

35 La "biodisponibilidad absoluta" se estima teniendo en cuenta la redistribución y la biotransformación del tejido (es decir, la eliminación) que pueden estimarse a su vez mediante la administración intravenosa del fármaco. A menos que se indique otra cosa, "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento; "farmacéuticamente aceptable" se refiere a materiales fisiológicamente tolerables, que típicamente no producen una reacción alérgica u otra reacción adversa, tal como malestar gástrico, mareos y similares, cuando se administran a un mamífero; "mamífero" se refiere a una clase de vertebrados superiores, incluido el hombre y todos los demás animales que alimentan a sus crías con leche secretada por las glándulas mamarias y que generalmente tienen la piel más o menos cubierta de pelo; y "tratar" 40 pretende abarcar mitigar, aliviar o eliminar al menos un síntoma de una enfermedad o enfermedades en un mamífero.

45 El término "tratamiento", como se usa en el presente documento, pretende abarcar la administración de compuestos de acuerdo con la invención de forma profiláctica para prevenir o suprimir una condición no deseada, y terapéuticamente para eliminar o reducir el alcance o los síntomas de la condición. El tratamiento también incluye prevenir la recaída de una condición no deseada, retrasar la progresión de una condición no deseada y prevenir o retrasar el inicio de una condición no deseada. El tratamiento de acuerdo con la invención se da a un humano u otro mamífero que tiene una enfermedad o condición que crea la necesidad de tal tratamiento. El tratamiento también incluye la aplicación del compuesto a células u órganos in vitro. El tratamiento puede ser por administración sistémica o local.

50 Una cantidad efectiva es la cantidad de ingrediente activo administrada en una sola dosis o múltiples dosis necesarias para lograr el efecto farmacológico deseado. Un profesional experto puede determinar y optimizar una dosis efectiva para un paciente individual o tratar una condición individual mediante experimentación rutinaria y titulación bien conocidas por el médico experto. La dosis y el programa reales pueden variar dependiendo de si las composiciones se administran en combinación con otros fármacos, o dependiendo de las diferencias interindividuales en farmacocinética, disposición del fármaco y metabolismo. De manera similar, las cantidades pueden variar para 55 aplicaciones in vitro. Está dentro de la experiencia en la técnica ajustar la dosis de acuerdo con las necesidades de una situación particular sin excesiva experimentación. Cuando se describen en el presente documento, los rangos de dosis no excluyen el uso de una dosis mayor o menor de un componente, como podría estar justificado en una aplicación particular.

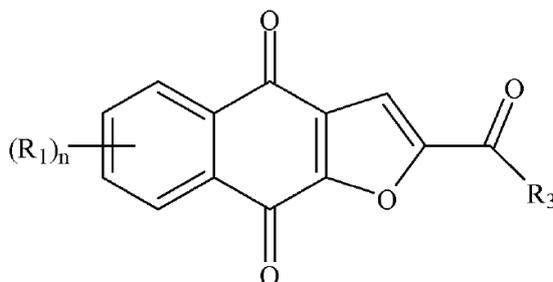
Las descripciones de las composiciones farmacéuticas proporcionadas en este documento incluyen composiciones farmacéuticas que son adecuadas para administración a humanos. El experto en la técnica entenderá, en base a esta divulgación, que tales composiciones son generalmente adecuadas para la administración a cualquier mamífero u otro animal. La preparación de composiciones adecuadas para la administración a diversos animales se entiende bien, y el farmacólogo veterinario normalmente experto puede diseñar y llevar a cabo tales modificaciones con experimentación rutinaria basada en composiciones farmacéuticas para administración a humanos.

Estructura compuesta y propiedades

Un compuesto de naftofurano de Fórmula I, tal como 2-(1-hidroxietil) -nafto[2,3-b] furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b] furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, fue prácticamente insoluble en agua y se probó un amplio panel de solventes, incluido DMSO (sulfóxido de dimetilo), N-metilpirrolidina, DMA (dimetilacetamida), etanol, PEG400 (polietilenglicol 400), propilenglicol, Cremophor EL (aceite de ricino polietoxilado), Labrasol (Caprilcaproil Macrogolglicéridos (Polioxilglicéridos)), Labrafil M (aceite vegetal PEG-6 (polietilenglicol) éster) y Capriol (caprilato de propilenglicol). El compuesto de naftofurano puede ser soluble en un rango de solventes orgánicos polares, tales como ciertos halocarbonos, por ejemplo, clorocarbonos, como cloruro de metileno, ésteres, acetato de etilo, ácidos carboxílicos, como ácido acético, cetonas, como acetona y alcoholes, como metanol. Se encontró que el compuesto de naftofurano era soluble en cloruro de metileno y acetato de etilo.

Los estudios experimentales descritos en la presente memoria, que encontraron que la actividad antitumoral selectiva se lograba administrando el compuesto activo de una composición farmacéutica en forma de partículas pequeñas para lograr una cierta exposición farmacocinética para actividad anticancerígena selectiva, centrada en un compuesto de naftofurano. Dadas las observaciones discutidas actualmente hechas con el compuesto, otros naftofuranos, por ejemplo, naftofuranos, pueden exhibir de manera similar una modificación ventajosa de sus perfiles farmacocinéticos para lograr una cierta exposición farmacocinética para lograr actividad anticancerígena selectiva cuando se administra en forma de partículas de pequeño diámetro. El perfil farmacocinético de otros naftofuranos administrados como una o más distribuciones de tamaños de partículas diferentes puede determinarse experimentalmente.

Algunos otros compuestos que pueden exhibir una mejora en su perfil farmacocinético y eficacia con una disminución en el tamaño de partícula de la forma en la que se administran a un animal, un mamífero o un humano, como se observó para el compuesto probado en ejemplos, incluyen aquellos presentados como Fórmula I, y sales y solvatos de los mismos.



Fórmula I

En la Fórmula I, la notación $(R_1)_n$ indica que un (R_1) sustituyente es independientemente sustituido en cada posición disponible a lo largo del anillo de benceno. Por ejemplo, con n igual a 4, los cuatro sustituyentes R_1 pueden ser todos iguales, o cada uno puede ser diferente de cualquier otro. Por ejemplo, cada (R_1) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, nitro, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido, OR_a , SR_a , y NH_2 . Alquilo puede incluir unidades estructurales que tienen, por ejemplo, de 1 a 8 átomos de carbono conectados por enlaces simples, alquenilo puede incluir unidades estructurales que tienen, por ejemplo, de 2 a 8 átomos de carbono conectados por uno o más dobles enlaces, y alquinilo puede incluir unidades estructurales que tienen, por ejemplo, de 2 a 8 átomos de carbono conectados por uno o más triples enlaces. Los sustituyentes pueden incluir unidades estructurales tales como hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, arilo, OR_a , SR_a , y NH_2 . Por ejemplo, cada (R_1) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl (cloro), Br (bromo), I (yodo), OH (hidroxilo), y NH_2 (amina). Por ejemplo, R_3 se puede seleccionar del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, flúor, ciano, CF_3 , OCF_3 , alquilo, metilo, alquilo sustituido, alquilo sustituido con halógeno, alquilo sustituido con hidroxilo, alquilo sustituido con amina, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalquenilo, cicloalquenilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, arilo sustituido,

OR_a, SR_a, y NR_bR_c. Por ejemplo, R₃ se puede seleccionar del grupo que consiste en metilo y C(R₈)₃. Cada (R₈) se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, F (flúor), Cl, Br, I, OH, y NH₂. Por ejemplo, como máximo dos de los sustituyentes (R₁) seleccionados independientemente y los sustituyentes (R₈) pueden seleccionarse para ser F (flúor), seleccionándose el resto para que sea hidrógeno.

5 En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo. Por ejemplo, cada (R₁) puede ser seleccionado para ser hidrógeno y R₃ puede ser seleccionado para ser metilo, de modo que el compuesto de Fórmula I es 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona. Por
10 ejemplo, cada R_a se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, cicloalqueno, cicloalqueno sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido. Por ejemplo, cada R_b y R_c se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en, hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heterociclo, heterociclo sustituido, arilo, y arilo sustituido. Alternativamente, un R_b y R_c junto con el N al que están unidos puede formar un heterociclo o heterociclo sustituido.

Polimorfos

Los compuestos de naftofurano de la invención incluyen polimorfos. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo del
20 Compuesto 1. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1. Este polimorfo se denomina aquí "Forma Cristalina 1", "Forma 1" o "XRPD1" y estos términos se usan indistintamente. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2. Este polimorfo se denomina aquí "Forma Cristalina 2", "Forma 2," o "XRPD2" y estos términos se usan indistintamente. En algunas realizaciones, el
25 polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3. Este polimorfo se denomina aquí "Forma Cristalina 3," "Forma 3," o "XRPD3" y estos términos se usan indistintamente.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2,
30 11.4, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 21.0, 22.2, 24.0, 26.0, y 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 10.2, 11.9, 14.1, 14.5, 17.3, 22.2, y/o 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ, un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ, y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

Por ejemplo, en algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5,
55 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0, y 28.4 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos al menos a aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15, 23.0, 23.3, 24.6 y/o 28.4 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ. En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ. En algunas realizaciones,
60 de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ. En algunas realizaciones,

el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ . En algunas realizaciones, el polimorfo es un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.0 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos.

La Forma Cristalina 1 se ha detectado en una variedad de solventes y condiciones, pero se ha demostrado que tiene baja actividad antitumoral (Figura 8). En los estudios mostrados en la Figura 8, a los ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu subcutáneo establecido se les proporcionó una cantidad indicada del Compuesto 1 triturado a mano con la Forma Cristalina 1, o control de vehículo por vía oral (po). El Compuesto 1 se formuló en GELUCIRE™. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). Los tamaños de los tumores se evaluaron periódicamente durante el tratamiento.

La Forma Cristalina 2 se obtuvo sorprendentemente en presencia de una impureza, y se ha demostrado que este polimorfo muestra una potente actividad antitumoral (Figura 9). En el estudio mostrado en la Figura 9, a los ratones inmunodeprimidos con cáncer de cabeza y cuello FaDu subcutáneo establecido se les administraron 100 mg/kg de Compuesto 1 micronizado producido con el proceso sintético descrito en las Figuras 5A y 5B (primer cultivo) o control del vehículo por vía oral (po). El Compuesto 1 se formuló en GELUCIRE™. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). Los tamaños de los tumores se evaluaron periódicamente durante el tratamiento. La Forma 2 ha sido fabricada con éxito por un proceso actual de buenas prácticas de fabricación (cGMP) y recibió la aprobación de la FDA y Health Canada para su uso en ensayos clínicos. La Forma 2 ha demostrado una farmacocinética deseable (Figura 11), seguridad y fuertes signos de actividad antitumoral en pacientes con cáncer.

Se ha demostrado que la Forma Cristalina 3 comparte un patrón de difracción en polvo de rayos X (XRPD) similar pero diferente, como la Forma 1, y mostró un hábito cristalino muy diferente al de la Forma 1 (Fig. 7A y B). La Forma 3 solo puede generarse a partir de la Forma 1 usando un proceso de suspensión especialmente diseñado que se describe en este documento. Se ha demostrado que la Forma 3 exhibe actividades antitumorales potentes (Figura 10). En el estudio mostrado en la figura 10, a los ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu subcutáneo establecido se les administró 200 mg/kg de Compuesto 1 con Forma Cristalina 1 o Forma 3 triturada a mano, o control de vehículo por vía oral (po). El Compuesto 1 se formuló en gelucire. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). Los tamaños de los tumores se evaluaron periódicamente durante el tratamiento. Este polimorfo ha sido fabricado con éxito por un proceso de cGMP y recibió la aprobación de la FDA y Health Canada para ser utilizado en ensayos clínicos. La Forma 3 también ha demostrado una farmacocinética deseable (Figura 12), seguridad y fuertes signos de actividad antitumoral en pacientes con cáncer.

El proceso sintético para preparar la Forma Cristalina 2 se muestra en las Figuras 5A-5B. En resumen, 3-buten-2-ona cargado (451,2 gramos) se añade a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 2 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición. Al embudo de adición se le agrega bromo (936,0 gramos). Después de que los contenidos en el matraz se han enfriado a -5°C , el bromo se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a -5°C durante 30 minutos. El proceso sintético para preparar la Forma Cristalina 2 se muestra en las Figuras 5A-5B. En resumen, 3-buten-2-ona (451,2 gramos) cargado a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 2 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición. Al embudo de adición se le agrega bromo (936,0 gramos). Después de que los contenidos en el matraz se han enfriado a -5°C , el bromo se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a -5°C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a -5°C , y luego se divide en 4 porciones iguales. Cada porción de la mezcla junto con tetrahidrofurano (2133,6 gramos) se carga en un matraz de fondo redondo de cuello redondo de 22 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición. Se agrega DBU cargado (1,3-Diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno, 222,9 gramos) al embudo de adición. El DBU se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a 0°C - 5°C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a 0°C - 5°C . Luego se agrega 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (231 gramos) al matraz. Se carga DBU adicional (246,0 gramos) en el embudo de adición y luego se vierte en la mezcla en el matraz a una tasa tal que la temperatura de la mezcla de reacción no supere los 40°C . Después de que se completa la adición de DBU, la mezcla resultante se agita durante

la noche a temperatura ambiente, y se toma una muestra de la mezcla de reacción para el análisis por HPLC. A la mezcla de reacción, se carga agua (10,8 litros), y la mezcla resultante se enfría hasta 0 °C-3 °C durante al menos 30 minutos, y luego se filtra a través de un filtro de vacío. El sólido filtrado se enjuaga con bicarbonato de sodio acuoso al 5% (3 litros), agua (3 litros), ácido acético acuoso al 1% (3 litros) y etanol dos veces (2 X 1 litro) sucesivamente. El sólido enjuagado se almacena y se agrupa junto con otros lotes. El producto crudo combinado (28,73 kg) se carga junto con acetato de etilo (811,7 kg) en un recipiente de 500 galones equipado con un agitador mecánico, termómetro y condensador. Bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se calienta hasta reflujo (72 °C) durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro de cartucho de 10 micrones que contiene una capa de carbón activo para eliminar las sustancias insolubles. Se usa acetato de etilo fresco y caliente (10 kg) para enjuagar el recipiente, la línea de transferencia y el filtro. El filtrado combinado se enfría hasta 0-5 °C y se mantiene a esta temperatura durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro Buchner de 20 pulgadas. El producto sólido filtrado se enjuaga con 0-5 °C de acetato de etilo (5,7 kg), y se seca bajo vacío a 40 °C hasta un peso constante. El filtrado restante se reduce en volumen en un 63% por evaporación, y el proceso de cristalización se repite nuevamente para generar un segundo cultivo de producto que también se secó bajo las mismas condiciones que el primer cultivo del producto. Ambos cultivos obtenidos son Forma Cristalina 2. El primer cultivo producido (0.5 kg) tenía una pureza de 99.5% por HPLC (~95% por RMN). El segundo cultivo producido (1,09 kg) tenía una pureza del 98.9% por HPLC (~90% por RMN).

El proceso sintético para preparar La Forma Cristalina 3 se muestra en las Figuras 6A-6D. Las etapas se describen brevemente en este documento. Etapa 1: 3-buten-2-ona (metil vinil cetona, MVK) se bromó usando bromo. No se usa solvente adicional. El intermedio 3,4-dibromobutan-2-ona se disuelve en tetrahidrofurano (THF) y reacciona con 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno (DBU) para formar un segundo intermediario, 3-bromo-3 -buten-2-ona. Una vez que se completa esta reacción, se agrega 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (HNQ). Se agrega una segunda porción de DBU, y la mezcla es expuesta al aire. La reacción se detiene con agua y los sólidos se recogen por filtración. Estos sólidos se lavan con bicarbonato de sodio acuoso, ácido acético acuoso, agua y etanol. El producto se aísla suspendiendo en etanol y recolectando los sólidos. Etapa 2: Cantidades residuales de 2-acetil-2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona que acompañan al 2-acetil-4H,9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona deseado (Compuesto 1) se oxidan al Compuesto 1 con dióxido de manganeso activado en tolueno. La mezcla se filtra a través de una torta de carbón y Celite. El filtrado se concentra para precipitar el producto, que se filtra y seca. Etapa 3: los sólidos se suspenden en acetato de etilo (25 ml/g de Compuesto 1 purificado) a 75 °C-80 °C aproximadamente 5 h, se recogen por filtración y se secan. El Compuesto 1 producido con este método es la Forma Cristalina 3. El Compuesto 1 producido con este método sin el proceso de suspensión proporcionó la Forma Cristalina 1.

Efecto de la distribución del tamaño de partícula compuesto sobre la concentración del fármaco en plasma sanguíneo y actividad antitumoral selectiva

Antes de la presente invención, no se habían creado y/o evaluado micropartículas de Compuesto 1. Estudios previos habían demostrado que el Compuesto 1 era igualmente tóxico para células normales y cancerosas, y no se observó actividad antitumoral en el modelo animal. Los estudios presentados en este documento demuestran que la reducción del tamaño de partícula del Compuesto 1 no solo mejoraba la biodisponibilidad, sino que también conducía a una mayor actividad antitumoral selectiva sin signos de toxicidad. Esto es inesperado ya que la mejora en la biodisponibilidad aumentaría la exposición al Compuesto 1 por igual por las células cancerosas y las células normales. Se desconoce el mecanismo para la potenciación selectiva de la actividad anticancerígena sin aumento de la toxicidad para las células normales. En estos estudios, la mejora en la biodisponibilidad del Compuesto 1 pareció maximizarse cuando el D_{50} (es decir, el punto mediano de la distribución del tamaño de partícula que divide la distribución en dos partes iguales) es de aproximadamente 20 μm . Sin embargo, se llevaron a cabo estudios adicionales en los que el valor de D_{50} fue de aproximadamente 2 μm . Las micropartículas del Compuesto 1 que tienen un D_{50} de 2 micrones tenían una actividad antitumoral sorprendentemente mejorada, aunque no hay una mejora en la exposición farmacocinética en comparación con las partículas con un D_{50} de 20 micrones. En estudios adicionales, se crearon nanopartículas de Compuesto 1 que tenían un D_{50} de aproximadamente 100 nanómetros ($D_{50} = 110,4$ nanómetros), pero sorprendentemente, se observó una reducción de la actividad antitumoral con este tamaño de partícula del Compuesto 1. Por consiguiente, en una realización preferida, las composiciones que contienen partículas del Compuesto 1, por ejemplo, micropartículas, tienen un D_{50} igual o inferior a 20 micrones e igual o superior a 0,2 micrones y posee una actividad antitumoral sorprendentemente potente sin aumento de la citotoxicidad para las células normales.

La actividad antitumoral de las partículas del Compuesto 1 con diferentes rangos de tamaño de partícula se ilustra en la Figura 15, y los datos farmacocinéticos para las partículas del Compuesto 1 con diferentes rangos de tamaño de partícula se ilustran en las Figuras 16-18. En el estudio que se muestra en la Figura 15, a los ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu subcutáneo establecido se les dio la cantidad indicada de Compuesto 1 con el tamaño de partícula indicado, o el control del vehículo por vía oral (po). Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). El tamaño del tumor se evaluó periódicamente.

Se encontró que la administración del compuesto de naftofurano en forma de partículas que tienen un tamaño de partícula definido, por ejemplo, un tamaño de partícula reducido, mejora la concentración de fármaco en plasma in vivo. Aquí, a menos que se indique otra cosa, los términos "tamaño" y "diámetro" se usarán indistintamente para

describir partículas. Debe entenderse que el uso del término "diámetro" no implica necesariamente que una partícula tenga una forma perfecta o aproximadamente esférica. Por ejemplo, el "diámetro" puede usarse como una aproximación del tamaño de una partícula, por ejemplo, el diámetro de una esfera de volumen equivalente a una partícula no esférica.

5 En un resultado sorprendente, se encontró que la administración de partículas del compuesto de naftofurano de una distribución de tamaño de partícula definida, por ejemplo, como partículas pequeñas, en una composición farmacéutica da como resultado una actividad antitumoral selectiva. Por ejemplo, el compuesto administrado como partículas que tienen un tamaño medio de partícula de 20 μm (es decir, micrones, estos términos se usan intercambiables en este documento) mostró eficacia (actividad antitumoral selectiva), aunque relativamente débil, en modelos de xenoinjerto de ratón. En comparación, las partículas de 150 μm (micrones) no mostraron eficacia. El descubrimiento de que la administración del compuesto de naftofurano en forma de partículas más pequeñas puede dar como resultado una actividad antitumoral selectiva es sorprendente, y no puede explicarse sobre la base de una mejora en la solubilidad o la biodisponibilidad solamente. Es decir, en general, la solubilidad mejorada se asocia con un aumento de la biodisponibilidad oral del fármaco, que puede potenciar la toxicidad para las células normales así como la actividad antitumoral. Como se discutió anteriormente, el compuesto de naftofurano puede ser igualmente tóxico para células tumorales y células normales si la exposición no se lleva a cabo bajo condiciones definidas como se describe en los documentos WO 2009/036099 y WO 2009/036101.

En un resultado sorprendente adicional, se encontró que la administración de partículas del compuesto de naftofurano de un tamaño reducido adicional en una composición farmacéutica da como resultado una actividad antitumoral significativamente mejorada pero casi un perfil farmacocinético inalterado, es decir, biodisponibilidad inalterada. Por ejemplo, el compuesto administrado como partículas que tienen un tamaño medio de partícula de 2 μm (micrones) mostró una eficacia drásticamente mejorada en modelos de xenoinjerto de ratón. En comparación con las partículas de 20 μm , las partículas de 2 μm mostraron una eficacia significativamente mejorada pero un perfil farmacocinético muy similar. En otras palabras, tal eficacia mejorada es independiente del perfil farmacocinético, es decir, la biodisponibilidad. El resultado es muy sorprendente, porque para un compuesto de este tipo con escasa solubilidad, la eficacia mejorada generalmente se asocia con un aumento de la biodisponibilidad oral del fármaco.

La mejora observada en la actividad antitumoral selectiva es, por lo tanto, sorprendente e inesperada. La presente invención proporciona una partícula o partículas de un compuesto de naftofurano, por ejemplo, un compuesto de Fórmula I, que están activas, es decir, tienen una eficacia o actividad antitumoral selectiva. La partícula o partículas activas tienen un tamaño de partícula definido, por ejemplo, tiene un diámetro de menos de aproximadamente 200 μm , aproximadamente 150 μm , aproximadamente 100 μm , aproximadamente 40 μm , o aproximadamente 20 μm , aproximadamente 10 μm , aproximadamente 5 μm , aproximadamente 4 μm , aproximadamente 3 μm , aproximadamente 2 μm , aproximadamente 1 μm , aproximadamente 0,5 μm , aproximadamente 0,2 μm , o aproximadamente 0,1 μm . La partícula o partículas que son mayores que el tamaño de partícula definido son inactivas o menos activas que las partículas descritas aquí.

Por lo tanto, la administración del compuesto de naftofurano u otro compuesto de acuerdo con la fórmula I en forma de partículas más pequeñas puede dar como resultado una mejora en su actividad antitumoral selectiva. El uso de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I que tiene una distribución definida del tamaño de partícula en la dosificación puede permitir el establecimiento de la actividad antitumoral selectiva deseada. Por ejemplo, el uso de partículas de el compuesto de naftofurano que tienen una distribución de tamaño de partícula definida, por ejemplo, partículas más pequeñas, puede dar como resultado una concentración sanguínea mayor durante un período de tiempo más corto y una actividad antitumoral selectiva, aunque relativamente débil. El tamaño de partícula reducido adicional del compuesto puede conducir a una eficacia significativamente mejorada con la concentración en plasma sanguíneo inalterado del compuesto.

Aquí, a menos que se indique otra cosa, los términos "concentración en plasma sanguíneo", "concentración molar en sangre" y "concentración en sangre" se usan indistintamente. El término "neoplasia" se puede usar para describir células que exhiben un patrón de crecimiento anormal. Tal neoplasia puede incluir tumores, tanto benignos como malignos, por ejemplo, tumores sólidos, así como otros trastornos del crecimiento celular, tales como leucemia, que no tienen forma definida y no están confinados a una región específica de un cuerpo humano o animal. Por lo tanto, "neoplasia" incluye células y tejidos neoplásicos tanto cancerosos como no cancerosos. Aquí, a menos que se indique otra cosa, se aclare o se refiera a un estudio o experimento específico, los términos "tumor" y "cáncer" deben entenderse como referencias a la clase más amplia de todas las neoplasias, incluidos los que no están limitados a una determinada región de un cuerpo humano o animal. Sin embargo, debe entenderse que el término más limitado "tumor sólido" no incluye trastornos de crecimiento celular, tales como leucemia, que no tienen una forma definida y no están confinados a una región específica de un cuerpo humano o animal.

Una neoplasia puede exhibir ninguna, una o más de una de las siguientes características: forma sólida (un tumor sólido), malignidad, metástasis o actividad de la ruta de Stat 3. Una neoplasia puede, por ejemplo, incluir una célula madre cancerosa. Una neoplasia puede ser, por ejemplo, un carcinoma, sarcoma, adenocarcinoma, linfoma o una malignidad hematológica.

La absorción se ha definido como el proceso mediante el cual se toma un fármaco del sitio de administración al sitio de medición dentro del cuerpo. Véase, M. Rowland, T.N. Tozer (1995) *Clinical pharmacokinetics: Concepts and applications*. Lippincott Williams & Wilkins. La absorción oral del fármaco frecuentemente se denomina transferencia de fármacos a través de la membrana apical del enterocito, porque se considera que la membrana apical es la etapa limitante de la tasa para la penetración de la membrana. Véase, U. Fagerholm & H. Lennernäs (1995) *Experimental estimation of the effective unstirred water layer thickness in the human jejunum, and its importance in oral drug absorption*, Eur J Pharm Sci 3: 247-253; M.B. Lande, J.M. Donovan & M.L. Zeidel (1995). *The relationship between membrane fluidity and permeabilities to water, solutes, ammonia, and protons*, J Gen Physiol 106: 67-84. La permeabilidad es un término general que describe con qué facilidad se transfiere el fármaco a través de una membrana. Las características de permeabilidad específica de un fármaco dependen de sus propiedades fisicoquímicas, que incluyen lipofilia, carga, tamaño y área de superficie polar. Véase, Rowland & Tozer 1995; C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy & P.J. Feeney (2001). *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings*, Adv Drug Deliv Rev 46: 3-26. La tasa de absorción depende de la permeabilidad del fármaco, el área superficial de la membrana y el gradiente de concentración sobre la membrana. El gradiente de concentración es la fuerza impulsora de la difusión pasiva, el mecanismo más común para el transporte de la membrana del fármaco. Para la administración oral, el fármaco es absorbido principalmente por el intestino. El intestino humano tiene entre 5 y 8 metros de largo y tiene una superficie de área total de casi 200 metros cuadrados, mientras que el intestino del ratón tiene solo unos 10-20 cm de largo. Por lo tanto, se puede predecir que un fármaco con un tamaño de partícula mayor puede tener una tasa de absorción mayor o igual en humanos que un fármaco con un tamaño de partícula más pequeño en el ratón, a pesar de que la permeabilidad del fármaco con un tamaño de partícula mayor es menor que del fármaco con un tamaño de partícula más pequeño.

Por ejemplo, puede predecirse que una distribución de tamaños de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, que tiene un diámetro medio de menos de o igual a aproximadamente 200 µm, 150 µm, 100 µm, 80 µm, 60 µm, 40 µm, 20 µm, 10 µm, 5 µm, 4 µm, 3 µm, 2 µm, 1 µm, 0.5 µm o 0.2 µm dan como resultado una actividad antitumoral selectiva cuando se administra en una formulación farmacéutica, por ejemplo, para el tratamiento de un cáncer o tumor. Por ejemplo, la distribución de tamaños de partículas puede ser tal que las partículas tengan un diámetro medio de aproximadamente 0,02 µm a aproximadamente 5 µm, o de aproximadamente 0,2 µm a aproximadamente 4 µm. Por ejemplo, la distribución de tamaños de partícula puede ser tal que las partículas tienen un diámetro medio de menos de aproximadamente 5 µm, una relación de diámetro medio sobre diámetro medio de como máximo aproximadamente 2, y una relación de diámetro medio sobre el diámetro mediano de al menos aproximadamente 0,25.

El término "partícula" puede referirse a un agregado de un compuesto de Fórmula I. El término "media" puede referirse a la suma de los tamaños de todas las partículas divididas por el número total de partículas. El término "mediana" puede referirse, por ejemplo, a un diámetro del cual la mitad de las partículas tienen un diámetro mayor y la mitad de las partículas tienen un diámetro menor. El término "modo" puede indicar el valor de tamaño de partícula más frecuente. El término "total acumulativo" puede referirse a todas las partículas.

La actividad antitumoral selectiva lograda mediante la administración de partículas de compuesto de naftofurano puede depender no solo de la distribución del tamaño de las partículas, por ejemplo, los volúmenes de partículas o diámetros representativos de esos volúmenes, sino también de la forma y distribución de las formas de las partículas. Por ejemplo, un conjunto de partículas que tienen una forma similar a una aguja puede dar como resultado un perfil farmacocinético diferente que un conjunto de partículas que tienen una forma esférica. Por lo tanto, puede ser deseable medir la forma y distribución de forma de las partículas a administrar y/o usar un proceso que produzca partículas con forma predeterminada y distribución de forma, por ejemplo, una forma casi uniforme, por ejemplo, las partículas que son aproximaciones de esferas. Por ejemplo, la esfericidad, Ψ , de una partícula se puede definir como

$$\Psi = \frac{\pi^{1/3} (6V_p)^{2/3}}{A_p},$$

donde V_p es el volumen de la partícula y A_p es el área de la superficie de la partícula. Una esfera tiene una esfericidad de $\Psi = 1$, y cuanto más cercana es la esfericidad de una partícula a la unidad, más se acerca la forma de la partícula a una esfera. A modo de comparación, un tetraedro tiene una esfericidad de aproximadamente 0,671, un cubo tiene una esfericidad de aproximadamente 0,806, un octaedro tiene una esfericidad de aproximadamente 0,846, un dodecaedro tiene una esfericidad de aproximadamente 0,910 y un icosaedro tiene una esfericidad de aproximadamente 0,939. Debido a que la forma de una esfera minimiza el área de superficie para un volumen dado, se puede esperar que una partícula que sea casi esférica se disuelva más lentamente que una partícula del mismo volumen que sea menos casi esférica. La esfericidad media de un conjunto de esferas se puede definir como

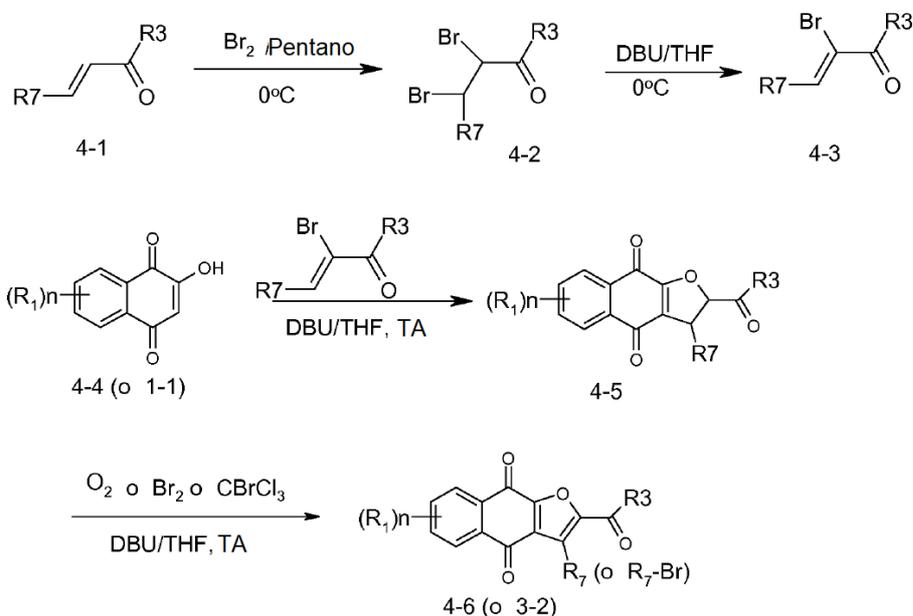
$$\Psi_m = \frac{\pi^{1/3} (6 \sum V_p)^{2/3}}{\sum A_p},$$

donde ΣV_p es el volumen total de todas las partículas y ΣA_p es el área de superficie total de todas las partículas. Por ejemplo, las partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I administradas pueden tener una esfericidad media de al menos aproximadamente 0,8 o una esfericidad media de al menos aproximadamente 0,9.

- 5 El tamaño, la distribución del tamaño, la forma, la distribución de la forma y factores tales como la rugosidad superficial o la irregularidad de las partículas pueden afectar el área superficial específica media del conjunto de partículas del Compuesto 1 administradas en una formulación farmacéutica. El área superficial específica media se puede definir como $\Sigma A_p / \Sigma m_p$, donde ΣA_p es el área superficial total de las partículas y Σm_p es la masa total de las partículas. Cuanto mayor es el área superficial específica media de las partículas, más rápida es la disolución esperada de las partículas.
- 10 Las partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en una formulación farmacéutica pueden incluir el compuesto de naftofurano en un estado cristalino a través de partículas diferentes o dentro de la misma partícula. El estado cristalino puede incluir uno o más polimorfos, a través de partículas diferentes o dentro de la misma partícula. Como apreciará un experto en la técnica, se espera que la tasa de disolución de las partículas pueda verse afectada por el estado de la materia en las partículas del compuesto, por ejemplo, ya sea cristalino, de un primer polimorfo o un segundo polimorfo.
- 15 Se pueden aplicar una o más de un rango de técnicas para determinar el tamaño y/o la distribución de tamaños de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en una formulación farmacéutica. Por ejemplo, se puede aplicar el análisis de tamices, el recuento de microscopía óptica, el recuento de micrográficas electrónicas, el recuento de electrorresistencia, tiempo de sedimentación, difracción láser y/o espectroscopía acústica. Algunas o todas estas técnicas o variaciones de las mismas se pueden aplicar para determinar la forma, la distribución de la forma y/o el área específica de las partículas del compuesto de naftofurano en una formulación farmacéutica. Se puede aplicar una técnica de superficie específica de isoterma BET y/o permeabilidad al aire para determinar el área específica de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en una formulación farmacéutica.
- 20

Procesos para generar compuestos de naftofurano

- 25 Los documentos WO 2009/036099 y WO 2009/036101 divulgan un proceso para la preparación de un compuesto de naftofurano de Fórmula II de la siguiente manera.



DBU: 1, 8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno;

THF: Tetrahidrofurano;

TA: temperatura ambiente.

- 30 En este proceso, 3-bromo-3-buten-2-ona (4-3) reacciona con 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (4-4) en un contenedor al aire libre, lo que da como resultado en 2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona (4-5). 2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona (4-5) se oxida por el oxígeno del aire abierto para convertirse en nafto[2,3-b]furan-4,9-diona (4-6). Con nafto[2,3-b]furan-4,9-diona producido por este proceso. Sin embargo, durante el desarrollo adicional del compuesto, se

determinó que este proceso todavía generaba impurezas significativas que dificultaban las posibles aplicaciones clínicas de estos compuestos. Sin embargo, durante el desarrollo adicional del compuesto, se determinó que este proceso todavía generaba diversas impurezas significativas que dificultaban las posibles aplicaciones clínicas de estos compuestos. En algunas realizaciones, una de las impurezas es 2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona (4-5).

5 En un aspecto, la presente invención proporciona un proceso mejorado para la preparación de naftofurano. El proceso mejorado minimiza las impurezas y, por lo tanto, produce naftofurano sustancialmente puro. Como se usa en este documento, el término "sustancialmente puro" se refiere a una preparación que incluye al menos aproximadamente 80% o más, medida como % de área de HPLC, del compuesto de la presente invención. En algunas realizaciones, el naftofurano es nafto[2,3-b]furan-4,9-diona y sus compuestos relacionados (4-6).

10 En algunas realizaciones, el proceso de la presente invención incluye oxidar el producto crudo de acoplamiento de 3-bromo-3-buten-2-ona (4-3) y 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (4-4) con un agente oxidante en un primer solvente. En una realización adicional, el agente oxidante es dióxido de manganeso (MnO₂). En una realización incluso adicional, el producto crudo se aísla antes de que se oxide. En algunas realizaciones, el primer solvente es tolueno o cloroformo.

15 En algunas realizaciones, el proceso de la presente invención incluye además el tratamiento de la mezcla de oxidación envejecida con carbón para deshacerse de ciertas impurezas. En una realización adicional, la mezcla de oxidación envejecida se filtra con una almohadilla de carbón activado. En una realización incluso adicional, la mezcla se filtra a alrededor de 100°C.

En algunas realizaciones, el proceso de la presente invención incluye además cristalizando el producto del filtrado. En una realización adicional, el producto se cristaliza concentrando el filtrado con evaporación y enfriando.

20 En algunas realizaciones, el proceso de la presente invención incluye además re-cristalizar el producto con un segundo solvente. En una realización adicional, el segundo solvente es acetato de etilo.

25 En una realización alternativa, el proceso de la presente invención incluye además suspender en un segundo solvente el producto cristalizado del primer disolvente, calentar la suspensión y enfriar la suspensión. En una realización adicional, el segundo solvente es acetato de etilo. En algunas realizaciones, el producto se suspende y se calienta solo hasta disolución parcial. En una realización adicional, el volumen del segundo solvente usado para suspender el producto es aproximadamente 1/10, 1/5, 1/4, 1/3, 1/2, o 2/3 del volumen para la disolución completa del producto en la condición calentada.

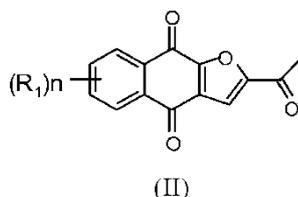
30 La presente invención también proporciona un compuesto de naftofurano preparado mediante el proceso de la presente invención. En algunas realizaciones, el compuesto de naftofurano se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo. En una realización adicional, el compuesto de naftofurano es preparado mediante el proceso que incluye la reacción del producto crudo aislado del acoplamiento de 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (4-4) y 3-Bromo-3-buten-2-ona (4-3) con dióxido de manganeso en presencia de tolueno. En una realización incluso adicional, el proceso incluye además filtrar la mezcla de reacción envejecida con una almohadilla de carbón activado.

En otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos de naftofurano sustancialmente puros.

40 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto sustancialmente puro seleccionado del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo.

45 En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto sustancialmente puro de Fórmula II,

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona un compuesto sustancialmente puro de Fórmula II,



en donde cada R₁ es independientemente H, Cl, o F; y n es 0, 1, 2, 3, o 4.

Como se usa en este documento, "sustancialmente puro" se refiere a una pureza de al menos aproximadamente 80%. En algunas realizaciones, la pureza de un compuesto de la presente invención tiene una pureza de al menos aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95% o aproximadamente 99%. En una realización adicional, la pureza de un compuesto de la presente invención tiene una pureza de al menos aproximadamente del 99.5%, o aproximadamente 99.8%. En una realización incluso adicional, la pureza de un Compuesto de la Invención tiene una pureza de al menos aproximadamente 99.85%, aproximadamente 99.90%, aproximadamente 99.94%, aproximadamente 99.95%, o aproximadamente 99.99%. En algunas realizaciones, el compuesto de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo. En algunas realizaciones, el compuesto de la presente invención es un polimorfo. En algunas realizaciones, el compuesto de la presente invención es un polimorfo de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. En algunas realizaciones, el compuesto de la presente invención es un polimorfo del Compuesto 1.

Las impurezas típicas que pueden estar presentes en un compuesto de la presente invención incluyen una o más seleccionadas del grupo que consiste en subproducto, isómero, intermediario y solvente. En algunas realizaciones, las impurezas que pueden estar presentes en un compuesto de la presente invención son como máximo aproximadamente 10%, aproximadamente 8%, aproximadamente 5%, aproximadamente 2%, o aproximadamente 1% relativa al compuesto de Fórmula II. En una realización adicional, las impurezas que pueden estar presentes en un compuesto de la presente invención son como máximo aproximadamente 0.5%, aproximadamente 0.2%, aproximadamente 0.15%, o aproximadamente 0.1% relativa al compuesto de Fórmula II. En una realización incluso adicional, las impurezas que pueden estar presentes en un compuesto de la presente invención son como máximo aproximadamente 0.05%, aproximadamente 0.02%, o aproximadamente 0.01% con respecto al compuesto de Fórmula II. En algunas realizaciones, el compuesto sustancialmente puro de Formula II tiene como máximo aproximadamente 500, 200, 100, 50, 20, 10, 5, 2, 1, 0.5, 0.2, 0.15, 0.1, o 0 partes por millón (p.p.m.) de subproducto residual o subproductos en relación con el compuesto de Fórmula II.

En algunas realizaciones, las impurezas incluyen uno o más subproductos seleccionados del grupo que consiste en 2-acetil-2,3-dihidronafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2,6-Diacetil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2,7-Diacetil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 3-Acetil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, Nafto[2,3-b]furan-4,9-diol, y 1-(4,9-Dihidroxi-nafto[2,3-b]furan-2-il)-etanon.

En algunas realizaciones, las impurezas incluyen manganeso (Mn).

La pureza de un compuesto de la presente invención se puede determinar con diversos dispositivos. En algunas realizaciones, la pureza se determina con HPLC (Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento). En algunas realizaciones, la pureza se determina con RMN (Resonancia Magnética Nuclear). En una realización adicional, la pureza se determina con HPLC y RMN.

Estas composiciones altamente puras que contienen el Compuesto 1 exhiben un perfil de seguridad significativamente mejorado en experimentos con animales en comparación con composiciones menos puras que contienen el Compuesto 1. No se han observado signos de cualquier efecto adverso del Compuesto 1 altamente puro en ratones. Además, estas composiciones altamente puras que contienen el Compuesto 1 se han probado en pacientes y han demostrado una seguridad excepcional. Por ejemplo, la Figura 13 ilustra la toxicidad observada con una composición con aproximadamente 90% de pureza para el Compuesto 1, mientras que la Figura 14 ilustra que las composiciones altamente puras que tienen aproximadamente 95% o más de pureza para el Compuesto 1 son seguras y efectivas. En el estudio mostrado en la Figura 13, a los ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu subcutáneo establecido (panel superior) o cáncer de mama humano MDA-231 (panel inferior) se les proporcionó la cantidad indicada de Compuesto 1 o control del vehículo por vía oral (po). El Compuesto 1 se formuló en GELUCIRE™. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). Los pesos corporales se evaluaron periódicamente durante el tratamiento. Cada punto representa la media ± SEM de ocho tumores. Se observó toxicidad significativa con aproximadamente 90% de Compuesto 1 puro. Un total de 4 ratones murieron durante el tratamiento en el primer experimento (panel superior) (uno el día 16, 2 el día 19 y 1 el día 23) y sus pesos corporales, por lo tanto, no se

incluyeron en la gráfica después de su muerte. Un total de 3 ratones murieron durante el tratamiento en el segundo experimento (panel inferior) (1 el día 14 y 2 el día 21) y, por lo tanto, sus pesos corporales no se incluyeron en la gráfica después de su muerte. En el estudio mostrado en la Figura 14, los ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu subcutáneo establecido (panel superior) o cáncer de mama humano MDA-231 (panel inferior) recibieron la cantidad indicada de Compuesto 1 o control del vehículo por vía oral (po). El Compuesto 1 se formuló en GELUCIRE™. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd). Los pesos corporales se evaluaron periódicamente durante el tratamiento. Cada punto representa la media \pm SEM de ocho tumores. El compuesto 1 con mayor pureza fue bien tolerado y no mostró signos de toxicidad. Todos los ratones se mantuvieron sanos durante todo el tratamiento en ambos experimentos. En un estudio de Fase I, la dosis del Compuesto 1 se incrementó de 20 mg a 2000 mg/día, y no se alcanzó una dosis máxima tolerada (MTD). No se observó toxicidad limitante de la dosis. Los pacientes toleraron muy bien el Compuesto 1 sin efectos adversos inducidos por fármacos, lo que contrasta notablemente con la quimioterapia contra el cáncer. El perfil de seguridad clínica de las composiciones sustancialmente puras del Compuesto 1 está entre los mejores para los fármacos oncológicos en la historia.

Formulaciones farmacéuticas

Se descubrió que ciertos excipientes o potenciadores aumentan la biodisponibilidad oral de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I de una distribución de tamaño de partícula dada en una formulación farmacéutica. Por ejemplo, la adición del excipiente farmacéuticamente compatible GELUCIRE™ 44/14 (un polietilenglicol gliceril laurato producido por Gattefossé) puede aumentar la biodisponibilidad del Compuesto 1 que tiene un tamaño medio de partícula de menos de aproximadamente 20 micrones. Los ejemplos de otros excipientes que pueden usarse para mejorar o controlar la biodisponibilidad oral incluyen surfactantes, tales como TWEEN 80™ o TWEEN 20™ (un polisorbato, es decir, un monolaurato de polioxietilensorbitán) o ciertos lípidos, tales como fosfatidilcolinas, por ejemplo, dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC). Los surfactantes incluyen compuestos que son anfifílicos y contienen tanto grupos hidrófobos como hidrofílicos. Otros excipientes pueden incluir, por ejemplo, un éster de glicerol de un ácido graso, un éster de glicerol de un ácido graso saturado, un éster de glicerol de un ácido graso saturado que tiene de 8 a 18 carbonos, laurato de glicerilo, polietilenglicol, un alquilato de polioxietileno sorbitan, celulosa o derivados de celulosa, tales como celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa (CMC), así como lípidos, tales como esteroides, por ejemplo, colesterol. Otros excipientes pueden incluir antioxidantes, tales como vitamina E. Se pueden incluir otros excipientes y componentes adicionales en una formulación farmacéutica de acuerdo con la presente invención, como apreciará un experto en la técnica. Por ejemplo, se pueden incluir otros agentes activos, vehículos estándar, vehículos, vehículos líquidos, soluciones salinas, soluciones acuosas, diluyentes, agentes con actividad de superficie, agentes dispersantes, diluyentes inertes, agentes granulantes y disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, deslizantes, agentes de descarga, agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes, conservantes, composiciones fisiológicamente degradables tales como gelatina, vehículos y solventes acuosos, vehículos y solventes oleosos, agentes de suspensión, agentes dispersantes o humectantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, emolientes, reguladores, sales, agentes espesantes, gelatinas, agentes de relleno, agentes emulsionantes, antioxidantes, antibióticos, agentes antifúngicos, agentes estabilizadores, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes retardantes de la cristalización (por ejemplo, retardar la cristalización de un azúcar), almidones, azúcares, sacarosa, agentes con actividad de superficie, agentes para aumentar la solubilidad de cualquier otro ingrediente, tal como un polihidroxi alcohol, por ejemplo, glicerol o sorbitol, materiales poliméricos o hidrófobos farmacéuticamente aceptables, y otros componentes. El agente o agentes adicionales apropiados para agregar dependerán de la forma de dosificación (por ejemplo, solución inyectable, cápsula o píldora), como apreciará un experto en la técnica.

El compuesto de acuerdo con la Fórmula I de la presente invención se puede formular en "composiciones farmacéuticas". Las realizaciones de acuerdo con la presente invención incluyen diversas formas de dosificación que incluyen un compuesto, que puede ser útil, por ejemplo, para tratar a un paciente. Por ejemplo, las formas de dosificación oral pueden incluir una tableta, píldora, cápsula (dura o blanda), capsuleta, polvo, gránulo, suspensión (por ejemplo, en un vehículo acuoso u oleoso), solución (por ejemplo, en un vehículo acuoso u oleoso), gel, sello, trocillo, pastilla, jarabe, elixir, emulsión, gragea, emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite. Debido a su facilidad de administración, las tabletas y las cápsulas pueden representar una dosificación oral preferida. Las formas de dosificación orales sólidas pueden recubrirse con azúcar o recubrirse entericamente por técnicas estándar. Por ejemplo, las formulaciones de pulverizadores nasales y otras mucosas (por ejemplo, formas inhalables) pueden incluir soluciones acuosas purificadas de los compuestos activos con agentes conservantes y agentes isotónicos. Tales formulaciones se ajustan preferiblemente a un pH y un estado isotónico compatible con las membranas nasales u otras membranas mucosas. Alternativamente, pueden estar en forma de polvos sólidos finamente divididos suspendidos en un portador de gas, de un inhalante o de un aerosol. Tales formulaciones pueden suministrarse por cualquier medio o método adecuado, por ejemplo, mediante nebulizador, atomizador, inhalador de dosis medida o similar. Por ejemplo, una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención se puede administrar tópicamente, por ejemplo, en forma de una pomada, crema o supositorio. Por ejemplo, una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención se puede administrar inyectando un inyectante. De este modo, una forma de dosificación de acuerdo con la presente invención puede tener, por ejemplo, una forma sólida, semisólida, líquida o gaseosa. Las formas de dosificación adecuadas incluyen, pero no se limitan a, administración oral, rectal, sublingual, mucosa, nasal, oftálmica, subcutánea, intramuscular, intravenosa, parenteral, transdérmica, espinal, intratecal,

5 intraarticular, intraarterial, subaracida, bronquial, linfática e intrauterina, y otras formas de dosificación para administración sistémica de ingredientes activos. Un ingrediente activo, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I puede estar contenido en una formulación que proporciona liberación rápida, liberación sostenida, liberación retardada o cualquier otro perfil de liberación conocido por un experto en la técnica después de la administración a un sujeto (paciente). El modo de administración y la forma de dosificación seleccionados para un tratamiento dado están estrechamente relacionados con las cantidades terapéuticas de los compuestos o composiciones que son deseables y eficaces para la aplicación de tratamiento dada, así como factores tales como el estado mental y la condición física del sujeto (paciente).

10 Una composición farmacéutica de la invención se puede preparar, empaquetar o vender a granel, como una única dosis unitaria, como una pluralidad de dosis unitarias únicas, o en una forma de dosis múltiple. Como se usa en este documento, una "dosis unitaria" es una cantidad discreta de la composición farmacéutica que incluye una cantidad predeterminada del ingrediente activo. La cantidad de ingrediente activo en cada dosis unitaria generalmente es igual a la cantidad total del ingrediente activo que se administraría o una fracción conveniente de una cantidad de dosificación total tal como, por ejemplo, la mitad o un tercio de tal dosificación. Una formulación de una composición farmacéutica de la invención adecuada para administración oral puede estar en forma de una unidad de dosificación sólida discreta. Cada unidad de dosificación sólida contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo, por ejemplo una dosis unitaria o fracción de la misma. Como se usa en el presente documento, un líquido "oleoso" es uno que incluye un líquido basado en carbono o silicio que es menos polar que el agua. En tales formas de dosificación farmacéutica, el agente activo preferiblemente se utiliza junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables por lo tanto y opcionalmente cualesquiera otros ingredientes terapéuticos. Los vehículos deben ser farmacéuticamente aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no indebidamente perjudiciales para el receptor de la misma. Las composiciones de la presente invención se pueden proporcionar en forma de dosificación unitaria, en donde cada unidad de dosificación, por ejemplo, una cucharilla, tableta, cápsula, solución o supositorio, contiene una cantidad predeterminada del fármaco o profármaco activo, solo o en combinación apropiada con otros agentes farmacéuticamente activos. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de la composición de la presente invención, sola o en combinación con otros agentes activos, calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado

30 Las formas de dosificación de la presente composición farmacéutica se pueden preparar mediante técnicas conocidas en la técnica y contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o ingrediente activo. Cualquier técnica conocida o desarrollada en lo sucesivo puede usarse para la preparación de composiciones farmacéuticas o formulaciones de acuerdo con la invención. En general, la preparación incluye poner el ingrediente activo en asociación con un vehículo o uno o más componentes adicionales, y luego, si es necesario o deseable, conformar o empaquetar el producto en una unidad deseada de dosis únicas o múltiples. Las formulaciones pulverulentas y granulares de acuerdo con la invención se pueden preparar usando métodos o métodos conocidos para desarrollar. Tales formulaciones pueden administrarse directamente a un sujeto, o usarse, por ejemplo, para formar tabletas, llenar cápsulas o preparar una suspensión o solución acuosa u oleosa mediante la adición de un vehículo acuoso u oleoso a la misma. Una tableta se puede hacer por compresión o moldeo, o por granulación en húmedo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar comprimiendo, en un dispositivo adecuado, el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o una preparación granular. Las tabletas moldeadas pueden prepararse moldeando, en un dispositivo adecuado, una mezcla del ingrediente activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable, y al menos suficiente líquido para humedecer la mezcla. Las tabletas pueden ser no recubiertas, o pueden recubrirse usando métodos conocidos en la técnica o métodos a desarrollar. Las tabletas recubiertas se pueden formular para la desintegración retrasada en el tracto gastrointestinal de un sujeto, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento entérico, proporcionando de este modo la liberación sostenida y la absorción del ingrediente activo. Las tabletas pueden incluir además ingredientes para proporcionar una preparación farmacéuticamente elegante y apetecible. Las cápsulas duras que incluyen el ingrediente activo pueden prepararse usando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina. Tales cápsulas duras incluyen el ingrediente activo. Las cápsulas de gelatina blanda que incluyen el ingrediente activo pueden prepararse usando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina. Tales cápsulas blandas incluyen el ingrediente activo, que puede mezclarse con agua o un medio oleoso. Las formulaciones líquidas de una composición farmacéutica de la invención que son adecuadas para administración pueden prepararse, empaquetarse y venderse en forma líquida o en forma de un producto seco destinado a la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Las suspensiones líquidas, en las que el ingrediente activo se dispersa en un vehículo acuoso u oleoso, y las soluciones líquidas, en las que el ingrediente activo se disuelve en un vehículo acuoso u oleoso, se pueden preparar usando métodos o métodos convencionales a desarrollar. La suspensión líquida del ingrediente activo puede estar en un vehículo acuoso u oleoso. Las soluciones líquidas del ingrediente activo pueden estar en un vehículo acuoso u oleoso. Para preparar tales formas de dosificación farmacéutica, un ingrediente activo, por ejemplo, un naftofurano, puede mezclarse íntimamente con un vehículo farmacéutico de acuerdo con técnicas de combinación farmacéutica convencionales. El portador puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales.

En algunas realizaciones de acuerdo con la presente invención, un ítem de fabricación incluye un recipiente que contiene una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que incluye un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. El recipiente puede incluir un excipiente farmacéuticamente aceptable. El recipiente puede incluir instrucciones impresas de etiquetado. Por ejemplo, el etiquetado impreso puede indicar la dosificación y la frecuencia con que debe administrarse la composición farmacéutica, y si la composición debe administrarse con alimentos o dentro de un período de tiempo definido antes o después de la ingestión de alimentos. La composición puede estar contenida en cualquier recipiente adecuado capaz de contener y dispensar la forma de dosificación que no interaccionará significativamente con la composición. Las instrucciones de etiquetado pueden ser consistentes con los métodos de tratamiento descritos en este documento. El etiquetado puede asociarse con el recipiente por un medio que mantenga una proximidad física de los dos. A modo de ejemplo no limitante, el recipiente y el etiquetado pueden estar contenidos en un material de empaquetado, tal como una caja o una envoltura de encogimiento plástico, o pueden asociarse con las instrucciones que se unen al recipiente, como con pegamento que no oculta las instrucciones de etiquetado u otros medios de unión o retención.

Procesos para hacer formulaciones farmacéuticas que tienen una distribución de tamaño de partícula seleccionada y que identifican una distribución de tamaño de partícula óptima

Procesos de molienda

En un método de acuerdo con la presente invención, se puede usar un proceso de molienda o trituración para reducir el tamaño de partículas de un ingrediente o compuesto activo de acuerdo con la Fórmula I. Por ejemplo, un proceso de molienda o trituración puede ser adecuado para producir partículas que tienen un tamaño mediano de 200 μm , 150 μm , 100 μm , 40 μm , 20 μm , 5 μm , 2 μm o mayor o menor tamaño. Tal proceso de molienda o trituración puede incluir, por ejemplo, molienda con bolas, molienda con rodillos, molienda por chorro, molienda en húmedo, molienda ultrasónica, trituración y combinaciones. Por ejemplo, el proceso puede reducir el tamaño de partícula al impactar partículas con una superficie dura, o al someter las partículas a alta presión, por ejemplo, exprimir una partícula entre dos superficies. Por ejemplo, en el molino de chorro, una corriente de gas arrastra partículas y las acelera a altas velocidades. Las partículas luego impactan otras partículas y paredes y se fracturan en partículas más pequeñas. Por ejemplo, en la molienda en húmedo, las partículas se combinan con un líquido, y la suspensión espesa resultante se pasa a través de un mezclador de alto cizallamiento para fracturar las partículas. Por ejemplo, en la molienda ultrasónica, las partículas, por ejemplo, en una suspensión, se exponen a radiación ultrasónica. La cavitación inducida por el ultrasonido puede fracturar las partículas en partículas de menor tamaño.

Puede ser ventajoso reducir la temperatura de las partículas antes de someterlas a la operación de molienda o trituración. Por ejemplo, la temperatura puede reducirse a una temperatura criogénica, por ejemplo, exponiendo las partículas o sumergiéndolas en un fluido criogénico, tal como nitrógeno líquido. Tal disminución de la temperatura puede hacer que las partículas sean más frágiles y más susceptibles de tener su tamaño reducido en la operación de molienda o trituración. Después del proceso de molienda o trituración, se puede usar un proceso de selección, tal como el tamizado, para reducir el rango de tamaños de partículas.

Proceso de cristalización

La cristalización es la principal etapa de separación y purificación para la fabricación de sustancias fármaco. La cristalización también se puede utilizar para controlar el tamaño de partícula. La distribución del tamaño de partícula (PSD) obtenida durante la cristalización está influenciada por una combinación de diversos mecanismos que ocurren durante la cristalización, tal como nucleación, crecimiento, agregación, atrición, rotura, etc. El control de PSD durante la cristalización es crítico para lograr las propiedades deseadas del producto. Cuando el tamaño de partícula no se puede controlar consistentemente durante la cristalización para cumplir las especificaciones deseadas, se puede incluir una etapa de procesamiento adicional tal como la molienda en seco. (Baat, et al Crystallization: Particle Size Control, Encyclopedia of Pharmaceutical Technology: Third Edition, Published on 02 October 2006)

Métodos para el tratamiento del cáncer

Un método de acuerdo con la presente invención para tratar, retrasar la progresión de, prevenir una recaída, aliviar un síntoma de, o mejorar de otro modo un sujeto humano, mamífero o animal afectado con una neoplasia incluye administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica incluyendo partículas de una distribución de tamaños predeterminada, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I tal como el Compuesto 1, un compuesto puro, un producto puro y/o una composición farmacéutica pura, de modo que el crecimiento volumétrico de la neoplasia se ralentiza, el volumen de crecimiento de la neoplasia se detiene, la neoplasia disminuye en volumen y/o se mata una neoplasia cancerosa. Algunos ejemplos de tipos de neoplasias que pueden ser susceptibles de tratamiento mediante este método incluyen tumores sólidos, tumores malignos, cánceres, tumores metastásicos, neoplasias que incluyen células madre cancerosas, neoplasias en los que está implicada la ruta STAT3, carcinomas y sarcomas. Una lista no exhaustiva de cánceres que pueden ser susceptibles de tratamiento mediante la administración de partículas de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I incluye lo siguiente: cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma colorrectal, cáncer de

próstata, melanoma, sarcoma, cáncer de hígado, tumor cerebral, leucemia, mieloma múltiple, cáncer gástrico y linfoma. La vía STAT3 puede estar implicada en estos cánceres. Una lista no exhaustiva de cánceres que pueden ser susceptibles de tratamiento mediante la administración de partículas de, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I incluye lo siguiente: cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de pulmón, melanoma y meduloblastoma. La vía CSC puede estar implicada en estos cánceres. Una lista no exhaustiva de otros cánceres que pueden ser susceptibles de tratamiento mediante la administración de partículas de, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I incluye lo siguiente: cáncer de pulmón, cáncer de cuello uterino, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, cáncer de esófago, glioma, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de páncreas, cáncer de endometrio, cáncer de tiroides, cáncer de ductos biliares, cáncer de huesos, cáncer de ojo (retinoblastoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer pituitario, cáncer de recto, cáncer de glándula salival y cáncer nasofaríngeo.

Células madre del cáncer

En los últimos años, un nuevo modelo de tumorigénesis ha ganado amplia aceptación, donde se hipotetiza que solo una pequeña fracción de la masa tumoral entera es responsable de las actividades tumorígenas dentro del tumor, mientras que el modelo genético antiguo o clonal postula que todas las células tumorales mutadas contribuyen igualmente a tales actividades tumorígenas. Esta pequeña fracción de células tumorígenas, de acuerdo con el nuevo modelo, son células transformadas con cualidades parecidas a las células madre y se denominan "células madre del cáncer" (CSCs). Bonnet y Dick demostraron por primera vez, in vivo, la presencia de las CSC en la leucemia mieloide aguda (AML) durante los años noventa. Sus datos mostraron que solo una pequeña subpoblación de células AML humanas tenía la capacidad de transferir AML cuando se trasplantaba a ratones inmunodeficientes, mientras que otras células AML eran incapaces de inducir leucemia. Más tarde, estas CSC mostraron tener los mismos marcadores celulares, CD34+/CD38-, que las células madre hematopoyéticas primitivas. (Bonnet, D., Normal y leukaemic stem cells. *Br J Haematol*, 2005. 130(4): p. 469-79). Desde entonces, los investigadores han encontrado las CSC de forma concluyente en diversos tipos de tumores, incluidos los del cerebro, mama, piel, próstata, cáncer colorrectal, y así sucesivamente.

El modelo CSC de tumorigénesis explicaría por qué se deben inyectar decenas o cientos de miles de células tumorales en un animal experimental para establecer un trasplante tumoral. En la AML humana, la frecuencia de estas células es inferior a 1 en 10.000. (Bonnet, D. y J.E. Dick, Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*, 1997. 3(7): p. 730-7). Aunque es raro dentro de una determinada población de células tumorales, existe una creciente evidencia de que tales células existen en casi todos los tipos de tumores. Sin embargo, a medida que las líneas celulares cancerosas se seleccionan de una subpoblación de células cancerosas que están específicamente adaptadas para crecer en un cultivo tisular, las propiedades biológicas y funcionales de las líneas celulares cancerígenas pueden experimentar cambios dramáticos. Por lo tanto, no todas las líneas de células cancerosas contienen CSCs.

Las células madre de cáncer comparten muchos rasgos similares con las células madre normales. Por ejemplo, las CSC tienen capacidad de autorrenovación, es decir, la capacidad de dar lugar a células madre tumorales cancerígenas adicionales, por lo general a una tasa más lenta que otras células tumorales en división, a diferencia de un número limitado de divisiones. Las CSC también tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples tipos de células, lo que explicaría la evidencia histológica de que no solo muchos tumores contienen múltiples tipos de células nativas del órgano huésped, sino también que la heterogeneidad se retiene comúnmente en las metástasis tumorales. Se ha demostrado que las CSC son fundamentalmente responsables de la tumorigénesis, la metástasis del cáncer y la reaparición del cáncer. Las CSC también se llaman células iniciadoras de tumores, células parecidas a las células madre del cáncer, células cancerígenas similares a las células madre, células altamente tumorígenicas, células madre tumorales, células madre tumorales sólidas o células súper malignas.

La existencia de células madre cancerígenas tiene implicaciones fundamentales para tratamientos y terapias contra el cáncer en el futuro. Estas implicaciones se manifiestan en la identificación de la enfermedad, direccionamiento selectivo del fármaco, la prevención de la metástasis y la recurrencia del cáncer y el desarrollo de nuevas estrategias para combatir el cáncer.

La eficacia de los tratamientos de cáncer actuales está, en las etapas iniciales de prueba, frecuentemente medida por el tamaño de la contracción del tumor, es decir, la cantidad de masa tumoral eliminada. Como las CSC formarán una proporción muy pequeña del tumor y tienen características biológicas marcadamente diferentes a sus progenies más diferenciadas, la medición de la masa tumoral puede no necesariamente seleccionar fármacos que actúen específicamente sobre las células madre. De hecho, las células madre cancerosas parecen ser resistentes a la radioterapia (XRT) y también refractarias a los fármacos quimioterapéuticos y direccionados. (Hambardzumyan, D., M. Squatrito, y E.C. Holland, Radiation resistance y stem-like cells in brain tumors. *Cancer Cell*, 2006. 10(6): p. 454-6; Baumann, M., M. Krause, y R. Hill, Exploring the role of cancer stem cells in radioresistance. *Nat Rev Cancer*, 2008. 8(7): p. 545-54; Ailles, L.E. y I.L. Weissman, Cancer stem cells in solid tumors. *Curr Opin Biotechnol*, 2007. 18(5): p. 460-6). Las células madre somáticas normales son naturalmente resistentes a los agentes quimioterapéuticos: tienen diversas bombas (tal como MDR) que bombean fármacos y proteínas de reparación del ADN. Además, también tienen

una tasa lenta de renovación celular, mientras que los agentes quimioterapéuticos se dirigen a las células que se replican rápidamente. Las células madre del cáncer, al ser las contrapartes mutadas de las células madre normales, también pueden tener mecanismos similares que les permitan sobrevivir a las terapias farmacológicas y al tratamiento con radiación. En otras palabras, las quimioterapias y radioterapias convencionales matan células diferenciadas o diferenciadoras, que forman la mayor parte del tumor que no puede generar nuevas células madre cancerígenas altamente cancerígenas. La población de células madre cancerígenas que dieron origen a las células diferenciadas y diferenciadoras, por otro lado, podría permanecer intacta y causar una recaída de la enfermedad. Otro peligro para la terapia anticancerosa convencional es la posibilidad de que el tratamiento quimioterapéutico solo deje células madre de cáncer resistentes a la quimioterapia, y el tumor recurrente resultante probablemente también sea resistente a la quimioterapia.

Dado que las células madre cancerígenas sobrevivientes pueden repoblar el tumor y causar una recaída, es imperativo que las terapias contra el cáncer incluyan estrategias contra las CSC (véase la Figura 18). Esto es similar a eliminar las raíces para evitar que los dientes de león vuelvan a crecer, incluso si se ha cortado la masa a nivel del suelo de la maleza. (Jones, R.J., W.H. Matsui, y B.D. Smith, Cancer stem cells: are we missing the target? *J Natl Cancer Inst*, 2004. 96(8): p. 583-5). Al direccionar selectivamente hacia las células madre del cáncer, es posible tratar a pacientes con tumores agresivos, no resecables y cánceres refractarios o recurrentes, así como a prevenir la metástasis y la recurrencia del tumor. El desarrollo de terapias específicas direccionadas hacia las células madre del cáncer puede mejorar la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con cáncer, especialmente para los que padecen cáncer metastásico. La clave para desbloquear este potencial sin explotar es la identificación y validación de vías que son selectivamente importantes para la autorrenovación y la supervivencia de las células madre del cáncer. Desafortunadamente, aunque en el pasado se elucidaron múltiples vías subyacentes a la tumorigénesis en el cáncer o la autorrenovación en células madre embrionarias y adultas, se han identificado y validado muy pocas vías para la autorrenovación y supervivencia de células madre cancerosas.

También ha habido mucha investigación sobre la identificación y el aislamiento de las células madre del cáncer. Los métodos utilizados explotan principalmente la capacidad de las CSC para efluir fármacos, o se basan en la expresión de marcadores de superficie asociados con células madre de cáncer.

Por ejemplo, dado que las CSC son resistentes a muchos agentes quimioterapéuticos, no es sorprendente que las CSC sobreexpresen casi en exceso bombas de eflujo de fármacos tales como ABCG2 (BCRP-1) (Ho, M.M., et al., Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res*, 2007. 67(10): p. 4827-33; Wang, J., et al., Identification of cancer stem cell-like side population cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line. *Cancer Res*, 2007. 67(8): p. 3716-24; Haraguchi, N., et al., Characterization of a side population of cancer cells from human gastrointestinal system. *Stem Cells*, 2006. 24(3): p. 506-13; Doyle, L.A. y D.D. Ross, Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene*, 2003. 22(47): p. 7340-58; Alvi, A.J., et al., Functional y molecular characterisation of mammary side population cells. *Breast Cancer Res*, 2003. 5(1): p. R1-8), y other ATP binding cassette (ABC) superfamily members (Frank, N.Y., et al., ABCB5-mediated doxorubicin transport y chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res*, 2005. 65(10): p. 4320-33; Schatton, T., et al., Identification of cells initiating human melanomas. *Nature*, 2008. 451(7176): p. 345-9). En consecuencia, la técnica de población lateral (SP), originalmente utilizada para enriquecer células madre hematopoyéticas y leucémicas, también se empleó para identificar y aislar las CSC. (Kondo, T., T. Setoguchi, y T. Taga, Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004. 101(3): p. 781-6). Esta técnica, descrita por primera vez por Goodell et al., aprovecha el flujo de salida diferencial dependiente del transportador ABC de tintes fluorescentes tales como Hoechst 33342 para definir y aislar una población celular enriquecida en CSC (Doyle, L.A. y D.D. Ross, Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene*, 2003. 22(47): p. 7340-58; Goodell, M.A., et al., Isolation y functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med*, 1996. 183(4): p. 1797-806). Específicamente, el SP se revela bloqueando el eflujo del fármaco con verapamilo, en cuyo punto los colorantes ya no se pueden bombear fuera del SP.

Los investigadores también se han centrado en encontrar marcadores específicos que distingan las células madre cancerosas de la mayor parte del tumor. Los marcadores de superficie más comúnmente expresados por las células madre cancerosas incluyen CD44, CD133 y CD166. (Collins, A.T., et al., Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res*, 2005. 65(23): p. 10946-51; Li, C., et al., Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res*, 2007. 67(3): p. 1030-7; Ma, S., et al., Identification y characterization of tumorigenic liver cancer stem/progenitor cells. *Gastroenterology*, 2007. 132(7): p. 2542-56; Prince, M.E., et al., Identification of a subpopulation of cells with cancer stem cell properties in head y neck squamous cell carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007. 104(3): p. 973-8; Ricci-Vitiani, L., et al., Identification y expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature*, 2007. 445(7123): p. 111-5; Singh, S.K., et al., Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res*, 2003. 63(18): p. 5821-8; Dalerba, P., et al., Phenotypic characterization of human colorectal cancer stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007. 104(24): p. 10158-63). La clasificación de células tumorales basada principalmente en la expresión diferencial de estos marcadores de superficie ha representado la mayoría de las CSC altamente tumorigénicas descritas hasta la fecha. Por lo tanto, estos marcadores de superficie están bien validados para la

identificación y aislamiento de células madre cancerosas de las líneas celulares cancerosas y de la mayor parte de los tejidos tumorales.

Estudios recientes han descubierto la presencia de células madre cancerosas (CSC) con una capacidad exclusiva para regenerar tumores. Estas CSC existen en casi todos los tipos de tumores y están funcionalmente relacionados con el crecimiento maligno continuo, la metástasis del cáncer, la recurrencia y la resistencia a los medicamentos contra el cáncer. Las CSC y sus progenies más diferenciadas parecen tener características biológicas marcadamente diferentes. Los exámenes de detección de cáncer convencionales dependen de la medición de la cantidad de masa tumoral, por lo tanto, es posible que no necesariamente seleccionen fármacos que actúen específicamente sobre las CSC. De hecho, se ha demostrado que las CSC son resistentes a las quimioterapias y la radioterapia estándar, y se enriquecen después de los tratamientos estándar contra el cáncer, que resultan en refractarios y recidivas del cáncer. Los métodos para aislar estas células incluyen, pero no se limitan a, identificación por su capacidad de eflujo Hoechst 33342, identificación por los marcadores de superficie que expresan estas células, tales como CD133, CD44, CD166, y otros, y enriquecimiento por su propiedad tumorigénica. La creciente evidencia que une a las células madre del cáncer con la tumorigénesis desenreda una enorme oportunidad terapéutica de direccionar hacia las células madre del cáncer.

Los datos proporcionados en este documento, combinados con avances recientes en la investigación de las CSC, permiten que la presente invención proporcione una serie de métodos dirigidos a inhibir las CSC, métodos dirigidos a inhibir tanto CSC como células cancerosas heterogéneas, y métodos de tratamiento de cánceres que tienen CSC en cánceres específicos o en general. La presente invención también proporciona métodos relacionados (por ejemplo, fabricación y selección de fármaco candidato), materiales, composiciones y kits. El método puede evitar que las CSC se auto-renueven, de modo que ya no puede reponer sus números dividiéndose en células CSC tumorígenas. O bien, el método puede inducir la muerte celular en CSC, o tanto en CSC como en células cancerosas heterogéneas.

Este método se puede usar para tratar el cáncer de un sujeto. Los cánceres que son buenos candidatos para tal tratamiento incluyen, pero no se limitan a: cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma colorrectal, cáncer de próstata, carcinoma de células renales, melanoma, carcinomas hepatocelulares, cáncer de cuello uterino sarcomas, tumores cerebrales, cánceres gástricos, mieloma múltiple, leucemia y linfomas. En algunas realizaciones, el método se usa para tratar cánceres de hígado, cáncer de cabeza y cuello, cánceres de páncreas y/o cánceres gástricos. En algunas realizaciones, el método se usa para tratar el mieloma múltiple, tumores cerebrales y sarcomas.

Además, como se ha demostrado que las CSC son fundamentalmente responsables de la tumorigénesis, metástasis del cáncer y reaparición del cáncer, se pueden practicar todos los métodos de la invención dirigidos a inhibir las CSC, o tanto CSC como células cancerosas heterogéneas, para tratar el cáncer metastásico refractario a una quimioterapia o radioterapia, o ha recaído en el sujeto después de un tratamiento inicial.

En algunas realizaciones, el inhibidor de células madre cancerosas de acuerdo con la presente invención es: un compuesto de Fórmula 1, el Compuesto 1, un polimorfo de Compuesto 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2 θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2 θ y cualesquier combinaciones de los mismos, 2-(1-hidroxi-etil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo; un polimorfo de un compuesto de Fórmula 1, el Compuesto 1, un polimorfo del Compuesto 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2 θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2 θ , un

- pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos, 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo; o una forma sustancialmente pura de un compuesto de Fórmula 1, el Compuesto 1, un polimorfo del Compuesto 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 1, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 2, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 10.2 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 11.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.1 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 14.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 17.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 22.2 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.1 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X sustancialmente similar al expuesto en la Figura 3, un polimorfo de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizado por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos desde un pico al menos a aproximadamente 7.5 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 9.9 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 12.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 15 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 23.3 grados 2θ , un pico al menos a aproximadamente 24.6 grados 2θ , y un pico al menos a aproximadamente 28.4 grados 2θ y cualesquier combinaciones de los mismos, 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo; una forma de partícula de 2-(1-hidroxietil)-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-cloro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetil-7-fluoro-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona, 2-etil-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona, mono-[1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil]éster de ácido fosfórico, 1-(4,9-dioxo-3a,4,9,9a-tetrahidro-nafto[2,3-b]furan-2-il)-vinil éster dimetil éster de ácido fosfórico, un enantiómero, diastereómero, tautómero, y una sal o solvato del mismo (también denominado aquí como el "Compuesto de la Invención").
- La presente invención proporciona un método para identificar un candidato a fármaco capaz de inhibir una célula madre de cáncer. En algunas realizaciones, el candidato a fármaco es capaz de inducir la muerte celular en CSC o, al menos, inhibir su autorrenovación. En una realización adicional, el candidato a fármaco es capaz de inducir la muerte celular en CSC o, al menos, inhibir su autorrenovación e inducir la muerte celular en células cancerosas heterogéneas. Diversas fases en la ruta pueden ser dirigidas para seleccionar al candidato a fármaco.
- Por consiguiente, en otro aspecto, el Compuesto de la Invención se puede usar para formular una composición farmacéutica para tratar o prevenir trastornos o condiciones. Algunos de los trastornos incluyen, pero no se limitan a: enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias, enfermedades inflamatorias del intestino, artritis, trastorno desmielinizante autoinmune, enfermedad de Alzheimer, apoplejía, lesión por reperusión de isquemia y esclerosis múltiple. Algunos de los trastornos son cánceres e incluyen, pero no se limitan a: diversos tipos de cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, carcinoma colorrectal, cáncer de próstata, carcinoma de células renales, melanoma, carcinomas hepatocelulares, cánceres cervicales, sarcomas, tumores cerebrales, cánceres gástricos, mieloma múltiple, leucemia y linfomas.
- De acuerdo con esto, en un aspecto, la presente invención proporciona un método para inhibir células madre de cáncer en el que se administra una cantidad efectiva del Compuesto de la Invención a las células. Los cánceres que se sabe que tienen CSC son buenos candidatos para tales tratamientos, e incluyen pero no están limitados a: diversos tipos de cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, adenocarcinoma colorrectal, cáncer de próstata, cáncer de hígado, melanoma, mieloma múltiple, tumores cerebrales, sarcomas, meduloblastoma y leucemia.
- Además, como se ha demostrado que las CSC son fundamentalmente responsables de la tumorigénesis, la metástasis del cáncer y la reaparición del cáncer, cualquier método de la invención dirigido a inhibir las CSC se puede practicar

para tratar el cáncer que sea metastásico, refractario a una quimioterapia o radioterapia, o ha recaído en el sujeto después de un tratamiento inicial.

5 En algunas realizaciones del método, el cáncer que se está tratando se selecciona del siguiente grupo: cáncer de hígado, cáncer de colon, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer renal, sarcoma, mieloma múltiple, cáncer de mama metastásico, cáncer de próstata metastásico, leucemia, linfoma, cáncer de esófago pancreático, tumor cerebral, glioma, cáncer de vejiga, cáncer de endometrio, cáncer de tiroides, cáncer de ductos biliares, cáncer de huesos, cáncer de ojo (retinoblastoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer pituitario, cáncer rectal, cáncer de glándula salival y cáncer nasofaríngeo.

10 En un aspecto, la presente invención proporciona un método para tratar el cáncer en un sujeto, en el que se administra al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica que incluye el Compuesto de la Invención. El cáncer puede ser metastásico. El sujeto puede ser un mamífero, por ejemplo, un ser humano.

15 El tratamiento por administración de partículas de, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I a un sujeto (paciente) que padece una neoplasia puede estar indicado para las siguientes condiciones. La neoplasia puede ser refractaria al tratamiento con quimioterapia, radioterapia o terapia hormonal. La neoplasia puede no ser susceptible de resección quirúrgica. La neoplasia puede haber recaído en el sujeto (paciente). Las células madre de cáncer han sido implicadas en la recaída de neoplasias; matar las células madre cancerosas o inhibir su autorrenovación mediante un método de acuerdo con la presente invención puede evitar que la neoplasia se regenere a sí misma. El tratamiento mediante la administración de partículas de naftofurano puede ralentizar o detener el crecimiento volumétrico de una neoplasia o disminuir el volumen de una neoplasia, por ejemplo, induciendo la muerte de, inhibiendo el crecimiento y/o división de, y/o matando selectivamente células neoplásicas. Por ejemplo, un tratamiento de acuerdo con la presente invención puede inducir la muerte celular de una célula de la neoplasia. Por ejemplo, el tratamiento puede actuar para inhibir la ruta STAT3 de una célula neoplásica.

25 El tratamiento por administración de partículas de, por ejemplo, un compuesto de la Invención a un sujeto (paciente) que padece una neoplasia se puede usar para prevenir la recaída de una neoplasia y/o como una terapia adyuvante para la resección quirúrgica.

Una composición farmacéutica que incluye partículas de, por ejemplo, un Compuesto de la Invención se puede administrar por vía oral, ya que esta es una forma conveniente de tratamiento. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede administrarse por vía oral no más de cuatro veces por día. Alternativamente, la composición farmacéutica puede administrarse por vía intravenosa o intraperitoneal.

30 En un método de acuerdo con la presente invención, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención puede ser una dosis diaria total en el rango de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 2000 mg, aproximadamente 100 mg. aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 160 mg a aproximadamente 1400 mg, o de aproximadamente 180 mg a 1200 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención es una dosis diaria total en el rango de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1500 mg, o de aproximadamente 360 mg. a 1200 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención es una dosis diaria total en el rango de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1000 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención es una dosis diaria total de aproximadamente 1000 mg.

45 En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en una única dosis diaria. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en una única dosis diaria en un rango de aproximadamente 20 mg QD a aproximadamente 2000 mg QD. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en una única dosis diaria en un rango de aproximadamente 20 mg QD a aproximadamente 1000 mg QD.

50 En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en más de una dosis diaria. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde la dosis diaria total está en un rango de aproximadamente 160 mg a 1400 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde la dosis diaria total está en un rango de aproximadamente 320 mg a 1200 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la

composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde la dosis diaria total está en un rango de aproximadamente 400 mg a 1000. mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde la dosis diaria total es de aproximadamente 1000 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de aproximadamente 80 mg a 1000 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde cada dosis está en un rango de aproximadamente 160 mg a 600 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde cada dosis está en un rango de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 500 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en dos dosis diarias, donde cada dosis es de aproximadamente 500 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en tres dosis diarias, donde la dosis diaria total está en un rango de aproximadamente 240 mg a aproximadamente 1500 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en tres dosis diarias, donde la dosis diaria total está en un rango de aproximadamente 480 mg a aproximadamente 1500 mg.

En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en tres dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de aproximadamente 80 mg a 500 mg. En algunas realizaciones, la cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administra en tres dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de 160 mg a 500 mg.

Un Compuesto de la Invención o una composición farmacéutica del mismo se puede administrar a través de uno cualquiera de, o a través de una combinación de vías, por ejemplo, por vía oral, intravenosa o intraperitoneal. Por ejemplo, en algunas realizaciones, un Compuesto de la Invención puede administrarse por vía oral. En algunas realizaciones, un Compuesto de la Invención se puede administrar por vía oral en una formulación que incluye Gelucire y Tween 80.

Un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto, por ejemplo, un paciente, de un compuesto en el rango de desde al menos aproximadamente 0.002 μM a aproximadamente 30 μM durante un tiempo de al menos 2 horas a no más de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para alcanzar una concentración en sangre en un sujeto de compuesto en el rango de al menos aproximadamente 0.2 μM a aproximadamente 1 μM durante un tiempo de al menos 2 horas a no más de 24 horas iguales a o superiores aproximadamente 0.2 μM , 0.5 μM , 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 2.5 μM , 3.0 μM 4.0 μM , 5.0 μM , 6.0 μM , 7.0 μM , 8.0 μM , 9.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto igual a o superior de aproximadamente 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto igual a o superior de aproximadamente 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto igual a o superior de aproximadamente 3.0 μM , o 5.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas.

Un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto, por ejemplo, un paciente, de un compuesto en el rango de desde al menos aproximadamente 0.002 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ a aproximadamente 300 $\mu\text{M}\cdot\text{h}$ en 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la Invención se puede administrar en una dosis para lograr el área bajo la curva en 24 horas (AUC₂₄) en un sujeto igual o superior de aproximadamente 0.2 μM , 0.5 μM , 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 2.5 μM , 3.0 μM 4.0 μM , 5.0 μM , 6.0 μM , 7.0 μM , 8.0 μM , 9.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto igual a o superior de aproximadamente 1.0 μM , 1.5 μM , 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM , 15.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto igual a o superior de aproximadamente 2.0 μM , 3.0 μM , 5.0 μM , 10.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto

igual a o superior de aproximadamente 3.0 μM , o 5.0 μM durante al menos 2 horas y menos de 24 horas. En algunas realizaciones, un Compuesto de la Invención se puede administrar en una dosis para lograr el área bajo la curva en 24 horas ($\text{AUC}_{0-24\text{hr}}$) en un sujeto igual o superior de aproximadamente 2 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 10 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 20 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 30 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 40 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 50 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 60 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 70 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 80 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 90 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 100 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 125 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 150 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 200 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 250 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 300 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, 400 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$, y 500 $\mu\text{M}\cdot\text{hr}$.

Si la condición del sujeto (paciente) así lo requiere, las dosis de la composición farmacéutica se pueden administrar como una infusión continua o pulsátil. La duración de un tratamiento puede ser de décadas, años, meses, semanas o días, siempre que los beneficios persistan. Los rangos anteriores se proporcionan solo como pautas y están sujetos a optimización.

En un método de acuerdo con la invención, las células de neoplasias se eliminan selectivamente administrando la composición farmacéutica, de modo que la concentración molar en sangre del compuesto es al menos una concentración efectiva y menor que una concentración nociva durante un primer período de tiempo continuo que es al menos tan largo como un período de tiempo efectivo y más corto que un período de tiempo nocivo. La concentración molar en sangre puede ser menor que la concentración efectiva después del primer período de tiempo continuo. La concentración efectiva puede ser una concentración suficientemente alta, de modo que se eliminen las células neoplásicas, por ejemplo, las células cancerosas. El período de tiempo efectivo puede ser suficientemente largo, de modo que se eliminen las células neoplásicas, por ejemplo, las células cancerosas. La concentración nociva puede ser una concentración a la que las células normales se dañan o mueren. El período de tiempo nocivo puede ser un período de tiempo suficientemente largo para que las células normales se dañen o mueran. Por ejemplo, la concentración efectiva puede ser igual o superior a aproximadamente 0,02 μM , aproximadamente 0,05 μM , aproximadamente 0,1 μM , aproximadamente 0,2 μM , aproximadamente 0,5 μM , aproximadamente 1 μM , aproximadamente 3 μM , aproximadamente 10 μM o aproximadamente 20 μM . Por ejemplo, la concentración no perjudicial puede ser igual o inferior a aproximadamente 3 μM , aproximadamente 10 μM , aproximadamente 14 μM , aproximadamente 30 μM , o aproximadamente 100 μM . Por ejemplo, el período de tiempo efectivo puede ser igual o superior a aproximadamente 2 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas o aproximadamente 48 horas. Por ejemplo, para lograr una exposición no perjudicial para las células normales, la concentración de fármaco del Compuesto 1 debe eliminarse sustancialmente de la sangre en aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas. La "depuración sustancial de sangre" significa disminución de la concentración de fármaco en sangre en al menos aproximadamente 50%, al menos aproximadamente 60%, al menos aproximadamente 80%, al menos aproximadamente 90%. Por ejemplo, una concentración efectiva puede ser una concentración que excede la IC_{50} de las células cancerosas cuando el compuesto se administra durante un período de tiempo. Por ejemplo, un período de tiempo efectivo puede ser un período de tiempo durante el cual las células cancerosas se inhiben selectivamente o mueren cuando el compuesto se administra al menos a la concentración efectiva. Por ejemplo, una concentración nociva puede ser una concentración que excede la IC_{50} de las células normales cuando el compuesto se administra durante un período de tiempo. Por ejemplo, un período de tiempo nocivo puede ser un período de tiempo durante el cual tanto las células normales como las cancerosas se inhiben o mueren cuando el compuesto se administra a la concentración efectiva.

Un experto en la técnica puede administrar la composición farmacéutica seleccionando la cantidad y frecuencia de dosificación para lograr un "perfil farmacocinético selectivo" (SPP) descrito aquí que se considera necesario para matar selectivamente células neoplásicas, tales como células cancerosas, y preservar células normales. Tal consideración del SPP también puede guiar el diseño de la composición farmacéutica, por ejemplo, la distribución del tamaño de partícula y la distribución de las formas de las partículas.

En un método de acuerdo con la invención, la composición farmacéutica se administra por vía oral en una forma de dosificación tal como una tableta, píldora, cápsula (dura o blanda), capsuleta, polvo, gránulo, suspensión, solución, gel, sello, trocillo, comprimidos para deshacer en la boca, jarabe, elixir, emulsión, emulsión de aceite en agua, emulsión de agua en aceite o gragea.

Identificación de una distribución óptima del tamaño de partícula

En un método de acuerdo con la invención, una distribución óptima del tamaño de partícula de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, el Compuesto 1, un polimorfo de Compuesto 1, y/o una forma sustancialmente pura de Compuesto 1 para tratar un humano, mamífero, o animal afligido con una neoplasia se puede determinar de la siguiente manera. Se puede preparar al menos un conjunto de partículas que incluyen el compuesto. Al preparar el conjunto de partículas, por ejemplo, el tamaño de partícula de una muestra de compuesto sólido puede reducirse, por ejemplo, disolviendo el compuesto y nebulizando la solución, disolviendo el compuesto y sometiendo a sonicación la solución, moliendo con bolas el compuesto sólido, moliendo con rodillo el compuesto sólido, triturando el compuesto sólido, y/o tamizando el compuesto sólido. La distribución del tamaño de partícula del al menos un conjunto de partículas se puede determinar mediante un método o combinación de métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, la distribución del tamaño de partícula puede determinarse utilizando una técnica tal como análisis de tamices, recuento microscópico óptico, recuento de micrografías electrónicas, recuento de electrorresistencia, tiempo de sedimentación, difracción láser, espectroscopia acústica, otra técnica o una combinación

de técnicas. El al menos un conjunto de partículas se puede administrar a células neoplásicas y a células normales a una concentración predeterminada y durante un período de tiempo predeterminado. Se puede observar el efecto de las partículas sobre el metabolismo, la división y/u otro indicador de la vitalidad de las células neoplásicas y las células normales. El efecto observado de las partículas en las células neoplásicas se puede usar para asignar una clasificación de efectividad a cada conjunto de partículas. Por ejemplo, un conjunto de partículas que inhibe el metabolismo y/o la división de las células neoplásicas, daña o mata las células neoplásicas, o de otra manera muestra una alta actividad antitumoral, puede asignarse una alta clasificación de efectividad. El efecto observado de las partículas en las células normales se puede usar para asignar una clasificación de toxicidad a cada conjunto de partículas. Por ejemplo, un conjunto de partículas que inhibe el metabolismo y/o división de las células normales o daña o mata las células normales o donde las células normales de otra manera muestran una baja tolerabilidad del conjunto de partículas puede asignarse una alta clasificación de toxicidad.

Por ejemplo, el conjunto de partículas puede administrarse a células neoplásicas y células normales in vitro. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede ser igual a, proporcional a, o una función monótonamente creciente de la IC₅₀ de las células neoplásicas. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede ser igual a, proporcional a, o una función monótonamente creciente de la IC₅₀ de las células normales.

Por ejemplo, el conjunto de partículas se puede administrar a células neoplásicas y células normales in vivo en un animal de prueba. Por ejemplo, el animal de prueba puede ser un mamífero, primate, ratón, rata, conejillo de indias, conejo o perro. Por ejemplo, la clasificación de efectividad puede ser igual a, proporcional a, o una función monótonamente creciente de la disminución en el volumen de las células neoplásicas después de la administración del conjunto de partículas. Por ejemplo, la clasificación de toxicidad puede ser igual a, proporcional a, o una función monótonamente creciente de la disminución de la masa del animal de prueba después de la administración del conjunto de partículas. Por ejemplo, el conjunto de partículas se puede administrar a un humano en un estudio clínico. Un método para tratar una neoplasia puede incluir administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un conjunto de partículas del compuesto de acuerdo con la Fórmula I, el Compuesto 1, un polimorfo del Compuesto 1, y/o una forma sustancialmente pura del Compuesto 1 a un humano, mamífero o animal afligido con la neoplasia. Antes de la administración de las partículas del compuesto, el compuesto de acuerdo con la Fórmula I, el Compuesto 1, un polimorfo del Compuesto 1, y/o una forma sustancialmente pura del Compuesto 1 a un animal o un humano o a las células in vitro, las partículas pueden suspenderse en un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La clasificación de efectividad y/o la clasificación de toxicidad de cada conjunto de partículas que tienen una primera distribución de tamaño de partícula se puede comparar con la clasificación de efectividad y/o la clasificación de toxicidad de otro conjunto o conjuntos de partículas que tienen una distribución de tamaño de partícula diferente a la primera distribución de tamaño de partícula. Un conjunto de partículas de un compuesto que tiene una alta clasificación de efectividad y una baja clasificación de toxicidad puede ser efectivo para inhibir o matar células neoplásicas, por ejemplo, de cáncer, pero preserva las células normales. Un experto en la técnica puede seleccionar como un conjunto óptimo el conjunto de partículas que tienen una clasificación de efectividad mayor que, una clasificación de toxicidad menor que, y/o una clasificación de efectividad ponderada y una suma de clasificación de toxicidad mayor que al menos otro conjunto de partículas (por ejemplo, la clasificación de efectividad se puede ponderar con un coeficiente positivo y la clasificación de toxicidad se puede ponderar con un coeficiente negativo). Un experto en la técnica también puede usar otros criterios para seleccionar el conjunto óptimo de partículas, por ejemplo, partículas que tienen una suma de la clasificación de efectividad ponderada y la relación ponderada de la clasificación de efectividad sobre la clasificación de toxicidad. La distribución del tamaño de partícula del conjunto óptimo de partículas se puede considerar una distribución de tamaño de partícula óptima para el compuesto probado. La distribución óptima del tamaño de partícula puede ser diferente para un compuesto, por ejemplo, Compuesto 1, que para otro compuesto, por ejemplo, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I que no es el Compuesto 1. La distribución óptima del tamaño de partícula para un compuesto dado puede diferir cuando determinado por la administración a las células in vitro, a un pequeño animal de prueba, y a un animal de prueba grande. Sin embargo, la distribución óptima del tamaño de partícula determinada mediante la administración de un compuesto dado a un organismo in vitro o in vivo puede representar un punto de partida racional para optimizar la distribución del tamaño de partícula para otro compuesto o para la administración a otro organismo.

Se puede incluir en la composición un conjunto óptimo de partículas del compuesto de acuerdo con la Fórmula I, el Compuesto 1, un polimorfo del Compuesto 1, y/o una forma sustancialmente pura del Compuesto 1 para reducir o inhibir la replicación o propagación de células neoplásicas.

Ejemplos

A continuación se proporcionan ejemplos para ilustrar adicionalmente diferentes características de la presente invención. Los ejemplos también ilustran una metodología útil para practicar la invención. Estos ejemplos no limitan la invención reivindicada.

Ejemplo 1: Preparación de un compuesto de naftofurano

El procedimiento para la preparación de un compuesto de naftofurano (2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona) se resume de la siguiente manera:

Etapa 1: bromación

- 5 A un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 2 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición se le carga 3-buteno-2-ona (451,2 gramos). Al embudo de adición se le agrega bromo (936,0 gramos). Después de que el contenido en el matraz se enfría hasta -5 °C, el bromo se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a -5 °C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a -5 °C, y luego se divide en 4 porciones iguales.

Etapa 2 Desbrominación

- 10 Cada porción de la mezcla junto con tetrahidrofurano (2133,6 gramos) se carga en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 22 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición. Al embudo de adición se le carga DBU (1,3-Diazabicyclo[5.4.0] undec-7-eno, 222.9 gramos). El DBU se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a 0 °C-5 °C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a 0 °C-5 °C.

15 Etapa 3: Reacción de acoplamiento

Se agrega entonces 2-hidroxi-1,4-naftofurano (231 gramos) al matraz. Se carga DBU adicional (246,0 gramos) en el embudo de adición y luego se deja caer en la mezcla en el matraz a una tasa tal que la temperatura de la mezcla de reacción no supere los 40 °C. Después de que se completa la adición de DBU, la mezcla resultante se agita durante la noche a temperatura ambiente, y se toma una muestra de la mezcla de reacción para el análisis por HPLC.

20 Etapa 4: Cristalización

A la mezcla de reacción, se carga agua (10,8 litros) y la mezcla resultante se enfría a 0 °C-3 °C durante al menos 30 minutos, luego se filtra a través de un filtro de vacío. El sólido filtrado se enjuaga con bicarbonato de sodio acuoso al 5% (3 litros), agua (3 litros), ácido acético acuoso al 1% (3 litros) y etanol dos veces (2 x 1 litro) sucesivamente.

- 25 El sólido enjuagado se almacena y agrupa de otros lotes. El producto crudo combinado (28,73 kg) se carga junto con acetato de etilo (811,7 kg) en un recipiente de 500 galones equipado con un agitador mecánico, termómetro y un condensador. Bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se calienta hasta reflujo (72 °C) durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro de cartucho de 10 micrones que contiene una capa de carbón activo para eliminar las sustancias insolubles.

- 30 Se usa acetato de etilo fresco y caliente (10 kg) para enjuagar el recipiente, la línea de transferencia y el filtro. El filtrado combinado se enfría hasta 0-5 °C y se mantiene a esta temperatura durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro Buchner de 20 pulgadas. El producto sólido filtrado se enjuaga con 0-5 °C de acetato de etilo (5,7 kg), y se seca bajo vacío a 40 °C hasta un peso constante. El filtrado restante se reduce en volumen en un 63% por evaporación, y el proceso de cristalización se repitió nuevamente para generar un segundo cultivo de producto que también se secó bajo las mismas condiciones que el primer cultivo de producto.

- 35 Un lote del compuesto de naftofurano obtenido siguiendo el procedimiento. La pureza para el lote del compuesto es 95.44 % de área (HPLC).

Ejemplo 2: Preparación de un compuesto de naftofurano

Otro procedimiento para la preparación de un compuesto de naftofurano (2-acetilnafto[2,3-b] furan-4,9-diona) se resume de la siguiente manera:

40 Etapa 1: bromación

Se cargó un RBF de 12 L (Matraz de Fondo Redondo) (protegido de la luz con filtros UV) con MVK (2, 160 ml, 26, 4 mol) y se enfrió hasta -9,6 °C en un baño de hielo seco/acetona. Se añadió bromo (1.300 ml, 25.3 mol) lentamente, durante 2 horas y 20 minutos, manteniendo T = <- 2.6 °C (T_{max}). La mezcla amarilla resultante se agitó durante 28 minutos adicionales.

45 Etapa 2: Deshidrobromación

ES 2 659 541 T3

Se cargó un RBF de 72 L con THF pre-enfriado (tetrahidrofurano) (20 l, 5 ml/g de HNQ (2-hidroxi-1,4-naftoquinona)) con producto bromado del anterior y la solución resultante se enfrió hasta -4,8 °C. Se añadió DBU (4,200 ml, 28,1 mol) disuelto en THF (4,200 ml) lentamente, durante 2 horas y 20 minutos, manteniendo $T < 0,3^{\circ}\text{C}$ (T_{max}). La suspensión resultante se agitó durante 42 minutos.

5 Etapa 3: Acoplamiento

Se cargó 2-hidroxi-1,4-naftofurano (4.003 g, 23.0 mol), en una porción, en la mezcla de reacción de lo anterior, a -1.8 °C. Se añadió un baño de enfriamiento mientras se añadía una segunda porción de DBU (3,780 ml, 25,3 mol) durante 48 minutos para llevar la temperatura de reacción a 40 °C. El baño de enfriamiento se eliminó y la mezcla de reacción se agitó durante el fin de semana, se abrió al aire.

10 Etapa 4: Aislamiento de material crudo

Se cargó un reactor de 200 l con agua preenfriada (100 l, 25 ml/g de HNQ) con la mezcla de reacción a partir de lo anterior. La suspensión resultante se enfrió hasta 6,0 °C, y luego se agitó a $T = 3 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante ~ 1 hora. La suspensión resultante se filtró a continuación y los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l.

15 Después de agitar en NaHCO_3 acuoso al 5% (26 l, 6,5 ml/g de HNQ) durante 1 hora, la suspensión se filtró. Los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l, se agitaron en agua (26 l) durante 1 hora y luego se filtraron.

Los sólidos húmedos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l, se agitaron en ácido acético acuoso al 1% (26 l) durante ~ 1 hora, se filtraron y luego se lavaron en el embudo de filtro con agua (10 l). Los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l y se calentaron en etanol (17,5 l, 4,3 ml/g de HNQ) a reflujo suave (77,4 °C). La suspensión resultante se enfrió hasta 4,2°C y se filtró.

20 Los sólidos húmedos se transfirieron a un reactor de 100 l y se calentaron en etanol (17,5 l, 4,3 ml/g de HNQ) hasta reflujo (77,6°C). La suspensión resultante se enfrió hasta 4,5 °C y se filtró. La torta húmeda se destiló durante la noche. Se tomaron muestras ^1H RMN y HPLC. ^1H RMN: Compuesto 1/NDHF (2-acetil-2,3-dihidronafto[2,3-b] furan-4,9-diona) 42:58%; HPLC: % de área del Compuesto 1/NDHF 74:11.

25 Los sólidos se secaron en un horno de vacío a 50°C, durante 4 días, produciendo 2,268 g de Compuesto 1 crudo. RMN ^1H : Compuesto 1/NDHF 41:59%; HPLC: % del área del compuesto 1/NDHF 67:11.

Etapa 5: Oxidación del naftodihidrofurano

El Compuesto 1 crudo (2.268 kg) se suspendió en tolueno (77 l). Se añadió MnO_2 (9536 g) y la mezcla se calentó hasta reflujo suave. La TLC (EA 1: 1: hexano) mostró una reacción completa después de 1 hora.

30 La mezcla de reacción se filtró luego en caliente a través de una almohadilla precalentada de Celite (1530 g, capa inferior), carbón activado (2230 g, capa intermedia) y Celite (932 g, capa superior). El filtrado amarillo anaranjado fue recolectado.

El filtrado se concentró en el rotavapor hasta aproximadamente 1/10 de volumen. La suspensión se filtró y se lavó con tolueno. Los cristales se secaron luego a 50°C para dar 952 g (42%) de un sólido amarillo oscuro. HPLC: 99,94%. ^1H RMN no mostró naftodihidrofurano.

35 Los cristales se secaron a 50 °C bajo vacío durante 46-65 horas adicionales hasta reducir la cantidad de tolueno residual en el material.

Etapa 6: tratamiento con acetato de etilo

40 El Compuesto 1 (5816 g) se cargó en un recipiente de reacción de 200 l. Se añadió acetato de etilo (145 l, 25 ml/g) y la solución se calentó hasta reflujo durante 2 horas y 26 minutos. El reflujo se mantuvo durante 5 horas y 30 minutos, y la mezcla se enfrió luego y se mantuvo durante la noche a 17°C.

La suspensión se filtró en una frita de polietileno. Los cristales amarillos se secaron al aire, luego se colocaron en bandejas en un horno de vacío durante 75 horas, dando 5532 g (95.1% de rendimiento) de sólidos amarillos. HPLC: 99.86%. ^1H RMN coincide con la estructura del Compuesto 1.

Etapa 7: recristalización de acetato de etilo

Se cargó un RBF de 2 l con material crudo (10 g) y acetato de etilo (900 ml). La mezcla se sometió a reflujo a ~ 77 °C y luego se añadió más acetato de etilo (100 ml) para lograr la disolución completa. La solución amarilla clara resultante se agitó a reflujo durante ~30 minutos, y luego se eliminó el calentamiento. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente.

- 5 La suspensión resultante se filtró y los sólidos amarillos recogidos se enjuagaron en el embudo con acetato de etilo (30 ml). El sólido húmedo se secó en un horno de vacío a 40-50 °C, durante 4 horas, para obtener 8,53 g de producto cristalino amarillo (rendimiento total ~17%).

¹H RMN: consistente con la estructura; HPLC: % de área 99.94; DSC: 228,68 °C, 151 J/g.

- 10 A menos que se indique específicamente otra cosa, el Compuesto 1 utilizado en los siguientes ejemplos se preparó como en el Ejemplo 1.

Ejemplo 3: micronización del compuesto de naftofurano

Por ejemplo, los cristales del Compuesto 1 se molieron y pasaron a través de un tamiz de 160 micrones (µm) (Tamiz # 00, abertura de 150 µm) para generar los cristales de aproximadamente 160 micrones o menos.

- 15 Por ejemplo, los cristales del Compuesto 1 se molieron (el molino centrífugo Retsch Ultra ZM 200; etapa única, a 18,000 rpm usando un tamiz de 0,25 mm) hasta un tamaño medio de partícula de aproximadamente 20 micrones. La Tabla 3 presenta la distribución resultante de los tamaños de partícula (Malvern 2000 con el accesorio húmedo Hydro 2000S). Las columnas presentan el tamaño máximo de partículas en el porcentaje acumulativo total presentado en el subíndice en el encabezado de la columna. Por ejemplo, la columna D₉₀ presenta el tamaño para el cual el 90% de las partículas tienen un tamaño igual o inferior. La columna D₅₀ representa el tamaño medio - la mitad de las partículas tiene un tamaño mayor y la mitad de las partículas tiene un tamaño igual o inferior.
- 20

	Tamaño de partícula (micrones)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
Muestra B	48.9	20.2	2.3

Tabla 3. Distribución del tamaño de partículas del Compuesto 1 molido.

- 25 Por ejemplo, los cristales del Compuesto 1 se micronizaron usando un método de molienda por chorro (4" Jet Mill, Presión Venturi = 40, Presión del molino = 100, tasa de alimentación = 1304 g/hora) a un tamaño medio de partícula de aproximadamente 2 micrones, como se presenta en la Tabla 4. El análisis del tamaño de partícula se realizó usando un método de partículas secas (Analizador del Tamaño de partícula Sympatec Helos/KF).

Tabla 4. Distribución del tamaño de partículas del Compuesto 1 micronizado

	Tamaño de partícula (micrones)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
Muestra A	4.63	2.07	0.53

- 30 Una función de distribución acumulativa derivada de un modelo logarítmico normal de distribución del tamaño de partícula proporcionó un buen ajuste a los datos presentados en la Tabla 4. La función de distribución acumulativa se representó como

$$\text{CDF}(d) = \frac{1}{2} \left(1 + \operatorname{erf} \left(\frac{\ln(d) - \ln(d_{\text{medio}})}{\sigma\sqrt{2}} \right) \right),$$

donde erf es la función de error, d es la variable de diámetro de partícula, d_{medio} es el tamaño de partícula medio, y σ es un parámetro relacionado con la amplitud de la función de distribución acumulativa. CDF(d) representa la fracción de partículas que tienen un tamaño menor o igual a d. Estableciendo d_{medio} a la mediana observada de 2.07 micrones, la adaptación del modelo arrojó un valor de $\sigma = 1.06$. El modelo indicó un diámetro medio de 3,6 micrones y un diámetro de modo de 0,67 micrones. El modelo también sugiere un área específica de las partículas de 2200 m²/kg, aunque esto no tiene en cuenta factores tales como la rugosidad superficial.

Ejemplo 4: Farmacocinética en ratones de 2 micrones, 20 micrones, 150 micrones de formulaciones medianas de tamaño de partícula

En un experimento, el Compuesto 1 micronizado preparado en la etapa 6 del Ejemplo 2 con un tamaño medio de partícula de 2 micrones, 20 micrones, 150 micrones se formularon como suspensiones en 20% de Gelucire 44/14 y 1% de Tween 80 y se administraron por vía oral a ratones en 100 mg/kg. Cada punto de tiempo representa el promedio de 3 ratones (Figura 16).

Como se muestra en la Figura 16, mientras que el Compuesto 1 con un tamaño de partícula de entre 125-150 micrones muestra un menor nivel de exposición en comparación con las partículas de 2 micrones y 20 micrones cuando todas están dosificadas a 100 mg/kg, muestra el mismo patrón. Los tamaños de partícula del Compuesto 1 de 20 micrones (D_{50}) muestran una exposición plasmática similar en ratones como la dosis del Compuesto 1 con un tamaño de partícula de 2 micrones (D_{50}). Adicionalmente, si duplica la exposición del Compuesto 1 de 125-150 micrones, sería muy similar al gráfico PK de 2 y 20 micrones.

Ejemplo 5: Las formulaciones que tienen un tamaño de partícula reducido exhiben una mayor inhibición del crecimiento tumoral

En los estudios actuales, el Compuesto 1 muestra poca o ninguna eficacia si se administra a ratones en una composición con un tamaño de partícula mayor que 20 micrones. Sin embargo, se encontró que el Compuesto 1 tiene una potente actividad antitumoral sin toxicidad observada si el compuesto se administra en una composición de un tamaño de partícula inferior a 5 micrones.

En un experimento, se probó una formulación de partículas del Compuesto 1 tamizadas a 160 micrones en el modelo de ratones inmunosuprimidos con cáncer de cabeza y cuello humano FaDu de xenoinjerto subcutáneo establecido. La composición farmacéutica se formuló como 80 mg/ml en 9% de Gelucire, 20% de vitamina E TPGS (Tabla 3). No se observó eficacia a la dosis de 400 mg/kg de dosificación oral diaria (también se administró un control de vehículo), como se muestra en la Figura 15. Este nivel de dosis es 4 veces mayor que el utilizado en el experimento PK mostrado en la Figura 16. Por lo tanto estos ratones reciben una exposición 4 veces mayor que la que se ve al dosificar 100 mg/kg de compuesto 1 de 2 micrones que muestra buena eficacia. Todos los regímenes se administraron diariamente (qd).

En un experimento, los cristales del Compuesto 1 se molieron a un tamaño medio de partícula de aproximadamente 20 micrones. Solo se observó una eficacia débil o moderada cuando el Compuesto 1 molido a un tamaño medio de partícula de aproximadamente 20 micrones se dosificó por vía oral a 200 mg/kg en ratones con tumores de cabeza y cuello FaDu humanos xenoinjertados (Figura 15) (también se administró un vehículo de control). Todos los regímenes se administraron diariamente (qd).

Los cristales de Compuesto 1 preparados en el Ejemplo 1 también se probaron. Los cristales del Compuesto 1 se micronizaron usando un método de molienda por chorro (4" Jet Mill, Presión Venturi = 40, Presión del molino = 100, Tasa de alimentación = 1304 g/hora) a un tamaño medio de partícula de aproximadamente 2 micrones, como se presenta en la Tabla 4.

Las células de cáncer de cabeza y cuello humano FaDu se inocularon por vía subcutánea en ratones hembra desnudos atímicos (6×10^6 células/ratón) y se permitió que formaran tumores palpables. Cuando los tumores alcanzaron aproximadamente 100 mm³, los animales se trataron por vía oral (po) con el Compuesto 1 a 100 mg/kg o control del vehículo diariamente. El Compuesto 1 se formuló a 10 mg/ml en 20% de Gelucire. Los tumores y los pesos corporales se midieron a lo largo del tratamiento (Figuras 15).

5 El compuesto 1 también se micronizó usando un método de molienda por chorro (8" Pancake Mill, presión Ventury = 40, Presión del molino = 40, tasa de alimentación = 1920 g/hora) a un tamaño medio de partícula de aproximadamente 2 micrones, como se presenta en la Tabla 5. El análisis del tamaño de partícula se realizó usando un método de partículas secas (Analizador de Tamaño de Partícula Sympatec Helos/KF). Se observó una actividad antitumoral similar al material de 2 micrones en la Tabla 4.

Tabla 5. Distribución del tamaño de partículas del Compuesto 1 micronizado

	Tamaño de partícula (micrones)		
	D ₉₀	D ₅₀	D ₁₀
Muestra A	5.5	2.21	0.51

10 Por lo tanto, aunque el Compuesto 1 de 150 micrones o 20 micrones muestra un patrón de exposición en plasma similar al Compuesto 1 de 2 micrones (Figura 16). Muestran una eficacia diferente: el Compuesto 1 de 150 micrones no muestra eficacia (Figura 15); El compuesto 1 de 20 micrones muestra una eficacia débil o moderada; y el Compuesto 1 de 2 micrones muestra una fuerte eficacia.

15 Como se muestra en la Figura 16, el tamaño de partícula del Compuesto 1 de 20 micrones (D₅₀) muestra una exposición en plasma similar en ratones como la dosis del Compuesto 1 con un tamaño de partícula de 2 micrones (D₅₀). Sorprendentemente, sin embargo, el Compuesto 1 con 20 micrones de tamaño de partícula muestra solo una eficacia débil o moderada en modelos de xenoinjertos de ratón, mientras que el Compuesto 1 con tamaño de partícula de 2 micrones muestra una eficacia potente. Este es un resultado inesperado ya que el entendimiento común es que la eficacia de un fármaco se basa en su farmacocinética. Por lo tanto, dado que ambos tamaños de partícula muestran la misma farmacocinética, ambos deberían ser igualmente eficaces.

20 Adicionalmente, si la exposición del Compuesto 1 de 125-150 micrones se duplica, sería muy similar al gráfico PK de 2 y 20 micrones. Curiosamente, cuando se dosifica el Compuesto 1 de 150 micrones a ratones a un nivel tan alto como 400 mg/kg, tampoco muestra eficacia en los modelos de xenoinjerto (Figura 15).

Estos resultados van en contra de la visión convencional de la reducción del tamaño de partícula que conduce a una mayor exposición al plasma y, por lo tanto, a una mejor eficacia.

Ejemplo 6: ensayo de HPLC

25 Este método de HPLC es para evaluar la pureza de naftofurano, por ejemplo, 2-acetilnafto[2,3-b] furan-4,9-diona (Compuesto 1), y su reacción se completó por HPLC. Todos los componentes se expresarán en porcentaje de área de los picos totales dentro del cromatograma.

1. Aparatos y materiales (Tabla 6a)

Aparato	Sistema HPLC con detector UV y sistema de integración
Columna	Phenomenex Luna C18(2) 5-µm, 4.6-mm x 250-mm (P/N 00G-4252-E0) o equivalente
medidor de pH	Calibrado el día del uso
Acetonitrilo	Grado de HPLC
Dimetilsulfóxido (DMSO)	Grado de ACS o mejor
Ácido fosfórico	Reactivo de ACS

Fosfato de potasio, dibásico	Reactivo de ACS
Compuesto 1	Material de referencia

2. Preparaciones de la solución

Regulador de fosfato 10 mM

- 5 Peso 1.74 g de fosfato de potasio, dibásico y diluido con 1 litro de agua purificada (ajustar los pesos y volúmenes para la cantidad necesaria). Ajustar el pH con ácido fosfórico a pH 6.8.

Fase móvil A

Preparar la fase móvil A mezclando el regulador de fosfato 10 mM y acetonitrilo en una relación 80:20 regulador:acetonitrilo. Degas.

Fase móvil B

- 10 Preparar la fase móvil B mezclando el regulador de fosfato 10 mM y el acetonitrilo en una relación de 20:80 regulador:acetonitrilo. Degas.

Diluyente

La fase móvil A se usará como diluyente para todas las preparaciones estándar y de muestra.

3. Preparación de estándares

- 15 Compuesto 1 Reserva estándar (Concentración ≈ 1,0 mg/ml)

Se preparará pesando 10 mg de material de Referencia del Compuesto 1 en un vial de centelleo de 20 ml; peso récord ± 0.01 mg. Agregar 10 ml de DMSO y someter a sonicación hasta que los sólidos se disuelvan.

$$\text{Concentración} = \frac{(\text{Referencia de Peso Estándar, mg}) \times \text{Pureza Decimal Estándar}}{(\text{Volumen de Solución de reserva, ml})}$$

Muestras de prueba de reserva (concentración ≈ 1,0 mg/ml)

- 20 Las soluciones de prueba se prepararán pesando 10 mg de muestra en un vial de centelleo de 20 ml y diluyendo con 10 ml de DMSO.

$$\text{Concentración} = \frac{(\text{Muestra en peso, mg})}{(\text{Volumen de Solución de reserva, ml})}$$

Muestras de prueba de trabajo (concentración ≈ 0.01 mg/mL)

Esta solución se prepara transfiriendo 1 ml a un matraz volumétrico de 100 ml y diluyendo con solución de diluyente.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Concentración de Muestra de Prueba de Reserva} \times (\text{volumen transferido, ml})}{(\text{Volumen de Solución de trabajo, ml})}$$

4. Condiciones de funcionamiento del instrumento (Tabla 6b)

Tasa de flujo	0.8 mL/min.
Temp. de Columna	30°C
Detector de longitud de onda	270 nm
Volumen de inyección	40 µL
Perfil de Gradiente	0-5 min - 0% B to 0% B
	5-19 min - 0% B to 90% B
	19-24 min - 90% B to 90% B
	24-29 min - 90% B to 0% B
	Nota: 5 minutos de tiempo de equilibrio
	entre las inyecciones a 100% A
Tiempo de ejecución	29 min

5. Procedimiento operativo

5 Inyecte soluciones en la siguiente secuencia:

1. Blanco de diluyente (1X)
2. Estándar de trabajo del Compuesto 1 (5X)
3. Soluciones de prueba (2X cada una)
4. Estándares de trabajo (1X cada uno)

10 6. Adecuabilidad del sistema

El sistema es adecuado para su uso si se cumplen los siguientes criterios.

1. La inyección del blanco de diluyente al comienzo de la secuencia no contiene picos interferentes con ninguna impureza identificada
- 15 2. Las inyecciones iniciales, 5 replicadas del estándar de trabajo del Compuesto 1 tienen (1) % de RSD_{área de pico} <3.0%; (2) % de RSD_{tiempo de retención} <3.0%; y (3) factor de cola medio <2.0.
3. En el cromatograma para el estándar entre corchetes, (1) el tiempo de retención es 97.0 - 103.0% del tiempo medio de retención de las inyecciones de adecuabilidad iniciales y (2) su % de área es 97.0 - 103.0% del valor inicial.

7. Cálculos

ES 2 659 541 T3

Todos los picos se informarán como % de área de los picos totales en el cromatograma, esto se calculará mediante el software de integración mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Área} = \frac{\text{Recuentos de área de pico}}{\text{Área total de todos los picos}} \times 100$$

RMN y TLC

5 RMN (Tabla 6C)

Aparato	Espectrómetro RMN Varian Inova 500
Secuencia de pulso	S2pul
Solvente	CDC13
Temp.	25.0°C/298.1 K
Retraso relajante	1.000 seg
Pulso	45.0 grados
Tiempo de Adq.	2.732 seg
Ancho	11992.2 Hz
	32 repeticiones
OBSERVAR H1	499.7029706 MHz
Tamaño FSize	65536
Tiempo Total	1 min, 50 seg

TLC sobre sílica gel (Tabla 6D)

Eluyente	Acetato de etilo:hexano, 1:1
Visualización	UV
R _f ₄₀₁	~ 0.7
R _f _{NDHF}	~ 0.6

Ejemplo 7: Preparación de 2-acetilnafto[2,3-b] furan-4,9-diona

A continuación se proporciona un procedimiento para la preparación del Compuesto 1.

Etapa 1: bromación

- 5 A un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 2 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición se le carga 3-buteno-2-ona (451,2 gramos). Al embudo de adición se le agrega bromo (936,0 gramos). Después de que el contenido en el matraz se enfría hasta -5 °C, el bromo se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a -5 °C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a -5 °C, y luego se divide en 4 porciones iguales.

Etapa 2: Desbrominación

- 10 Cada porción de la mezcla junto con tetrahidrofurano (2133,6 gramos) se carga en un matraz de fondo redondo de 4 cuellos de 22 litros equipado con un agitador mecánico, termómetro y embudo de adición. Al embudo de adición se le carga DBU (1,3-Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno, 222.9 gramos). La DBU se introduce en el matraz con agitación vigorosa y manteniendo la temperatura a 0 °C-5 °C durante 30 minutos. La mezcla se agita durante 15 minutos adicionales a 0 °C-5 °C.

15 Etapa 3: reacción de acoplamiento

Luego se agrega 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (231 gramos) al matraz. Se carga DBU adicional (246,0 gramos) en el embudo de adición y luego se deja caer en la mezcla en el matraz a una tasa tal que la temperatura de la mezcla de reacción no supere los 40 °C. Después de que se completa la adición de DBU, la mezcla resultante se agita durante la noche a temperatura ambiente, y se toma una muestra de la mezcla de reacción para el análisis por HPLC.

- 20 A la mezcla de reacción, se carga agua (10,8 litros) y la mezcla resultante se enfría hasta 0 °C-3 °C durante al menos 30 minutos, luego se filtra a través de un filtro de vacío. El sólido filtrado se enjuaga con bicarbonato de sodio acuoso al 5% (3 litros), agua (3 litros), ácido acético acuoso al 1% (3 litros) y etanol dos veces (2 x 1 litro) sucesivamente.

Etapa 4: Cristalización

- 25 El sólido enjuagado se almacena y agrupa de otros lotes. El producto crudo combinado (28,73 kg) se carga junto con acetato de etilo (811,7 kg) en un recipiente de 500 galones equipado con un agitador mecánico, termómetro y un condensador. Bajo atmósfera de nitrógeno, la mezcla se calienta hasta reflujo (72 °C) durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro de cartucho de 10 micrones que contiene una capa de carbón activo para eliminar las sustancias insolubles.

- 30 Se usa acetato de etilo fresco y caliente (10 kg) para enjuagar el recipiente, la línea de transferencia y el filtro. El filtrado combinado se enfría hasta 0-5 °C y se mantiene a esta temperatura durante 2 horas, y luego se filtra con un filtro Buchner de 20 pulgadas. El producto sólido filtrado se enjuaga con 0-5 °C de acetato de etilo (5,7 kg), y se seca bajo vacío a 40 °C hasta un peso constante.

- 35 El filtrado restante se reduce en volumen en un 63% por evaporación, y el proceso de cristalización se repitió nuevamente para generar un segundo cultivo de producto que también se secó bajo las mismas condiciones que el primer cultivo de producto.

Se obtuvieron dos lotes del Compuesto 1 siguiendo el procedimiento. Un lote tiene una pureza de 91.64 % de área y el otro lote tiene una pureza de 95.44 % de área, medida por HPLC.

Ejemplo 8: Preparación de 2-acetilnafto[2,3-b] furan-4,9-diona crudo

Otro procedimiento para la preparación del Compuesto 1 se resume de la siguiente manera.

40 Etapa 1: bromación

Se cargó un RBF de 12 L (Matraz de Fondo Redondo) (protegido de la luz con filtros UV) con MVK (2, 160 ml, 26, 4 mol) y se enfrió hasta -9, 6 °C en un baño de hielo seco/acetona. Se añadió bromo (1.300 ml, 25.3 mol) lentamente, durante 2 horas y 20 minutos, manteniendo T = <-2.6 °C (T_{max}). La mezcla amarilla resultante se agitó durante 28 minutos adicionales.

45 Etapa 2: Deshidrobromación

Se cargó un RBF de 72 L con THF pre-enfriado (tetrahidrofurano) (20 l, 5 ml/g de HNQ (2-hidroxi-1,4-naftoquinona)) con producto bromado del anterior y la solución resultante se enfrió hasta - 4,8 ° C. Se añadió DBU (4,200 ml, 28,1 mol) disuelto en THF (4,200 ml) lentamente, durante 2 horas y 20 minutos, manteniendo $T < 0,3^{\circ}\text{C}$ (T_{max}). La suspensión resultante se agitó durante 42 minutos.

5 Etapa 3: Acoplamiento

Se cargó 2-hidroxi-1,4-naftoquinona (4.003 g, 23.0 mol), en una porción, en la mezcla de reacción de lo anterior, a - 1.8 ° C. Se añadió un baño de enfriamiento mientras se añadía una segunda porción de DBU (3,780 ml, 25,3 mol) durante 48 minutos para llevar la temperatura de reacción hasta 40 ° C. El baño de enfriamiento se retiró y la mezcla de reacción se agitó durante el fin de semana, se abrió al aire.

10 Etapa 4: Aislamiento de material crudo

Se cargó un reactor de 200 l con agua preenfriada (100 l, 25 ml/g de HNQ) con la mezcla de reacción a partir de lo anterior. La suspensión resultante se enfrió hasta 6,0 ° C, y luego se agitó a $T = 3 \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante ~ 1 hora. La suspensión resultante se filtró a continuación y los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l.

15 Después de agitar en NaHCO_3 acuoso al 5% (26 l, 6,5 ml/g de HNQ) durante 1 hora, la suspensión se filtró. Los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l, se agitaron en agua (26 l) durante 1 hora y luego se filtraron.

Los sólidos húmedos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l, se agitaron en ácido acético acuoso al 1% (26 l) durante ~ 1 hora, se filtraron y luego se lavaron en el embudo de filtro con agua (10 l). Los sólidos recogidos se transfirieron de nuevo al reactor de 200 l y se calentaron en etanol (17,5 l, 4,3 ml/g de HNQ) hasta un reflujo suave (77,4 ° C). La suspensión resultante se enfrió hasta 4,2°C y se filtró.

20 Los sólidos húmedos se transfirieron a un reactor de 100 l y se calentaron en etanol (17,5 l, 4,3 ml/g de HNQ) hasta reflujo (77,6°C). La suspensión resultante se enfrió hasta 4,5 ° C y se filtró. La torta húmeda se destiló durante la noche. Se tomaron muestras ^1H RMN y HPLC. ^1H RMN: Compuesto 1/NDHF (2-acetil-2,3-dihidronafto[2,3-b] furan-4,9-diona) 42:58%; HPLC: % de área de Compuesto 1/NDHF 74:11.

25 Los sólidos se secaron en un horno de vacío a 50°C, durante 4 días, produciendo 2,268 g de Compuesto 1 crudo. ^1H RMN: Compuesto 1/NDHF 41:59%; HPLC:% del área del compuesto 1/NDHF 67:11.

Ejemplo 9: Oxidación del naftodihidrofurano

El Compuesto 1 crudo 1 (2.268 kg) se suspendió en tolueno (77 l). Se añadió MnO_2 (9536 g) y la mezcla se calentó hasta reflujo suave. La TLC (EA 1: 1: hexano) mostró una reacción completa después de 1 hora.

30 La mezcla de reacción se filtró luego en caliente a través de una almohadilla precalentada de Celite (1530 g, capa inferior), carbón activado (2230 g, capa intermedia) y Celite (932 g, capa superior). El filtrado de color amarillo anaranjado fue recolectado.

El filtrado se concentró en el rotavapor hasta aproximadamente 1/10 de volumen. La suspensión se filtró y se lavó con tolueno. Los cristales se secaron luego a 50°C para dar 952 g (42%) de un sólido color amarillo oscuro. HPLC: 99,94%. ^1H RMN no mostró naftodihidrofurano.

35 Los cristales se secaron a 50 ° C bajo vacío durante 46-65 horas adicionales para reducir la cantidad de tolueno residual en el material.

Ejemplo 10: Tratamiento con acetato de etilo

40 El Compuesto 1 (5816 g) se cargó en un recipiente de reacción de 200 l. Se añadió acetato de etilo (145 l, 25 ml/g) y la solución se calentó hasta reflujo durante 2 horas y 26 minutos. El reflujo se mantuvo durante 5 horas y 30 minutos, y la mezcla se enfrió luego y se mantuvo durante la noche a 17°C.

La suspensión se filtró en una frita de polietileno. Los cristales amarillos se secaron al aire, luego se colocaron en bandejas en un horno de vacío durante 75 horas, dando 5532 g (95.1% de rendimiento) de sólidos amarillos. HPLC: 99.86%. ^1H RMN coincide con la estructura del Compuesto 1.

Ejemplo 11: recristalización de acetato de etilo

Se cargó un RBF de 2 l con material crudo (10 g) y acetato de etilo (900 ml). La mezcla se sometió a reflujo a ~ 77°C y luego se añadió más acetato de etilo (100 ml) para conseguir la disolución completa. La solución amarilla clara resultante se agitó a reflujo durante ~30 minutos, y luego se retiró el calentamiento. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente.

- 5 La suspensión resultante se filtró y los sólidos amarillos recogidos se enjuagaron en el embudo con acetato de etilo (30 ml). El sólido húmedo se secó en un horno de vacío a 40-50 °C, durante 4 horas, para obtener 8,53 g de producto cristalino amarillo (rendimiento total ~17%).

¹H RMN: consistente con la estructura; HPLC: 99.94 % de área; DSC: 228,68 °C, 151 J/g.

10 **Ejemplo 12: Identificación de compuestos de naftofurano que se dirigen al cáncer y a las células madre cancerosas**

Métodos

- 15 Evaluaciones en vida: también se realizaron exámenes diarios del estado de salud de cada animal. Los pesos corporales se revisaron cada tres días. La comida y el agua se suministró diariamente de acuerdo con los procedimientos de cría de animales de la instalación. El tratamiento que produce > 20% de letalidad y/o > 20% de pérdida neta de peso corporal se consideró tóxico. Los resultados se expresan como volumen tumoral medio (mm³) ± SE. Los valores de P <0.05 se consideran estadísticamente relevantes.

- 20 Cría de animales: Ratones desnudos atímicos machos o hembras de 4 a 5 semanas (Charles River Laboratories, Wilmington, MA), se aclimataron a la instalación de alojamiento de animales durante al menos 1 semana antes del inicio del estudio. Todos los procedimientos experimentales utilizados fueron consistentes con las pautas delineadas por la American Physiology Society y la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals y también fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee of Boston Biomedical Inc. Los animales fueron alojados en grupos de cuatro en jaulas con lechos de madera en una habitación con temperatura controlada (68°F-72°F), luz (ciclo de luz y oscuridad de 12 h) y humedad (45-55%). A los animales se les permitió el libre acceso al agua y a la comida durante el experimento.

25 **Ejemplo 13: Ensayo clínico: seguridad y eficacia**

- 30 Se escogió 2-acetilnafto[2,3-b]furan-4,9-diona para entrar en la Fase I de ensayos clínicos después de recibir la aprobación IND de la FDA de EE. UU. y Health Canada, que fue un estudio de aumento de la dosis en pacientes adultos con cáncer avanzado que tenían terapias estándar fallidas. Un ciclo consiste en administración oral dos veces al día del compuesto durante 4 semanas. Los ciclos se repitieron cada 4 semanas (28 días) hasta que se alcanzara la progresión de la enfermedad, la toxicidad inaceptable u otro criterio de interrupción. El ensayo de aumento de la dosis se realizó como ensayo de etiqueta abierta y multicéntrico. Se usó un esquema de titulación acelerado de Simon modificado para la intensificación de la dosis.

- 35 El objetivo principal del ensayo fue determinar la seguridad, la tolerabilidad y la dosis de fase II recomendada (RP2D). Los objetivos secundarios del ensayo fueron determinar el perfil farmacocinético del compuesto, la farmacodinámica del compuesto y la actividad antitumoral preliminar del compuesto.

- Los criterios de inclusión incluyen tumor sólido histológicamente o citológicamente confirmado que es metastásico, irresecable o recurrente; ≥ 18 años de edad; Enfermedad medible por RECIST; y Karnofsky ≥ 70%. Los criterios de exclusión incluyeron quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia o agente de investigación dentro de las 4 semanas de la primera dosis; cirugía dentro de las 4 semanas de la primera dosis; y metástasis cerebrales conocidas.

- 40 Hasta el 7 de febrero de 2011, 42 pacientes con cáncer con diversos tumores sólidos avanzados a quienes les ha fallado la quimioterapia se inscribieron en el estudio. Las características demográficas y de la enfermedad inicial de los pacientes seleccionados bajo los criterios anteriores se resumieron en la Tabla 7.

Tabla 7. Datos demográficos y características de la enfermedad de referencia

	Pacientes (N=42)	
Edad (años)	Media	59.6 (12.7)

	Pacientes (N=42)	
	Min, Max	28, 91
Sexo [N (%)]	Hombre	29 (70.7%)
	Mujer	12 (29.3%)
Raza [N (%)]	Caucásico	33 (80.5%)
	Asiático	3 (7.3%)
	Negro	1 (2.4%)
	Otro	2 (4.9%)
	Hispano	0 (0%)
Terapias previas ¹	>3	20
	2	2
	1	4

5 De esos 42 pacientes, se evaluaron 10 cohortes en dosis que varían de 20 mg a 2000 mg/día. La intensificación de la dosis fue bien tolerada y no se observó toxicidad limitante de la dosis. Los eventos adversos fueron generalmente leves siendo el más común: diarrea, náuseas y fatiga. Los eventos de grado 3 o superior incluyen: fatiga y diarrea. Estos eventos adversos son grabaciones de lo que experimentan estos pacientes con cáncer en etapa tardía durante el ensayo clínico, que pueden estar relacionados o no con el Compuesto 1. Los eventos adversos se resumieron en la Tabla 8

Tabla 8. Resumen de eventos adversos

Término del evento	Cualquier Grado		Grado 1		Grado 2		Grado 3	
	% de Eventos	% del Total	% de Eventos	% del Total	% de Eventos	% del Total	% de Eventos	% del Total
Diarrea	23	28.4%	20	24.7%	2	2.5%	2	2.5%
Vómitos	14	17.3%	13	16.0%	1	1.2%	0	0.0%
Náusea	10	12.3%	8	9.9%	2	2.5%	0	0.0%
calambres abdominales	6	7.4%	5	6.2%	1	1.2%	0	0.0%
debilidad	5	6.2%	2	2.5%	3	3.7%	0	0.0%
Fatiga	4	4.9%	1	1.2%	2	2.5%	1	1.2%
Anorexia	4	4.9%	3	3.7%	1	1.2%	0	0.0%
disgeusia	3	3.7%	3	3.7%	0	0.0%	0	0.0%
disminución del apetito	2	2.5%	1	1.2%	1	1.2%	0	0.0%
Fiebre	2	2.5%	1	1.2%	1	1.2%	0	0.0%
erupción cutánea	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
mareo	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
deposiciones sueltas	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%
Cambio de Color de la Orina	2	2.5%	2	2.5%	0	0.0%	0	0.0%

10 Hasta la fecha, ni MTD ni RP2D han sido alcanzados. Las dosis a través de aproximadamente 1000 mg/día del compuesto mostraron una farmacocinética favorable con farmacocinética lineal aparente y ninguna evidencia de acumulación de fármaco tras la dosificación diaria repetida cada 28 días. En el nivel de dosis de 320 mg/día, la

concentración en plasma del compuesto se mantuvo durante más de 8 horas a una concentración de al menos 1,5 μM (IC_{50} del compuesto in vitro: 30-500 nM). Las concentraciones plasmáticas medias de diferentes grupos de dosis se muestran en la Figura 12.

5 De los 42 pacientes dosificados, 24 fueron evaluables para respuesta tumoral desde el 7 de febrero de 2011; 16 (16/24 pacientes evaluables) lograron una enfermedad estable (de 8 a 75+ semanas). Los pacientes inscritos hasta la fecha se resumen en la Tabla 9.

Tabla 9. Pacientes inscritos en la fecha

Paciente	Dosis Diaria Total (mg)	Programa	Diagnóstico	Mejor Respuesta (RECIST 1.1)	Nuevas Lesiones
0001	20	qd	Adenocarcinoma de colon	MR (regresión 27.6%)	1
0002	40	qd	Adenocarcinoma gástrico	PD	3
0003	80	qd	Carcinoma de cabeza y cuello	SD	0
0004	80	bid	Adenocarcinoma de colon	PD	0
0005	160	bid	Melanoma	n.e	n.e.
0006	160	bid	Adenocarcinoma de pulmón	SD	0
0007	320	bid	Adenocarcinoma de pulmón	n.e	n.e.
0008	320	bid	Adenocarcinoma de colon	SD	2
0009	320	bid	Carcinoma de cabeza y cuello	n.e	n.e.
0010	320	bid	Adenocarcinoma de colon	SD	0
0011	320	bid	Angiosarcoma	SD	0
0012	320	bid	Cáncer de próstata	PD	0
0013	400	bid	Adenocarcinoma gástrico	SD (señales de regresión)	0
0014	400	bid	Cáncer de ovario	SD (CA125 normalización)	0
0015	400	bid	Adenocarcinoma de colon	SD (CEA? >30-50%)	0

Paciente	Dosis Diaria Total (mg)	Programa	Diagnóstico	Mejor Respuesta (RECIST 1.1)	Nuevas Lesiones
0016	600	bid	Adenocarcinoma pancreático	PD	0
0017	600	bid	Cáncer rectal	n.e	n.e.
0018	600	bid	Cáncer de próstata	n.e	n.e.
0019	600	bid	Cáncer de pulmón de NSC	n.e	n.e.
0020	600	bid	Cáncer de mama	SD (tumor hueco)	0
0021	800	bid	Condrosarcoma	SD	0
0022	800	bid	Cáncer de próstata	PD	0
0023	800	bid	Adrenocortical	SD	0
0024	1000	bid	Cáncer rectal	SD	0
0025	1000	bid	Sarcoma	PD	-
0026	1000	bid	Adenocarcinoma pancreático	n.e.	n.e.
0027	1400	bid	Adenocarcinoma de colon	PD	2
0028	1400	bid	Adenocarcinoma de colon	PD	-
0029	1400	bid	Melanoma	SD	-

Paciente	Dosis Diaria Total (m g)	Programa	Diagnóstico s	Mejor Respuesta (RECIST 1.1)	Nuevas Lesiones
0030	1000	bid	Adenocarcinoma de colon	n.e	n.e.
0031	1000	bid	Adenocarcinoma de colon	n.e	n.e.
0032	200	tid	Adenocarcinoma de colon	SD	0
0033	500	tid	Adenocarcinoma de colon	n.e	n.e.
0034	500	tid	Adenocarcinoma de vejiga	n.e	n.e.
0035	500	tid	Cáncer colorrectal	n.e	n.e.
0036	500	tid	Cáncer rectal	n.e	n.e.
0037	500	tid	Adenocarcinoma de colon	SD	0
0038	500	tid	Cáncer pancreático	n.e	n.e.
0039	200	tid	Cáncer GEJ	-	-
0040	500	bid	Cáncer colorrectal	-	-
0041	500	bid	Cáncer colorrectal	-	-
0042	500	bid	Adenocarcinoma de colon	-	-

16/24 pacientes evaluables muestran SD/MR con 12 mostrando SD prolongada (> 12 semanas) por RECIST 1.1; Se evitaron nuevas lesiones metastásicas en el 83% de los pacientes dosificados.

5 La regresión completa de una lesión metastásica de cáncer de colon en el riñón en el paciente 0001 se muestra en la Figura 19. En la administración diaria de 20 mg, se observó una alta concentración del compuesto en la orina del paciente. El enriquecimiento del compuesto en la orina (Tabla 10) explica la regresión completa observada a dosis relativamente bajas.

10 La regresión completa de una lesión metastásica de cáncer de colon en el riñón en el paciente 0001 se muestra en la Figura 19. En la administración diaria de 20 mg, se observó una alta concentración del compuesto en la orina del paciente. El enriquecimiento del compuesto en la orina podría ayudar a explicar la regresión completa observada a dosis relativamente bajas.

Tabla 10. El compuesto 1 está presente a alta concentración en la orina del paciente

Paciente	Dosis diaria total (mg)	Tiempo posterior a la dosis (min)	BBI608 (uM)
7	320	120-240	4.3
		360-480	23.1
8	320	120-240	7.9
		360-480	1.8
9	320	120-240	8.9

ES 2 659 541 T3

Paciente	Dosis diaria total (mg)	Tiempo posterior a la dosis (min)	BBI608 (uM)
		360-480	23.6
10	320	120-240	22.7
		360-480	26.2
11	320	120-240	1.8
		360-480	4.5
12	400	120-240	4.11
		360-480	3.86
14	400	120-240	1.42
		360-480	5
15	600	120-240	3.1
		360-480	10.65
17	600	120-240	1.66
		360-480	45.35
18	600	120-240	2.41
		360-480	6.3
20	800	120-240	6.17
		360-480	118.25
21	800	120-240	0.42
		360-480	7.42
23	800	120-240	2.51
		360-480	11.97

Por consiguiente, el compuesto mostró un excelente perfil de seguridad. No se observó toxicidad limitante de la dosis hasta la fecha.

También se observó un perfil PK favorable con dosificación oral bid. La concentración plasmática alcanzó varios pliegues sobre la concentración eficaz (IC₅₀ in vitro). Los datos AUC se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Resumen de AUC para diferentes niveles de dosis

Dosis diaria total (mg) Dosificación BID	AUC ₀₋₂₄ (uM*hr)	SD
80	7.95	
160	9.52	0.91
320	29.79	14.95
400	53.61	19.55
600	27.27	5.97
800	26.43	5.27
1000	42.61	8.94
1400	28.38	3.95
2000	39.09	18.66

- 5 Además, se observaron signos de actividad antitumoral. 16 de 24 pacientes mostraron SD/MR por RECIST en un rango de tumores que son refractarios a las quimioterapias, incluido el adenocarcinoma colorrectal, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer gástrico y cáncer de ovario, melanoma. Hubo una regresión completa de una lesión metastásica de cáncer de colon al riñón (Figura 19). Los pacientes tratados con el Compuesto 1 exhibieron una dramática falta de nuevas lesiones tumorales metastásicas. De los 24 pacientes evaluables con cánceres refractarios avanzados, más del 80% no mostraron tumores metastásicos.

Los pacientes lograron una enfermedad estable y prolongada (> 16 semanas) durante el tratamiento con BBI608 se encontraron niveles altos de p-STAT3 en sus tejidos tumorales antes del tratamiento por inmunohistoquímica usando anticuerpos anti-p-STAT3 (Figura 25).

Ejemplo 14: Regímenes de dosificación

- 15 La cantidad terapéuticamente efectiva de la composición farmacéutica que incluye partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención puede ser una dosis diaria total en el rango de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 2000 mg, de aproximadamente 240 mg a aproximadamente 1500 mg, o de aproximadamente 400 mg a aproximadamente 1000 mg.

- 20 Los regímenes de dosificación adecuados incluyen la administración de partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención en una única dosis diaria. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en una única dosis diaria en un rango de aproximadamente 20 mg QD a aproximadamente 1000 mg QD.

- 25 Los regímenes de dosificación adecuados incluyen administrar partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención en más de una dosis diaria. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en dos dosis diarias, donde la dosis diaria total está en el rango de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 2000 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en dos dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de aproximadamente 20 mg a 1000 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en dos dosis diarias, donde cada dosis está en un rango de aproximadamente 160 mg

a 600 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en dos dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de aproximadamente 200 mg a 500 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en dos dosis diarias, donde cada dosis es de aproximadamente 500 mg.

5 Los regímenes de dosificación adecuados incluyen la administración de partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención en tres dosis diarias, donde la dosis diaria total está en el rango de aproximadamente 60 mg a aproximadamente 1500 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en tres dosis diarias, donde cada dosis está en un rango de aproximadamente 20 mg a 500 mg. Por ejemplo, las partículas, polimorfos y/o formas purificadas de un Compuesto de la Invención se administran en tres dosis diarias, donde cada dosis está en el rango de 160 mg a 500 mg.

El régimen de dosificación en el que los sujetos humanos recibieron aproximadamente 500 mg de Compuesto 1 dos veces al día (es decir, 1000 mg de dosis diaria total) ha demostrado el logro de la mejor farmacocinética selectiva en casi todos los pacientes tratados. Este régimen de dosificación, que se denomina en este documento 500 mg de BID, ha demostrado las propiedades farmacocinéticas deseadas del Compuesto 1 en humanos (Figura 20).

15 En otro régimen de dosificación adecuado, se administran 500 mg de Compuesto 1 tres veces al día (TID) a sujetos humanos. Si bien el nivel de exposición del Compuesto 1 no se mejora significativamente mediante la dosificación tres veces al día en comparación con la dosificación dos veces al día, la dosificación TID aumenta el tiempo de exposición del fármaco en humanos. Este régimen de dosificación, al que se hace referencia en este documento como 500 mg de TID, ha demostrado buena tolerabilidad en humanos sin observarse efectos adversos significativos relacionados con el fármaco.

20 En aún otro régimen de dosificación adecuado, a aproximadamente o por encima de 20 mg de Compuesto 1 se administra una vez al día a sujetos humanos. Este régimen de dosificación, denominado en la presente memoria 20 mg QD, ha mostrado niveles terapéuticamente activos en pacientes, pero se elimina rápidamente de la sangre en humanos (Figura 21). Este régimen de dosificación ha demostrado buena tolerabilidad en humanos y signos de actividad antitumoral potente en una lesión de cáncer de colon en el riñón debido a la concentración muy alta del fármaco en la orina.

En aún otro régimen de dosificación adecuado, el Compuesto 1 se administra con leche con el estómago vacío que proporciona una farmacocinética deseable (Tabla 12).

Tabla 12. Efecto de la leche en la farmacocinética del Compuesto 1

Parámetro PK	En ayunas	Con leche	Factor de cambio
C _{max} (uM)	2.01	3.05	1.52
AUC _{0-24hrs}	20.12	31.40	1.56
C _{max} (uM)	2.55	2.89	1.13
AUC _{0-24hrs}	20.72	32.16	1.55

30 En aún otro régimen de dosificación adecuado, el Compuesto 1 se administra con alimentos que retrasa el T_{max} (Tabla 13).

Tabla 13. Tomar el Compuesto 1 con alimentos causa un retraso en T_{max}

Paciente	Tmax (hr)		
	En ayunas	Con leche	Con alimento
20	2	2	8
21	6	6	6
22	8	8	10
24	-	6.3	10
27	-	0.5	6
28	-	6	10

Ejemplo 15: Los compuestos de naftofurano prolongan la supervivencia libre de progresión

5 Se ha demostrado la prolongación de la supervivencia libre de progresión (PFS) en pacientes con cáncer colorrectal avanzado que son refractarios a la quimioterapia (figura 22). La prolongación de la supervivencia libre de progresión también se ha observado en pacientes con cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, cáncer de ovario, cáncer de mama triple negativo, melanoma, cáncer de adrenocorticoides y cáncer de pulmón.

La concentración de fármaco en sangre del Compuesto 1 por encima de 1 uM se correlacionó con un aumento en la supervivencia libre de progresión (Figura 23) en pacientes con diversos cánceres incluyendo colorrectal, gástrico, de cabeza y cuello, melanoma, condrosarcoma, pulmón, próstata, ovario, adrenocorticoide y angiosarcoma.

10 **Ejemplo 16: Perfil farmacocinético del Compuesto 1**

15 Se encontró que el Compuesto 1 era igualmente tóxico para las células cancerosas y las células normales, y se concluyó que no era posible tratar el cáncer (K. Hirai K. y col., Cancer Detection y Prevention, 23 (6) (1999) 539-550. ; Takano A. et al., Anticancer Research 29: 455-464, 2009). Los estudios descritos en este documento descubrieron de manera contraintuitiva que las células cancerosas y las células madre cancerosas requieren una exposición mucho más corta que las células normales para ser destruidas por el Compuesto 1. Las células normales pueden tolerar hasta 24 horas de exposición al Compuesto 1. Adicionalmente, los estudios aquí descubrieron que las células normales pueden recuperarse después de un corto período de exposición sin fármaco, mientras que las células cancerosas no pueden recuperarse una vez que están expuestas a una cierta concentración del Compuesto 1 durante al menos 2 horas. Con base en estos estudios, se diseñó una exposición farmacocinética especial [denominada perfil farmacocinético selectivo (SPP), o perfil farmacocinético preferido (PPP) que se usa indistintamente en esta publicación] para el Compuesto 1 utilizando los datos que se muestran a continuación en la Tabla 14 para lograr una actividad antitumoral selectiva en pacientes (Figura 24).

Tabla 14. Uso del tamaño de partícula para lograr la exposición farmacocinética (PK) preferida para aumentar la concentración de fármaco en plasma y reducir la toxicidad para las células normales

Tiempo de tratamiento	Compuesto 608 IC50 (uM)				
	Células normales			Células de cáncer	
	CD34+ BM Eritroide	CD34+BM Mieloide	PMBCs	DU145	HT29
4-12 h				<0.2	<0.5

Tiempo de tratamiento	Compuesto 608 IC50 (uM)				
	Células normales			Células de cáncer	
	CD34+ BM Eritroide	CD34+BM Mieloide	PMBCs	DU145	HT29
12-24 h	>30	>30	14	<0.2	<0.5
72 h			3		

La exposición adecuada de SPP o PPP a un Compuesto de la Invención tal como el Compuesto 1, partículas, polimorfos y/o formas purificadas de los mismos, es al menos o superior a 1,0 µM durante al menos 2 horas, y la concentración de fármaco en sangre debe eliminarse sustancialmente dentro de las 24 horas

5 Por ejemplo, el paciente mantiene una exposición a una concentración de un Compuesto de la Invención tal como el Compuesto 1, partículas, polimorfos y/o formas purificadas de los mismos de al menos 1,5 µM durante un período de tiempo definido, preferiblemente al menos 2 horas y el fármaco tiene que ser eliminado sustancialmente dentro de las 24 horas. Una exposición más prolongada al compuesto puede provocar toxicidad y/o pérdida de selectividad.

10 Para lograr este SPP o PPP deseado, se puede administrar un Compuesto de la Invención en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto, por ejemplo, un paciente, de un compuesto en el rango de al menos aproximadamente 0,02 µM a aproximadamente 30 µM. Por ejemplo, un Compuesto de la Invención se puede administrar en una dosis para alcanzar una concentración en sangre en un sujeto del compuesto al menos aproximadamente por encima de 0,5 µM durante un tiempo de al menos 2 horas, pero menos de 24 horas. Por ejemplo, un Compuesto de la Invención se puede administrar en una dosis para lograr una concentración en sangre en un sujeto del compuesto de al menos aproximadamente 2 µM durante un tiempo de al menos 2 horas, pero menos de 24 horas.

20 Preferiblemente, las células cancerosas deben exponerse a un Compuesto de la Invención tal como el Compuesto 1, partículas, polimorfos y/o formas purificadas del mismo durante 4 horas a una concentración mayor que 0,2 µM para inducir la muerte de células cancerosas. Sin embargo, la exposición prolongada no contribuye significativamente a la eficacia de un Compuesto de la Invención tal como el Compuesto 1, partículas, polimorfos y/o formas purificadas del mismo en la muerte de células cancerosas. El compuesto 1 exhibió actividad selectiva en matar células cancerosas y respetando células normales cuando la concentración de Compuesto 1 se mantuvo a una cantidad mayor que aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3 µM durante menos de 24 horas. Un tamaño de partícula reducido del Compuesto 1 logró este patrón farmacocinético preferido y actividad selectiva.

25 La actividad selectiva del Compuesto 1 para matar células cancerosas y preservar células normales está representada por los datos en la Tabla 14 y se ilustra en la Figura 24. La Exposición de células cancerosas al Compuesto 1 a concentraciones de 0.2 o 30 µM o superiores durante aproximadamente 4 horas hasta aproximadamente 24 horas mostraron la eliminación selectiva de células cancerosas y la preservación de las células normales. La exposición continua a estas concentraciones durante períodos de tiempo superiores a 24 horas dio como resultado una pérdida de selectividad, ya que las células normales también se dañaron. La exposición al Compuesto 1 a concentraciones en sangre inferiores a 0,5 µM no provocó la muerte de las células cancerosas, independientemente de la cantidad de tiempo de exposición.

35 Los regímenes de dosificación descritos en este documento exhiben este patrón de PK preferido. Por ejemplo, la PK exhibida en pacientes que reciben 500 mg de BID en pacientes es este patrón de exposición PK preferido (Figura 20) que muestra la exposición sostenida del Compuesto 1 por encima de los niveles terapéuticos con una eliminación sustancial del fármaco en 24 horas. Desde 80 mg BID hasta 200 mg BID, SPP o PPP se logró en pacientes con concentración de fármaco en plasma que aumenta la dosis de manera dependiente. Con 300 mg BID y 400 mg BID, pareció que la concentración del fármaco en plasma parecía tener un aumento adicional limitado sobre 200 mg BID. Sin embargo, se encontró que 500 mg BID puede ayudar sorprendentemente a reducir la variación entre pacientes, es decir, que todos los pacientes tratados pueden lograr SPP con una concentración de fármaco en plasma suficientemente alta (Figura 12). Finalmente, los pacientes que tienen exposición al Compuesto 1 por encima de 1,6 µM durante al menos 4 horas muestran una mejora en la supervivencia libre de progresión que muestra que este patrón de exposición conduce a una eficacia mejorada en humanos. La exposición PK del Compuesto 1 por encima de 1 µM se correlaciona con un aumento en la supervivencia libre de progresión (Figura 23) en pacientes con diversos cánceres incluyendo colorrectal, gástrico, de cabeza y cuello, melanoma, condrosarcoma, pulmón, próstata, ovario,

5 adrenocorticoide y angiosarcoma. Estos datos son muy diferentes de lo que uno esperaría de los experimentos preclínicos. En estudios preclínicos, el Compuesto demostró que mataba células cancerosas o células madre cancerosas con IC50 a aproximadamente 100 a 200 nM. Sin embargo, se observó clínicamente en pacientes que esas concentraciones no están asociadas con la actividad clínica. Por el contrario, la concentración plasmática debe alcanzar más de 1 uM para tener signos de actividad. Un aumento adicional de la concentración de fármaco en plasma a aproximadamente o superior a 2 uM o 3 uM se asocia con signos mejorados de actividad antitumoral.

10 Las realizaciones ilustradas y discutidas en esta especificación están destinadas únicamente a enseñar a los expertos en la técnica la mejor manera conocida por los inventores de realizar y usar la invención. Nada en esta especificación debe considerarse como limitante del alcance de la presente invención. Todos los ejemplos presentados son representativos y no limitativos. Las realizaciones de la invención descritas anteriormente pueden modificarse o variarse, sin apartarse de la invención, como apreciarán los expertos en la técnica a la luz de las enseñanzas anteriores. Por lo tanto, debe entenderse que, dentro del alcance de las reivindicaciones y sus equivalentes, la invención puede ponerse en práctica de otra manera que la descrita específicamente.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona caracterizada por un patrón de difracción de rayos X que incluye uno o más picos seleccionados del grupo que consiste en picos al menos en aproximadamente 7.5, 9.9, 11.4, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.1, 24.6, 25.0, 26.1, 27.0 y 28.4 grados 2θ y en donde la forma cristalina está en forma de partículas, teniendo las partículas un diámetro de menos de aproximadamente 150 μm .
2. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de la reivindicación 1, caracterizada por un patrón de difracción de rayos X que incluye dos o más picos seleccionados del grupo que consiste en picos al menos en aproximadamente 7.5, 9.9, 12.3, 15.0, 23.0, 23.3, 24.6 y 28.4 grados 2θ .
- 10 3. La forma cristalina 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de la reivindicación 1, obtenible mediante un método de preparación que comprende una etapa de sólidos en suspensión de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona en acetato de etilo.
4. Un proceso de preparación de la forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de la reivindicación 1, que comprende las etapas de:
- (a) hacer reaccionar 3-buten-2-ona con Br_2 para formar 3,4-dibromobuten-2-ona;
- 15 (b) desbromar 3,4-dibromobuten-2-ona para formar 3-bromo-3-buten-2-ona;
- (c) hacer reaccionar 3-bromo-3-buten-2-ona con 2-hidroxi-1,4-naftoquinona para formar 2-acetil-2,3-dihidropnafto[2,3-n]furan-4,9-diona;
- (d) hacer reaccionar 2-acetil-2,3-dihidropnafto[2,3-n]furan-4,9-diona con MnO_2 y tolueno para formar 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona;
- 20 (e) cristalizar la 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona; y
- (f) suspender 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona en acetato de etilo para formar una forma cristalina sólida de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona.
5. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde:
- 25 (i) la forma cristalina comprende partículas que tienen un diámetro en el rango de aproximadamente 0.02 a aproximadamente 20 micrómetros,
- (ii) la forma cristalina está en una composición farmacéutica que comprende una población de partículas de la forma cristalina, en donde opcionalmente aproximadamente 1%, aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 50%, o aproximadamente 90% del total acumulado de las partículas, tienen un diámetro en el rango de 0.2 μm a 20 μm o
- 30 (iii) la forma cristalina está en una composición farmacéutica que comprende una población de partículas de la forma cristalina, en donde 50% del total acumulado de las partículas (D_{50}) tiene un diámetro de aproximadamente 2 μm .
6. Una formulación farmacéutica que comprende una forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 5, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 35 7. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 5, o la formulación farmacéutica de la reivindicación 6, para usar en un método para tratar el cáncer.
8. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona para uso en el método de la reivindicación 7, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinoma colorrectal, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cabeza y cuello, melanoma, angiosarcoma, adenocarcinoma y adrenocorticoides gástricos, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de hígado, tumor cerebral, leucemia, mieloma múltiple, cáncer gástrico, linfoma, cáncer cervical meduloblastoma, carcinoma de células renales, carcinoma hepatocelular, cáncer de esófago, glioma, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de endometrio, cáncer de tiroides, cáncer de conductos biliares, cáncer de huesos, cáncer de ojo (retinoblastoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer pituitario, cáncer de recto, cáncer de glándula salival y cáncer nasofaríngeo.
- 40

9. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona para uso en el método de la reivindicación 7, en donde el cáncer es refractario, recurrente, metastásico o está asociado a la sobreexpresión de STAT3 activado.
10. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o 5, o la formulación farmacéutica de la reivindicación 6, para su uso en un método para tratar el cáncer que comprende la prolongación de la supervivencia libre de progresión (PFS) en un paciente con cáncer
- 5
11. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona para uso en el método de la reivindicación 10, en donde el método comprende mantener una concentración de fármaco en sangre por encima de 1 μm durante al menos 2 horas y menos de 24 horas.
12. La forma cristalina de 2-acetil-4H, 9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona para uso en el método de la reivindicación 10, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, adenocarcinoma gástrico, cáncer de ovario, cáncer de mama, cáncer de mama triple negativo, melanoma, cáncer adrenocorticoide, cáncer de pulmón, cáncer colorrectal, adenocarcinoma colorrectal, condrosarcoma, cáncer de próstata y angiosarcoma.
- 10
13. La forma cristalina de 2-acetil-4H,9H-nafto[2,3-b]furan-4,9-diona para uso en el método de la reivindicación 10, en donde el cáncer es refractario, recurrente, metastásico o asociado con la sobreexpresión de STAT3 activado.
- 15
14. La formulación farmacéutica de la reivindicación 6, en donde la formulación farmacéutica proporciona un perfil de liberación rápida.

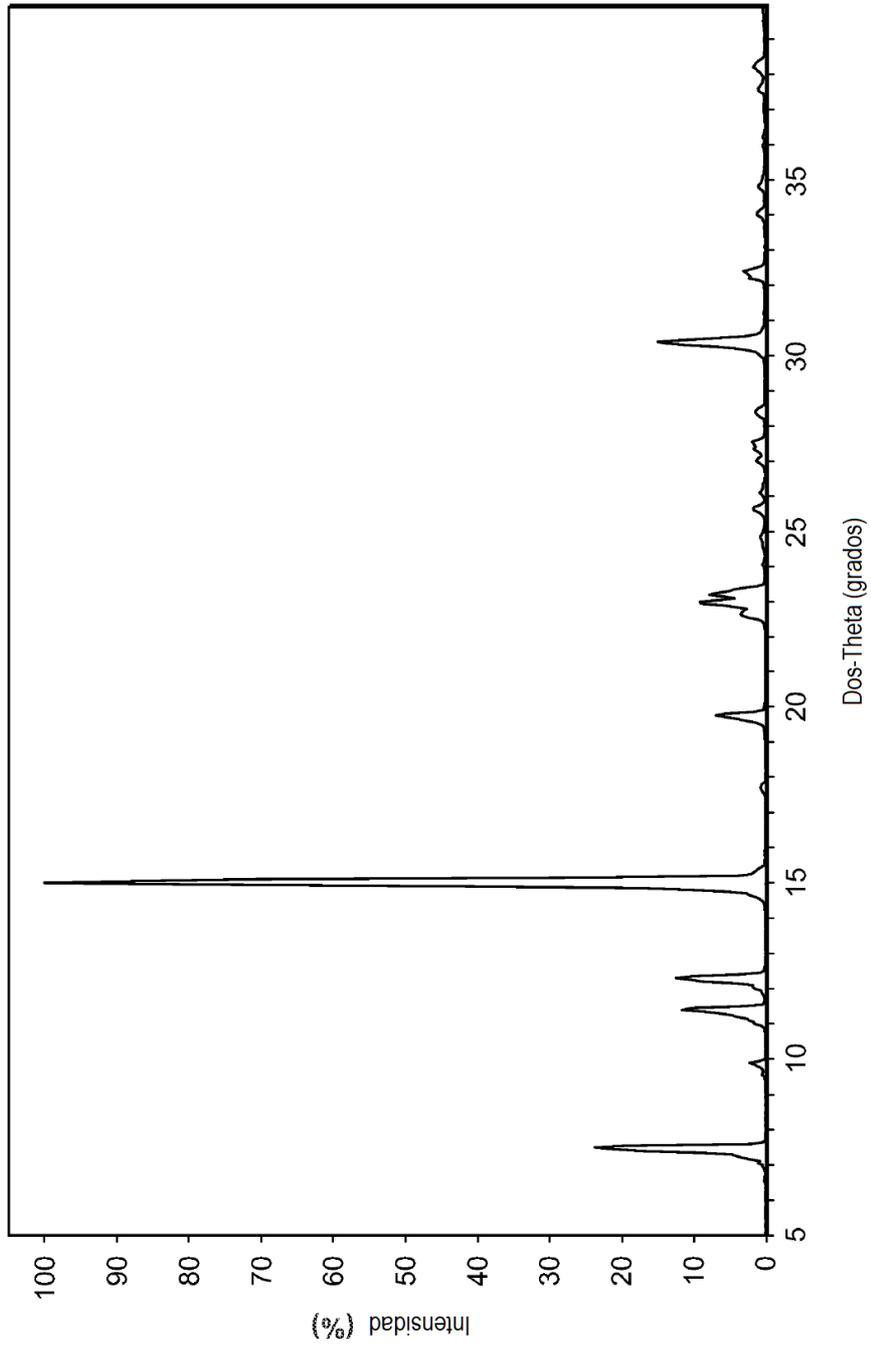


FIG. 1

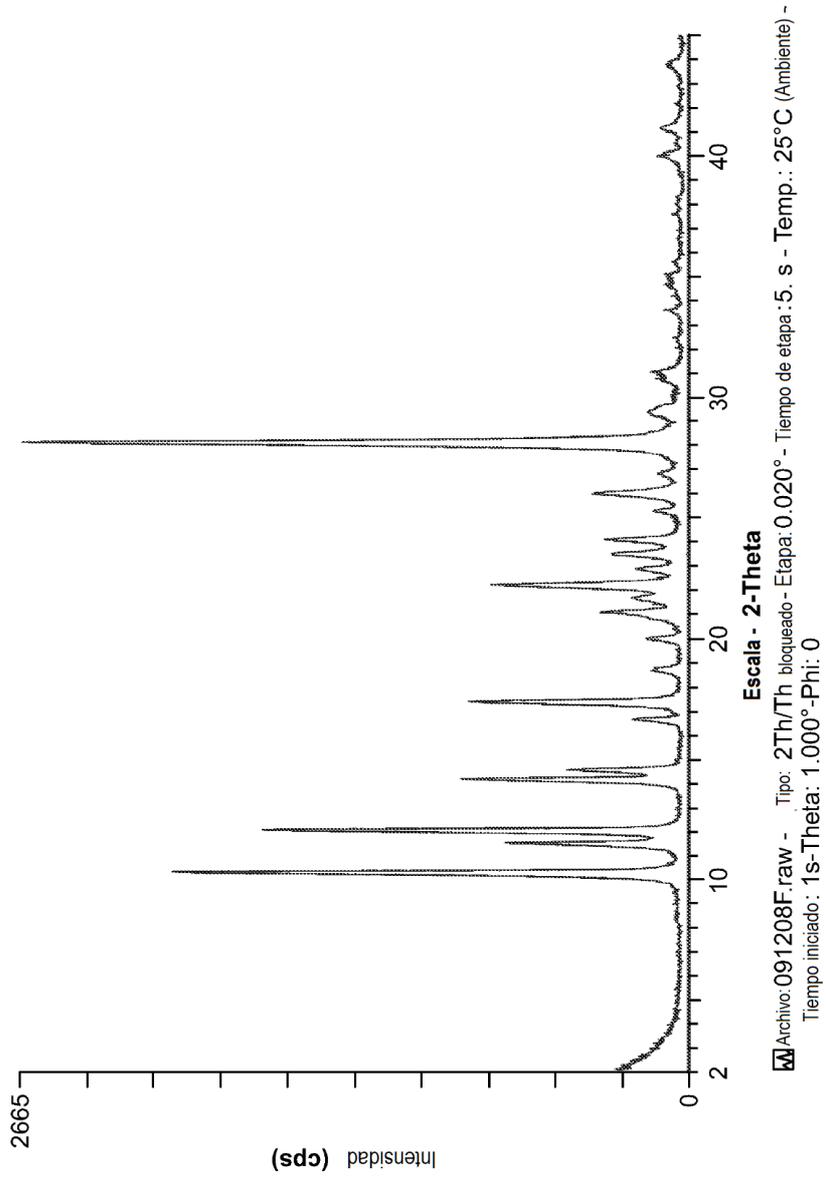


FIG. 2

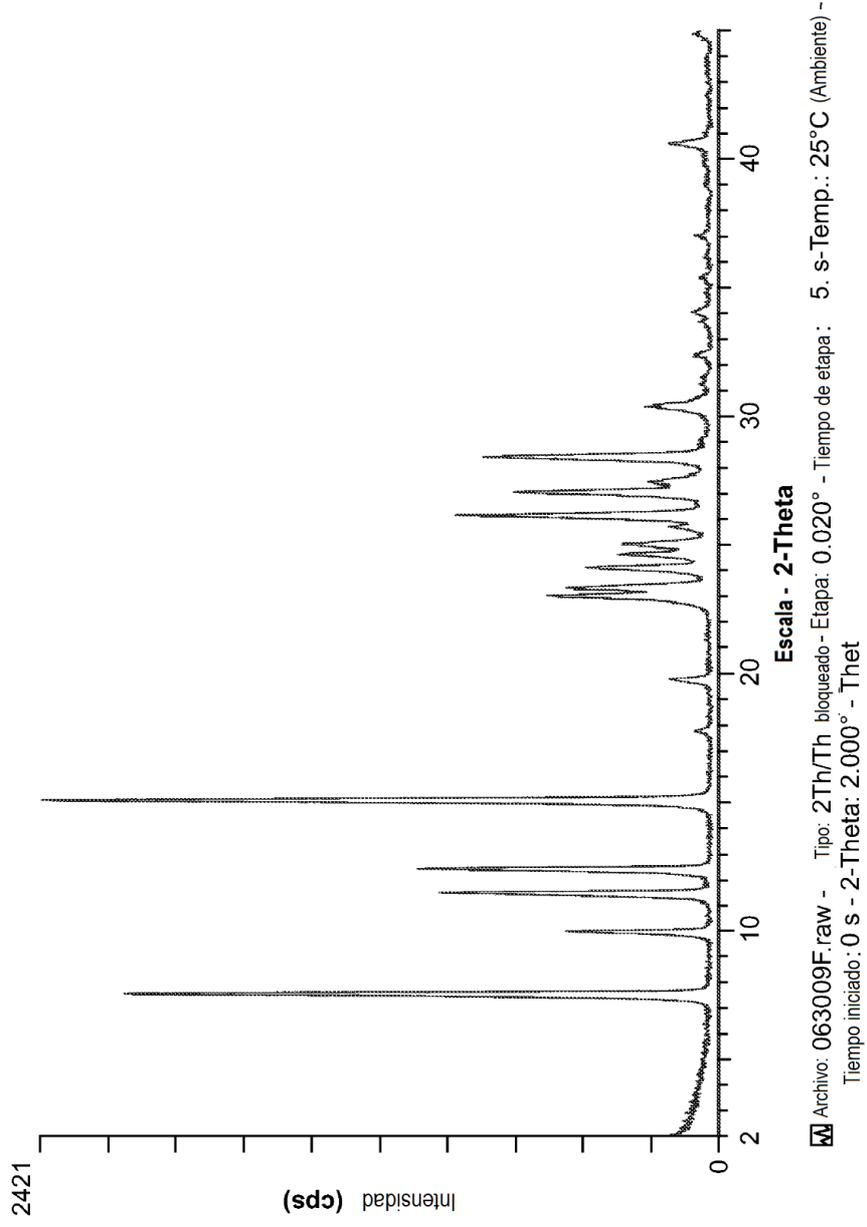


FIG. 3

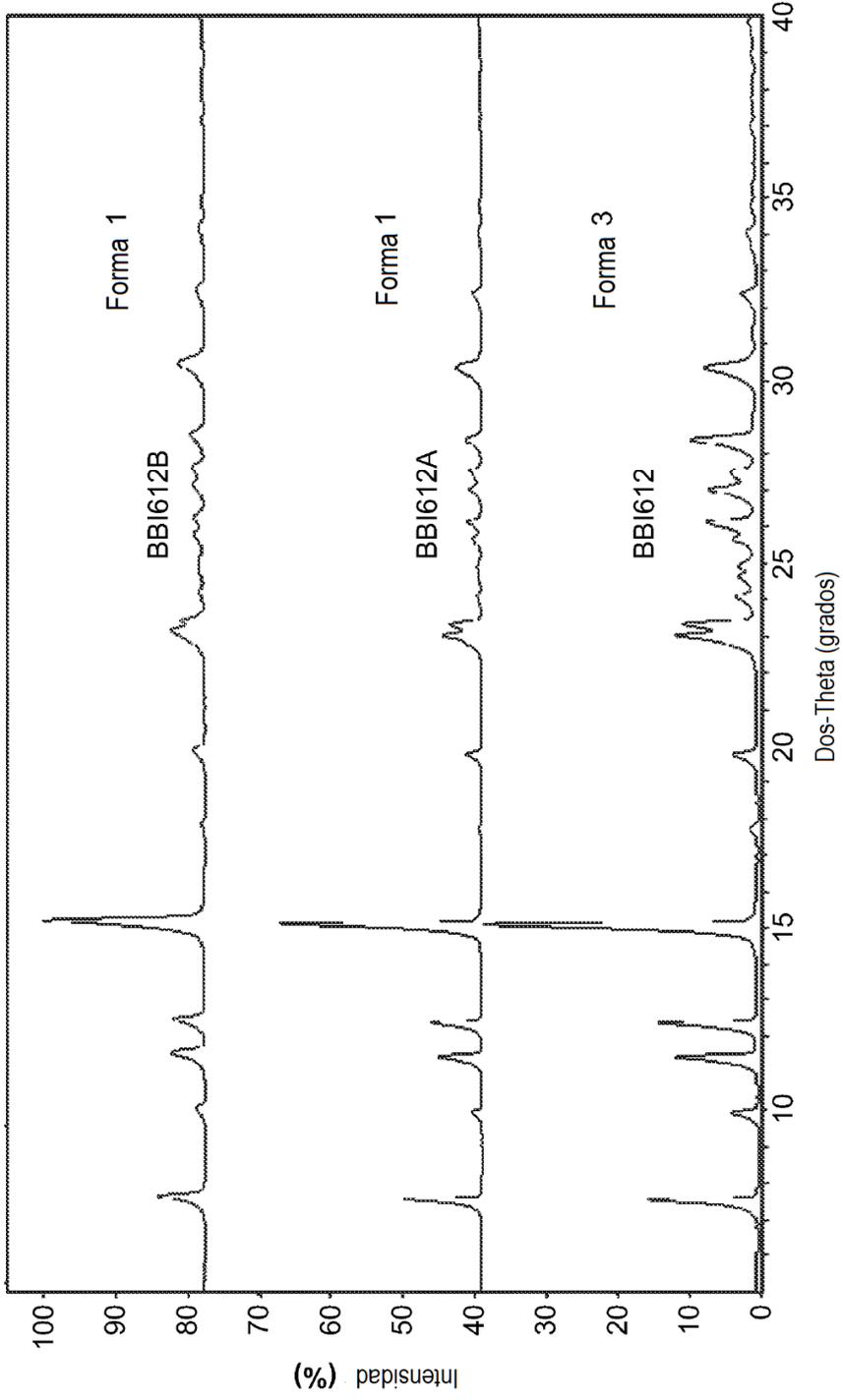
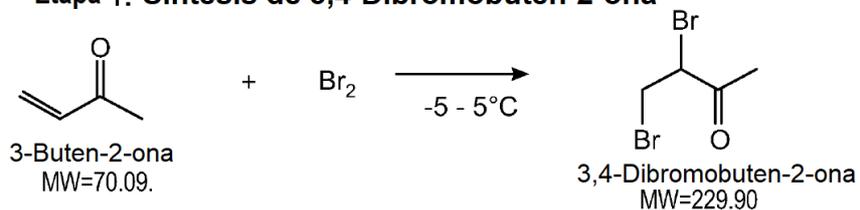


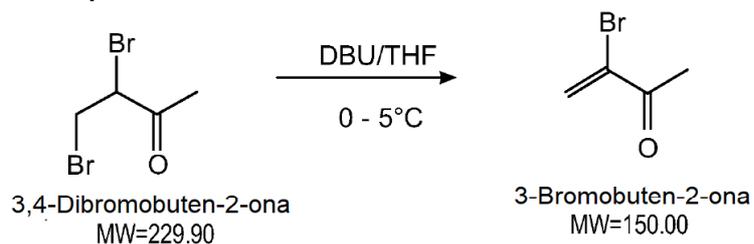
FIG. 4

Diagrama de flujo del proceso

Etapa 1: Síntesis de 3,4-Dibromobuten-2-ona



Etapa 2: Desbromación de 3-Bromobuten-2-ona



Etapa 3: Síntesis del Compuesto 1

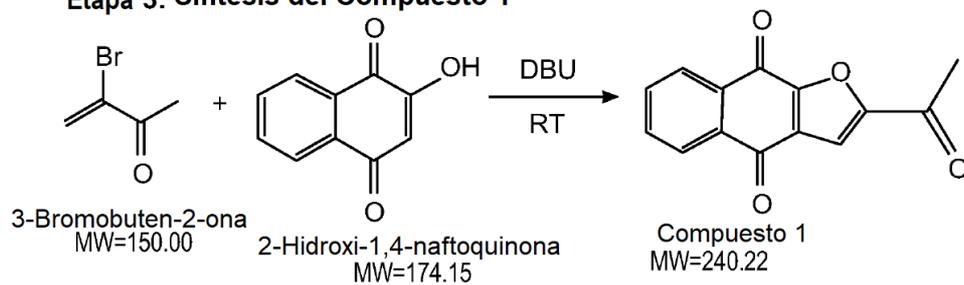


FIG. 5A

Diagrama de flujo del proceso

Diagrama de flujo del proceso de Compuesto 1: Síntesis/Aislamiento crudo

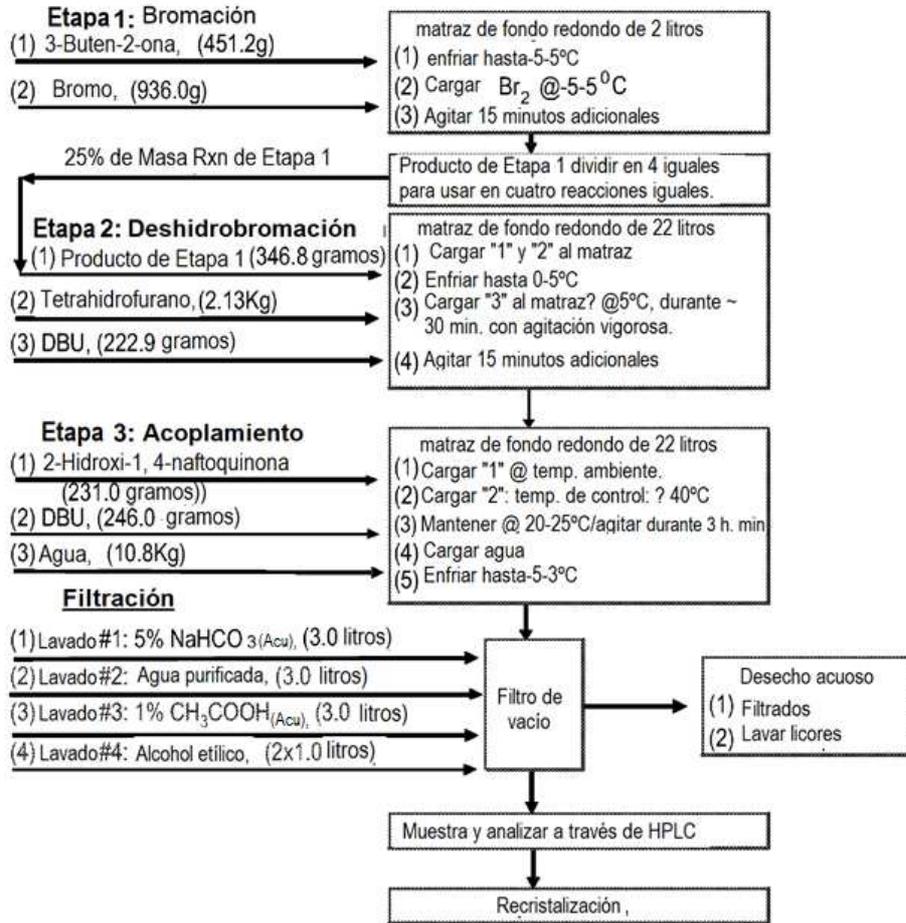


FIG. 5B

FIG. 6A

ESQUEMA SINÉTICO DE COMPUESTO 1

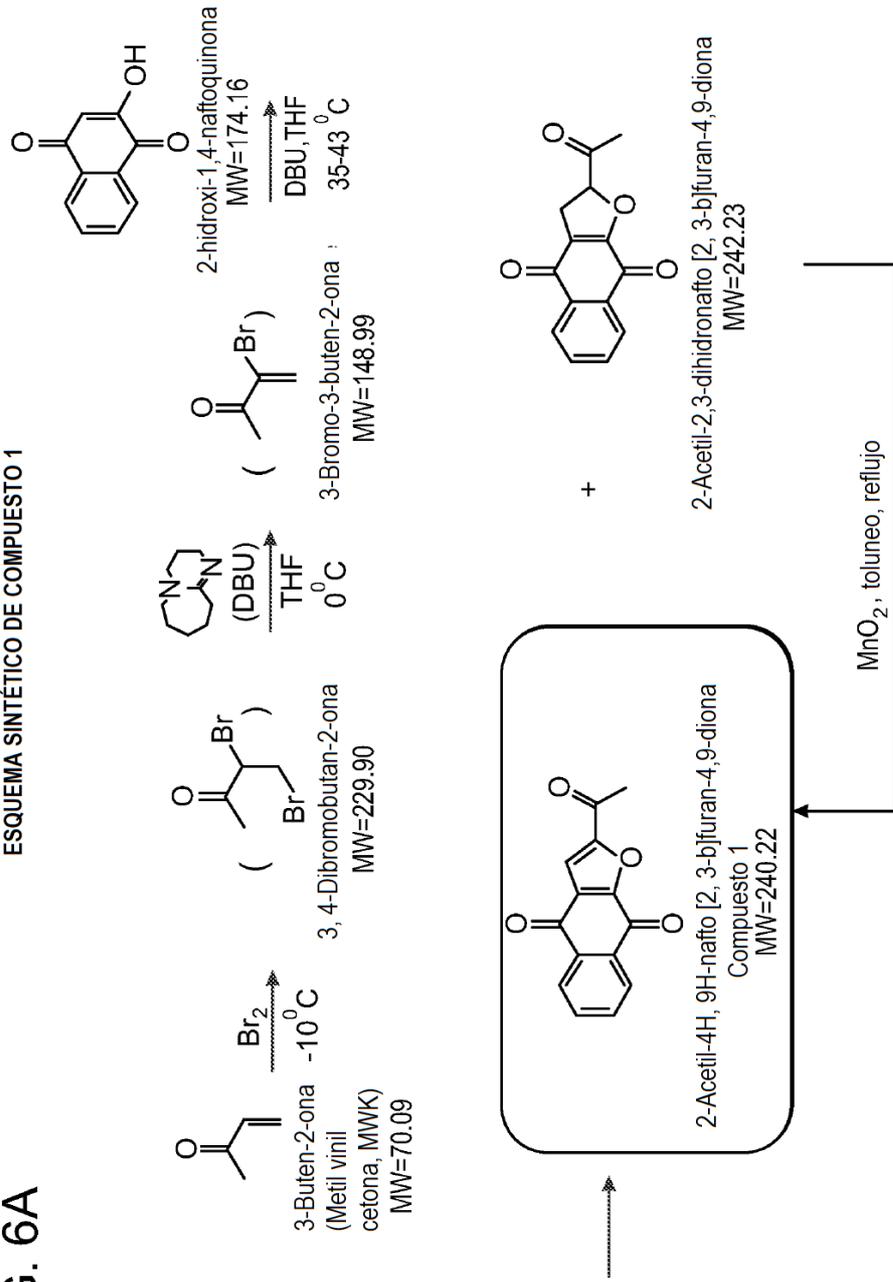


Diagrama de flujo del proceso: Etapa 1: Síntesis del Compuesto 1 crudo

FIG. 6B

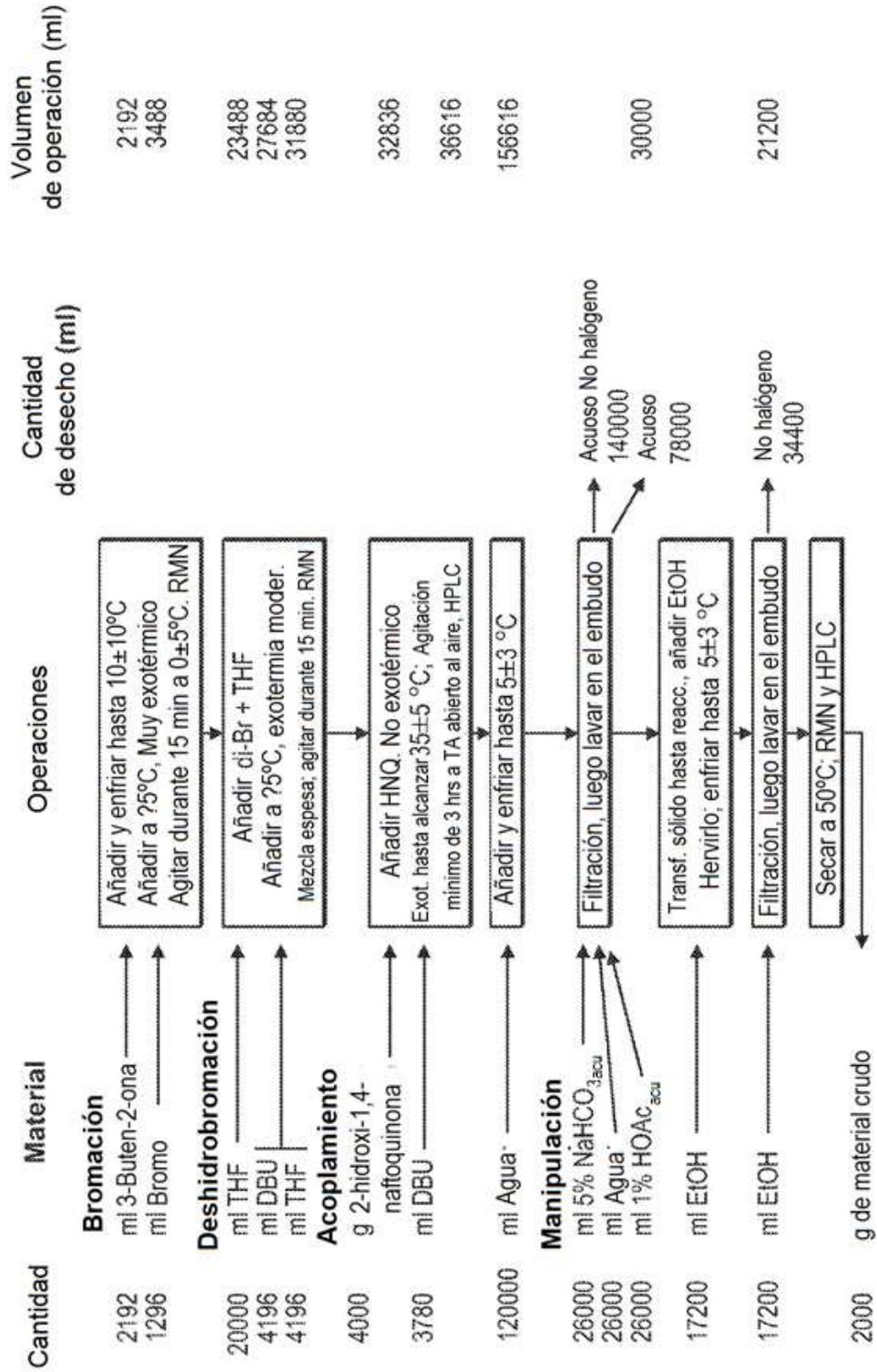


FIG. 6C Diagrama de flujo del proceso: Etapa 2: Tratamiento de Oxidación/Carbón act

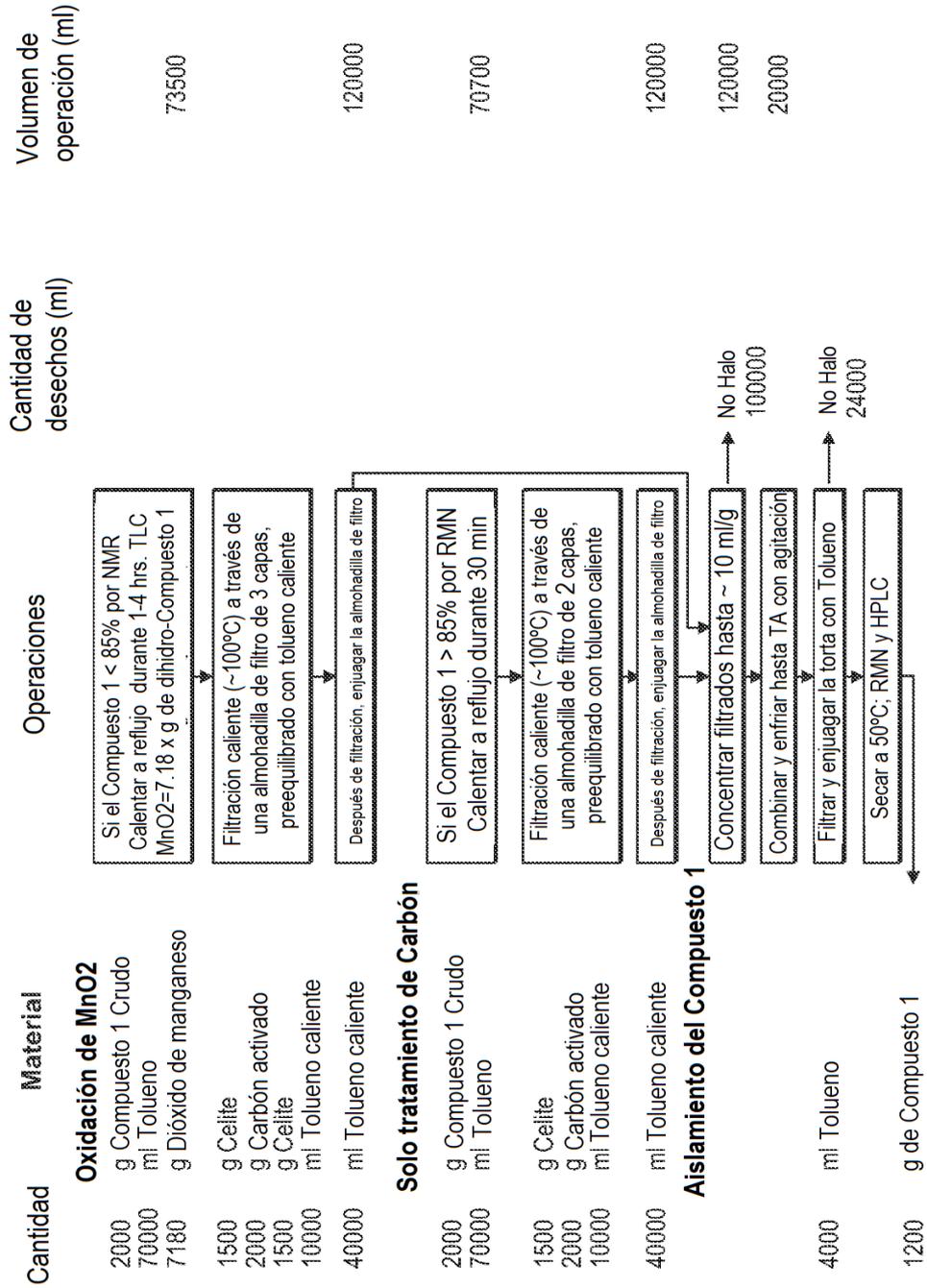
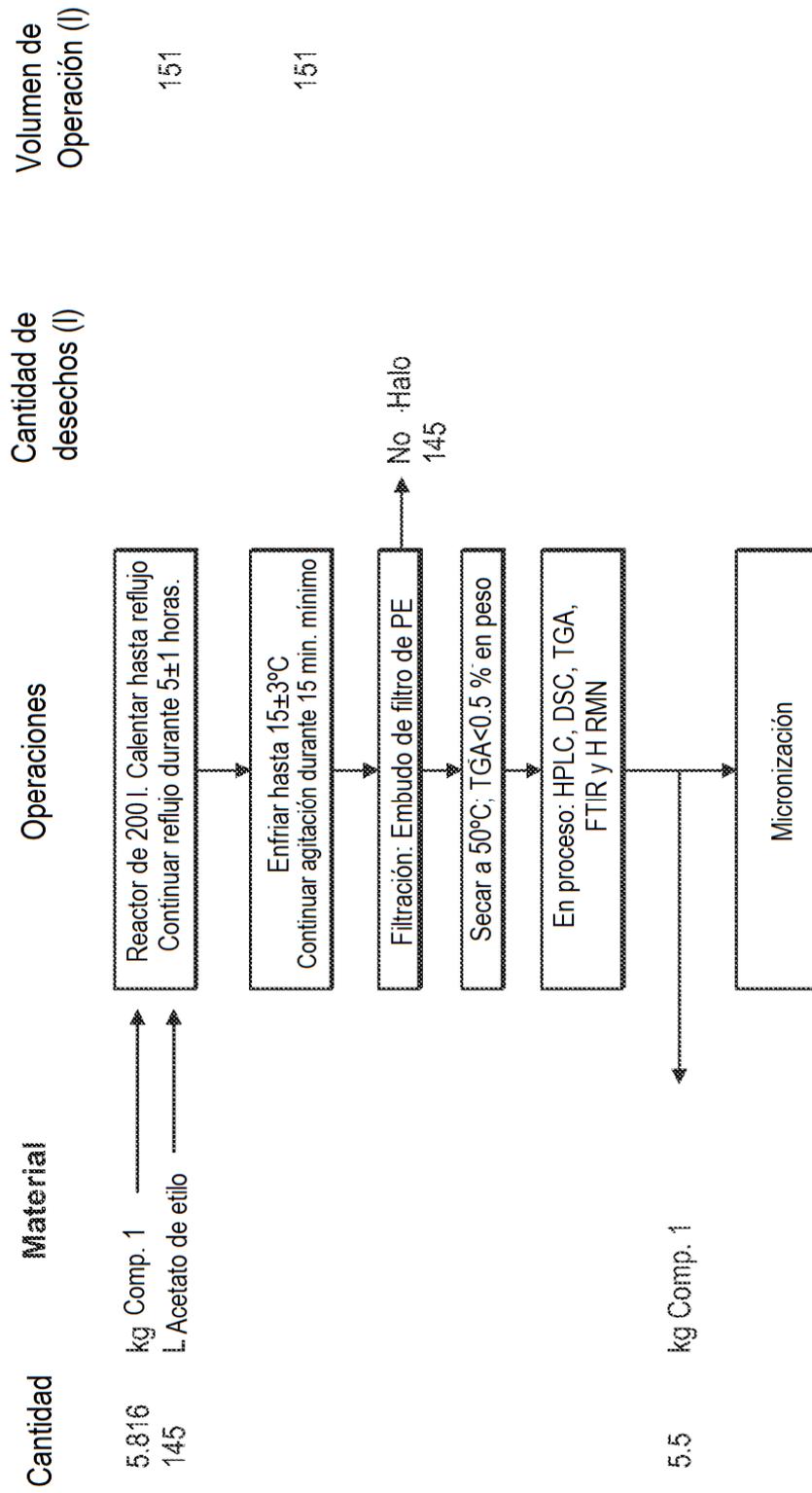


FIG. 6D Diagrama de flujo del proceso: Etapa 3: Tratamiento de acetato de etilo del Compuesto 1



Forma Cristalina 1

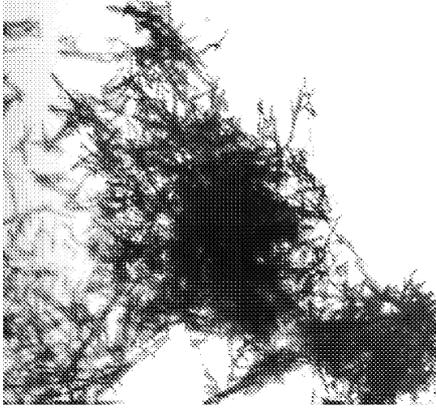


FIG. 7A

Forma Cristalina 3

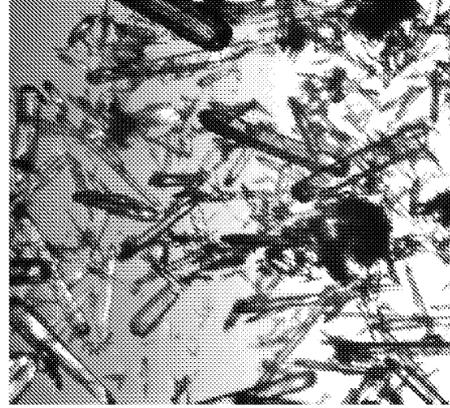


FIG. 7B

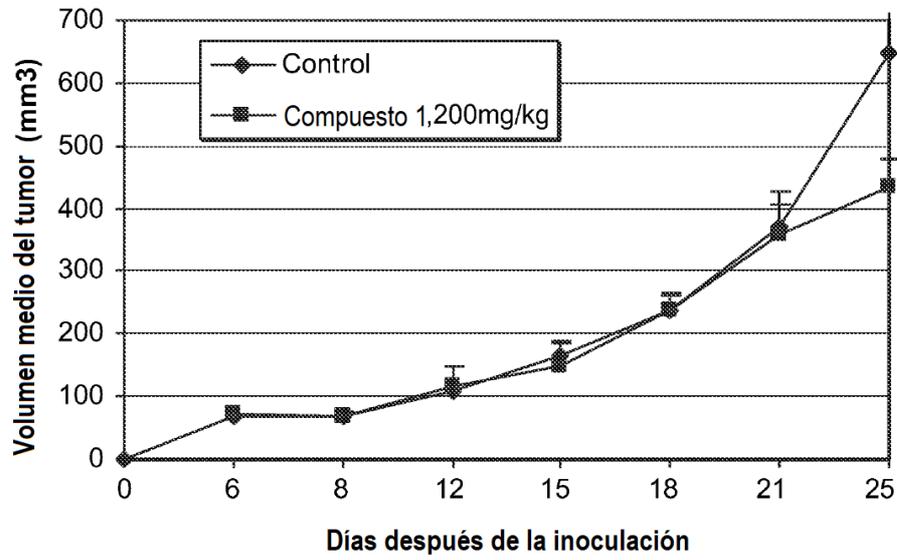


FIG. 8

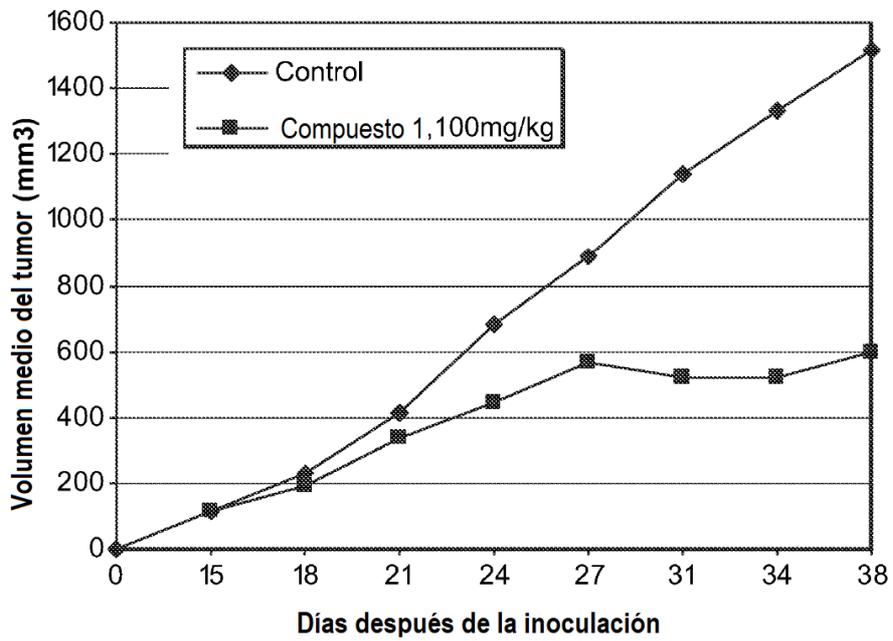


FIG. 9

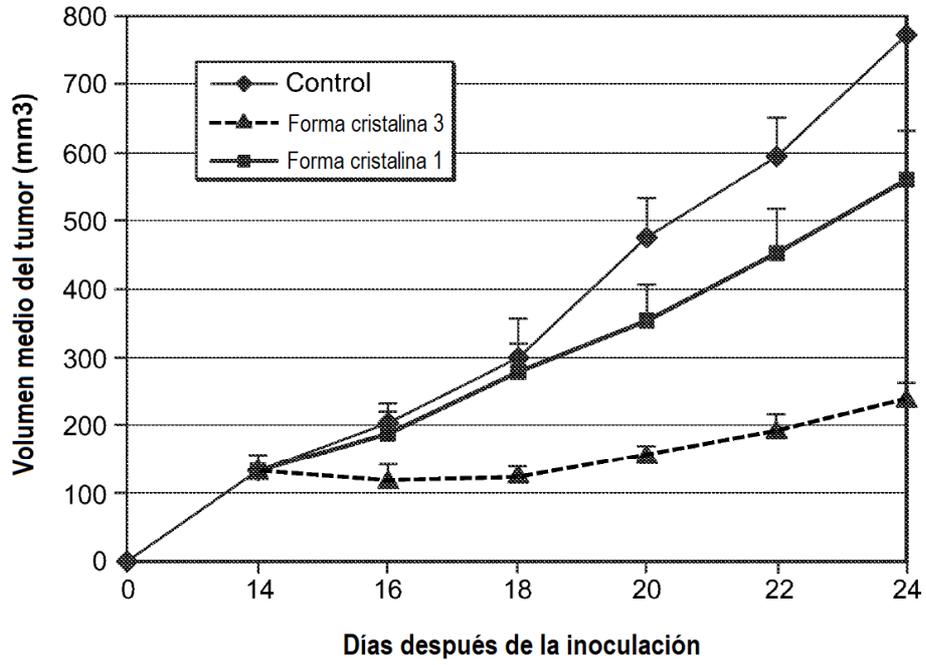


FIG. 10

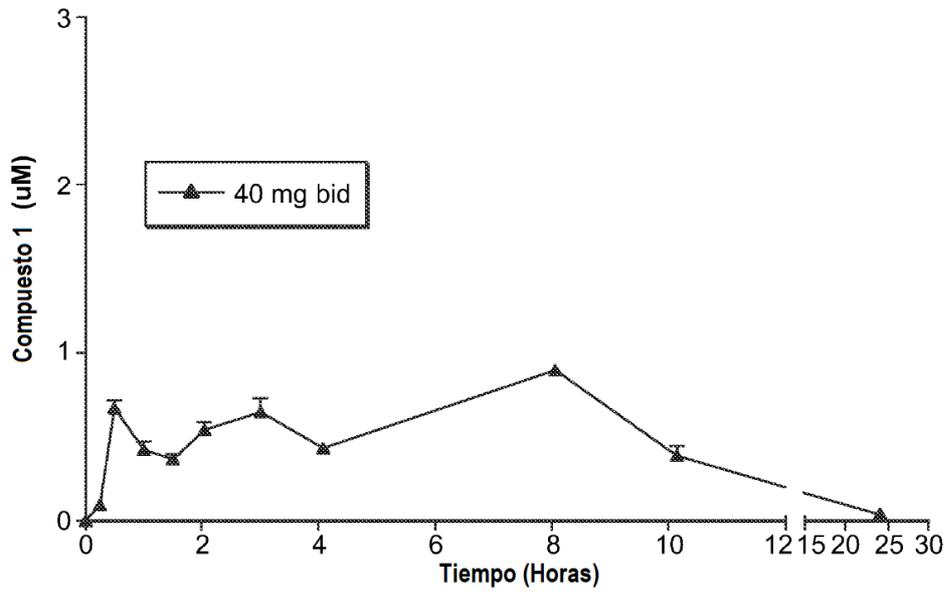


FIG. 11

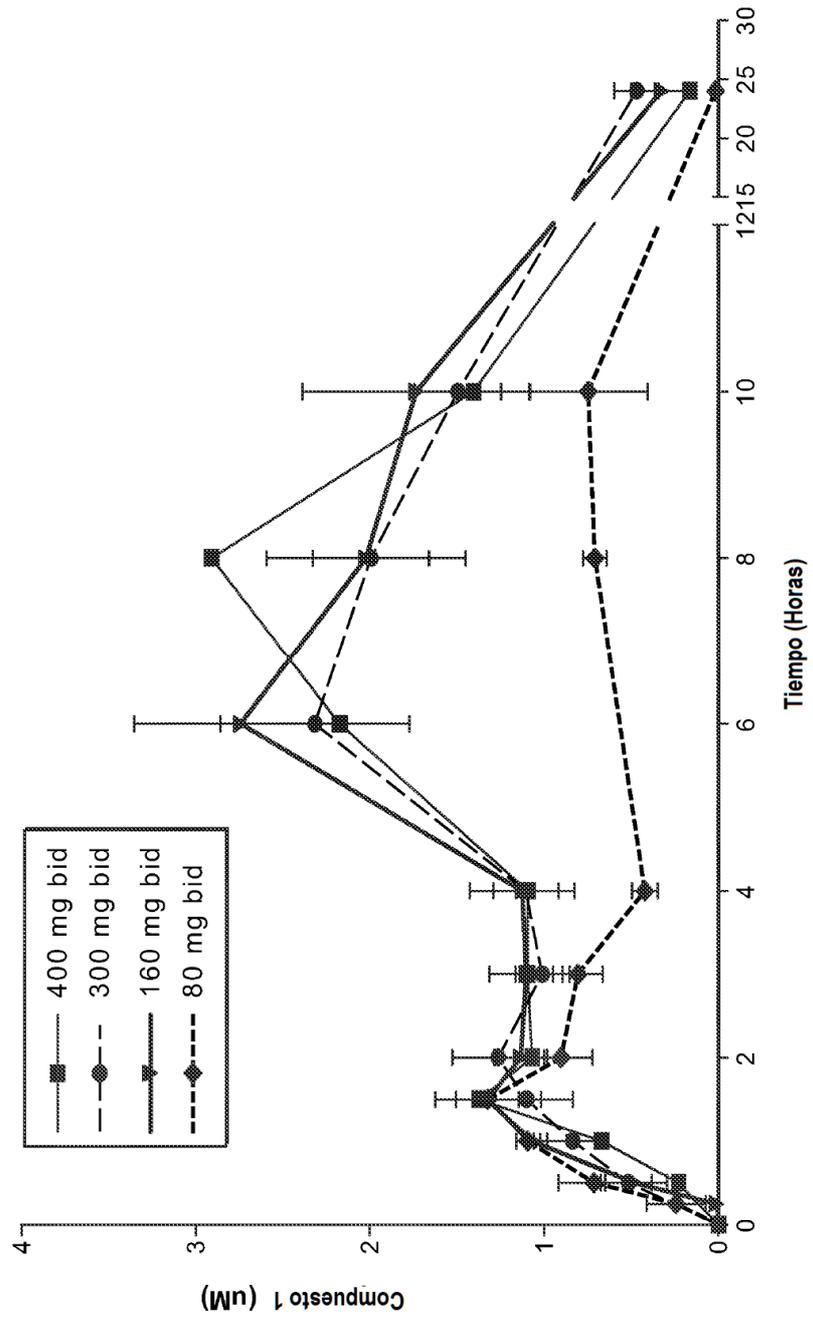


FIG. 12

FIG. 13

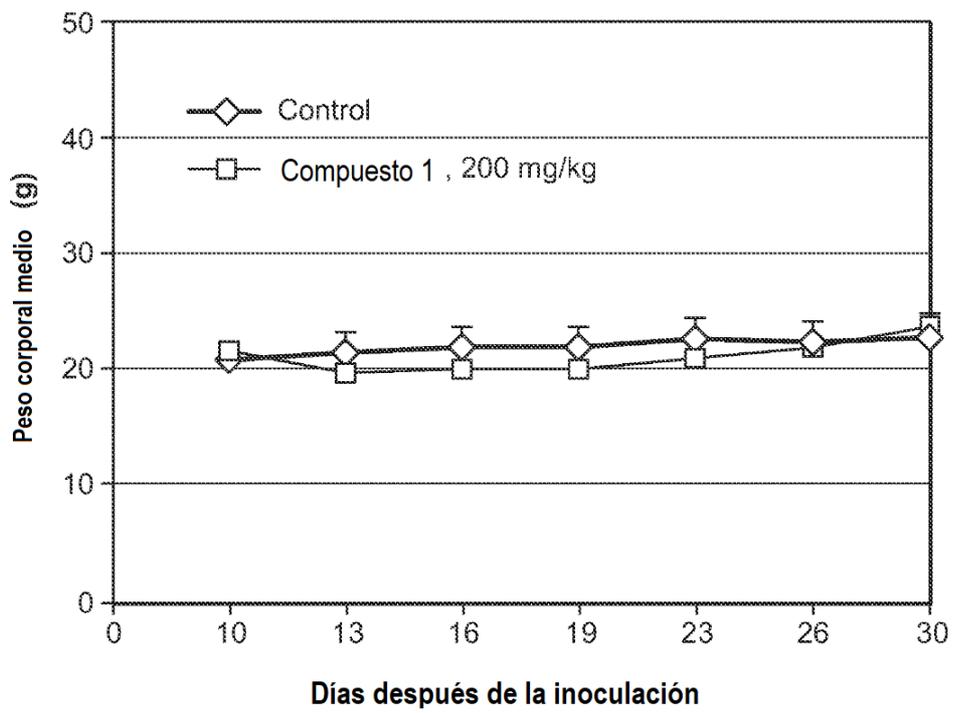
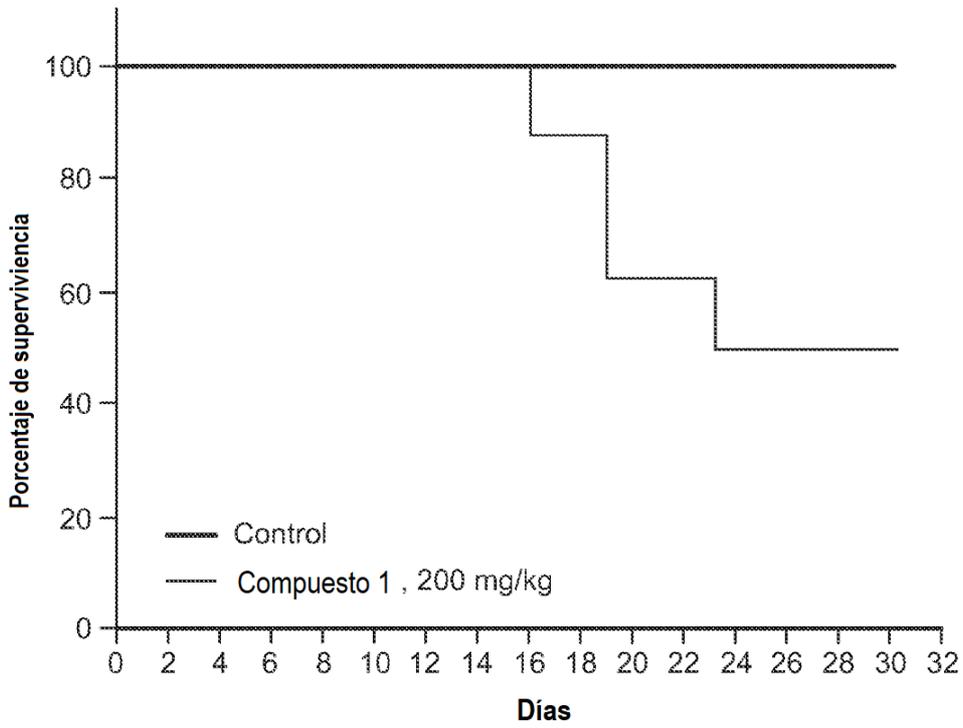


FIG. 13 CONT.

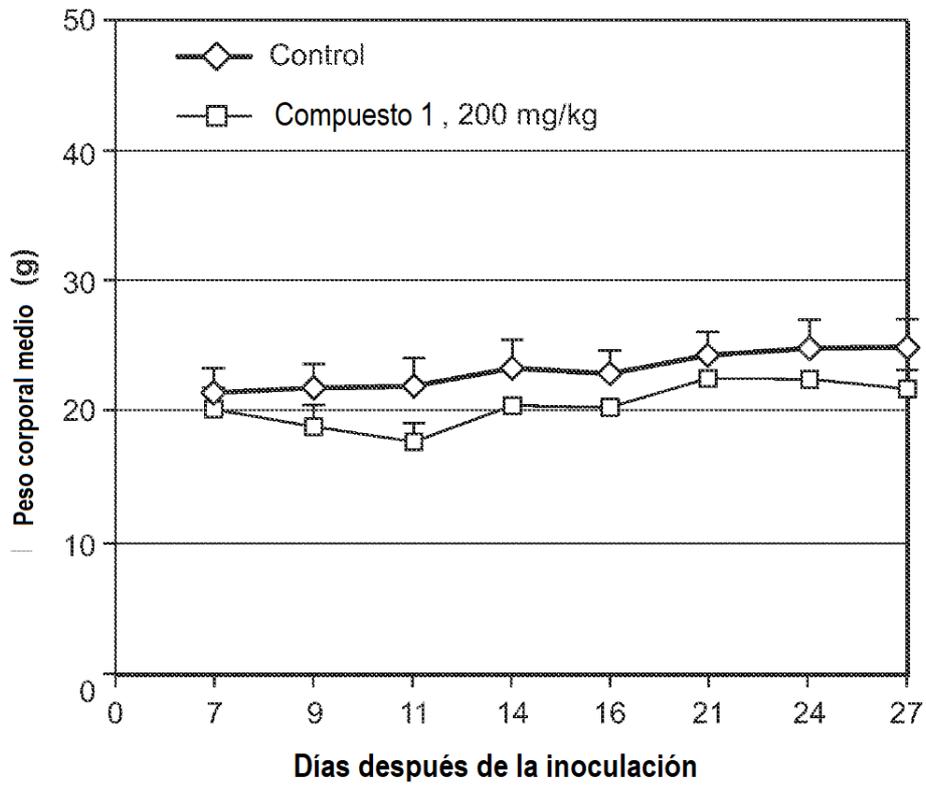
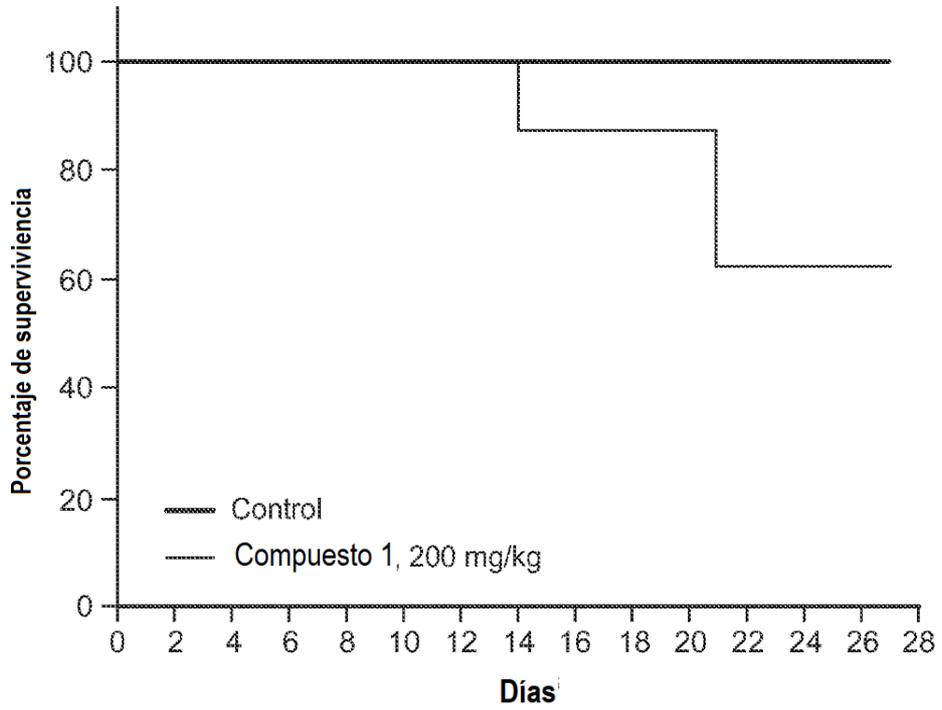


FIG. 14

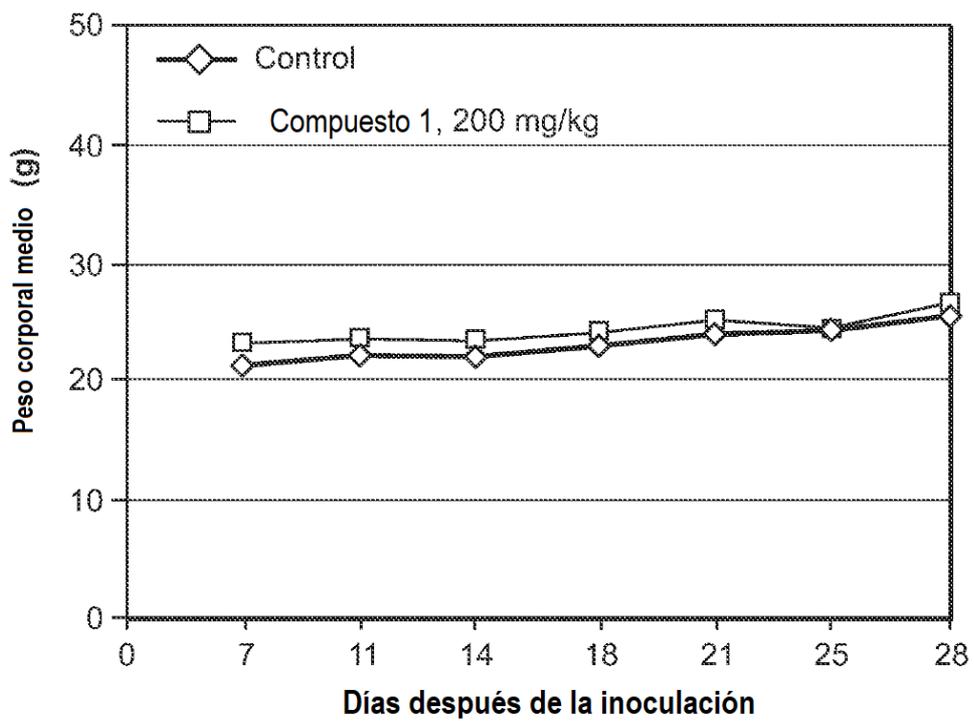
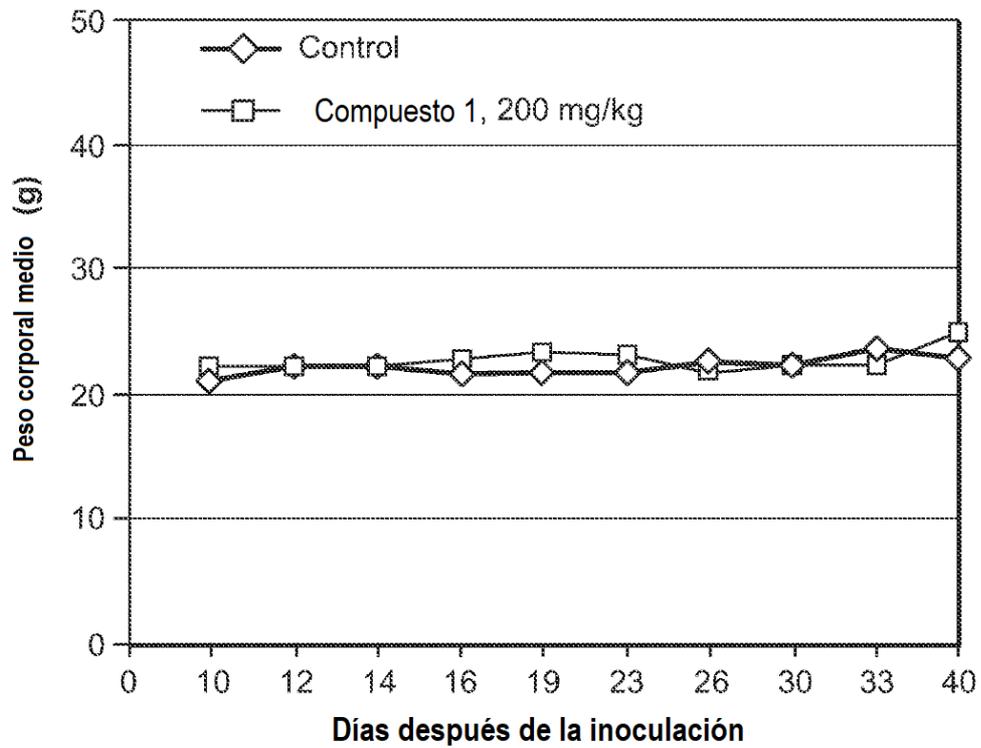
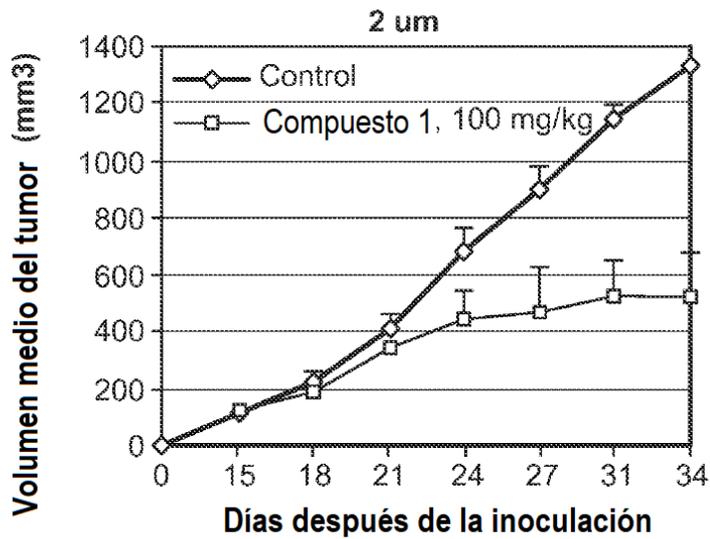
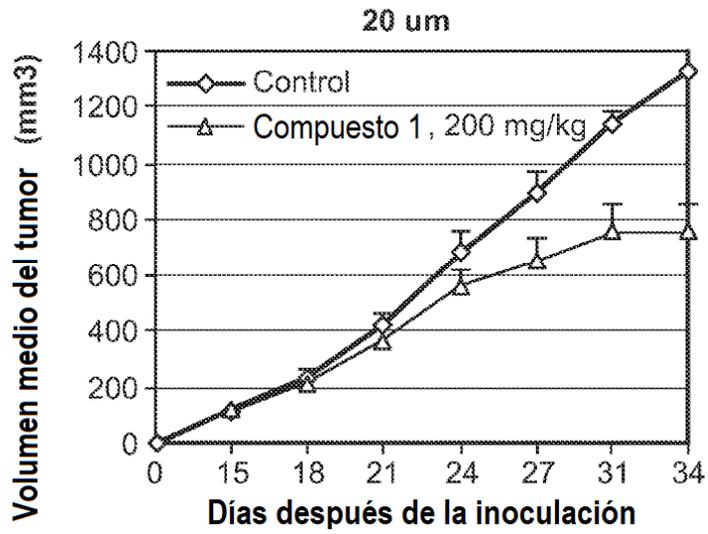
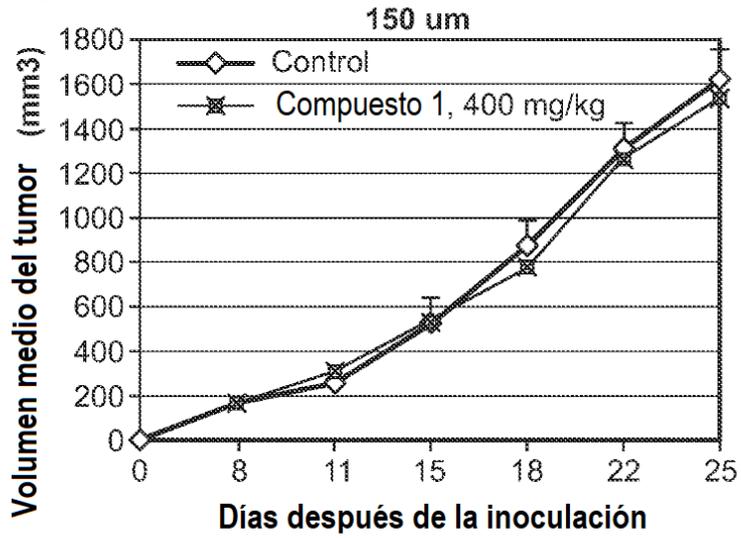


FIG. 15



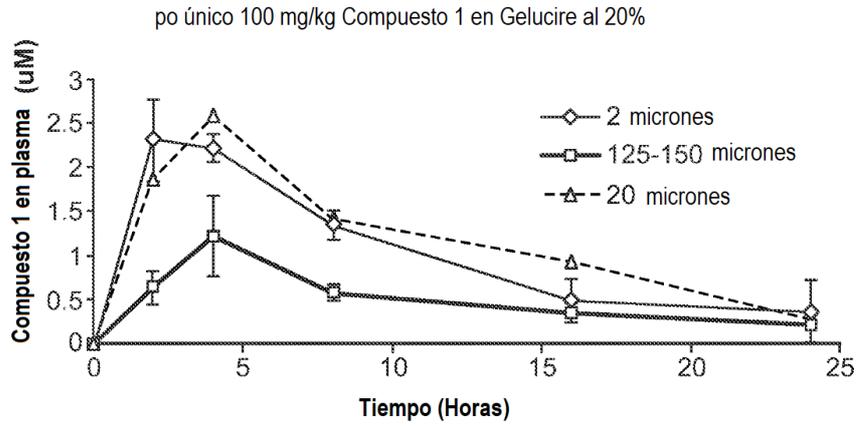


FIG. 16

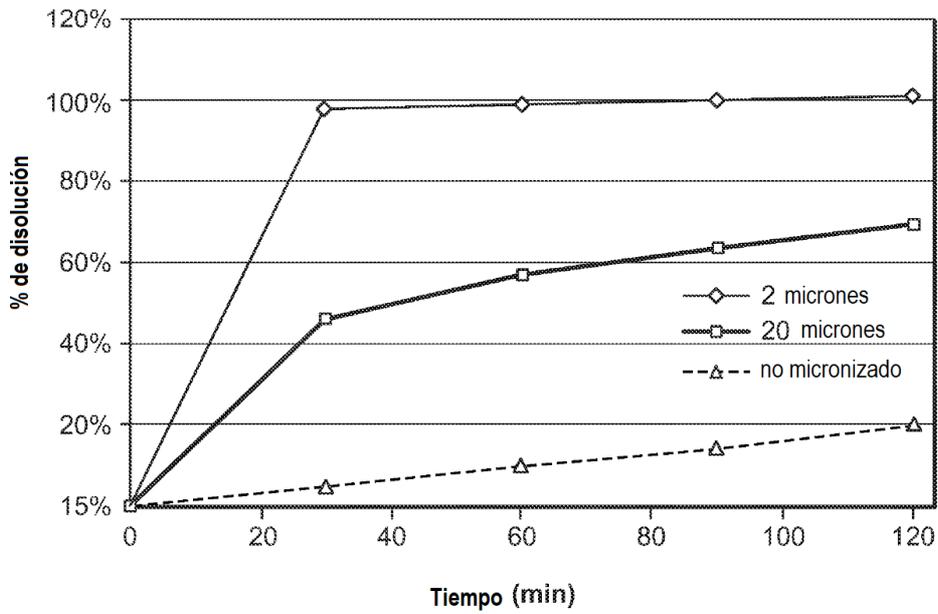


FIG. 17

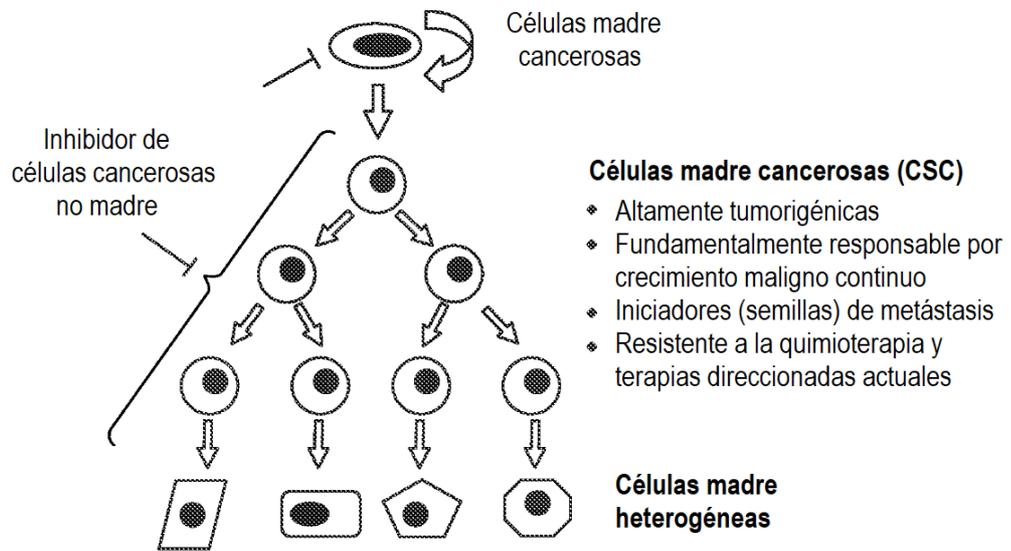


FIG. 18



FIG. 19

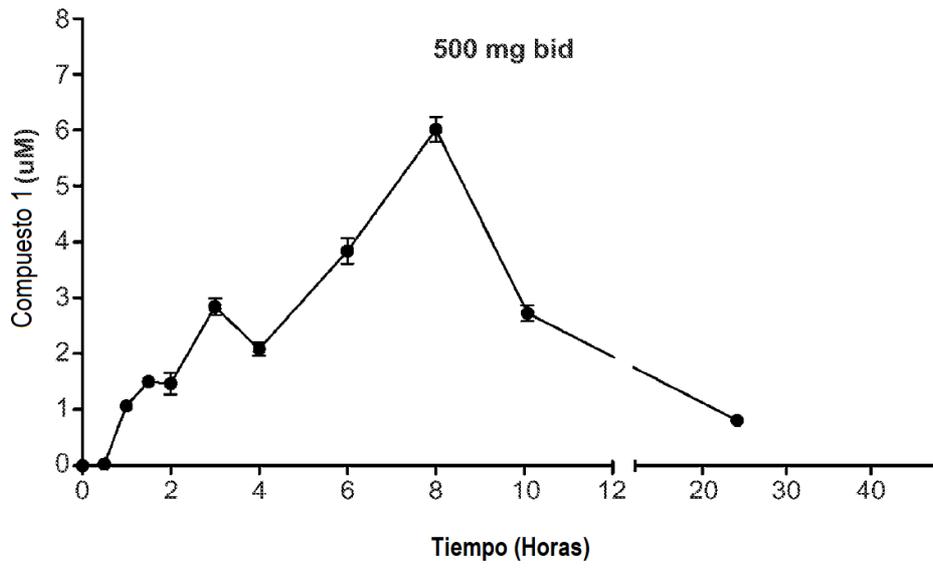


FIG. 20

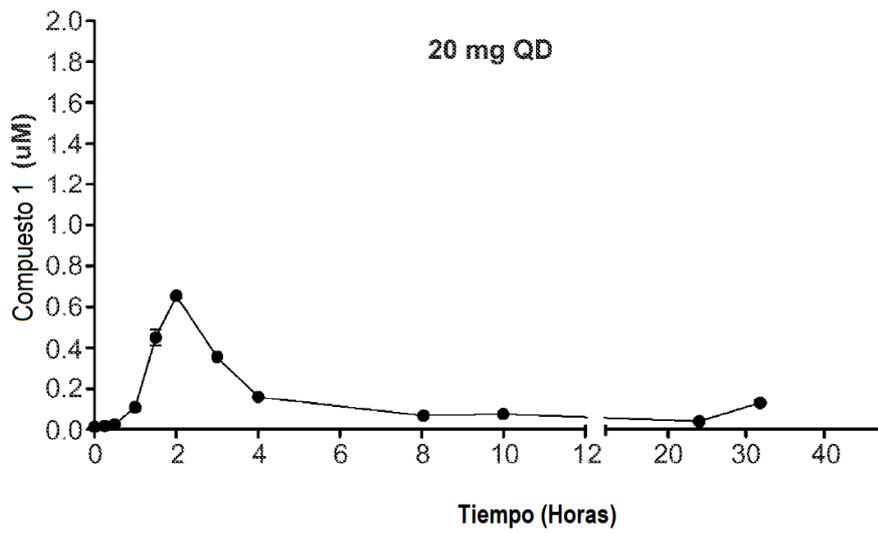


FIG. 21

FIG. 22

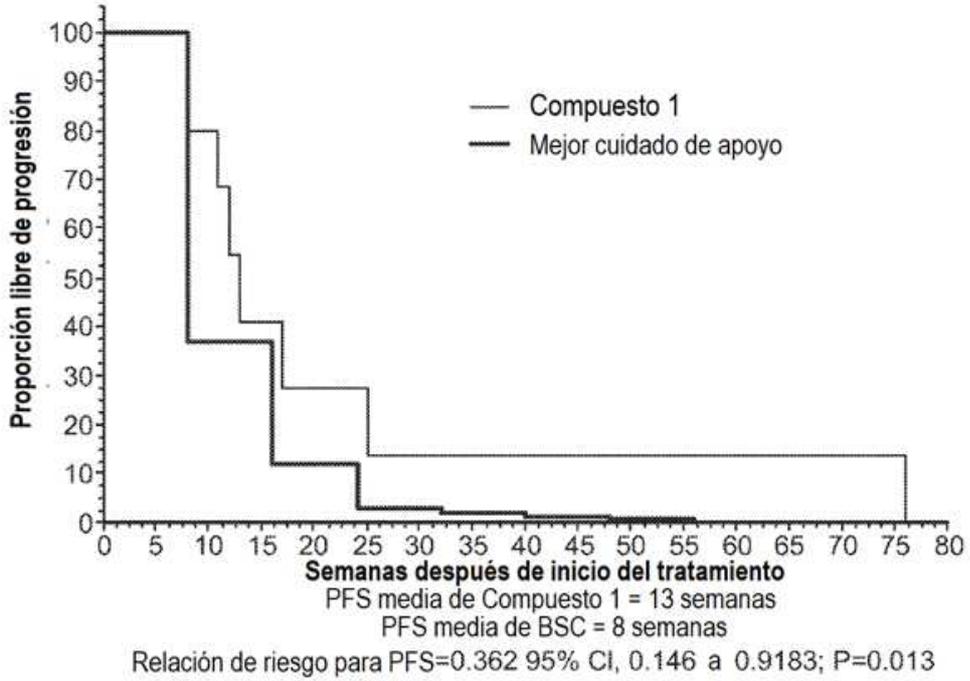
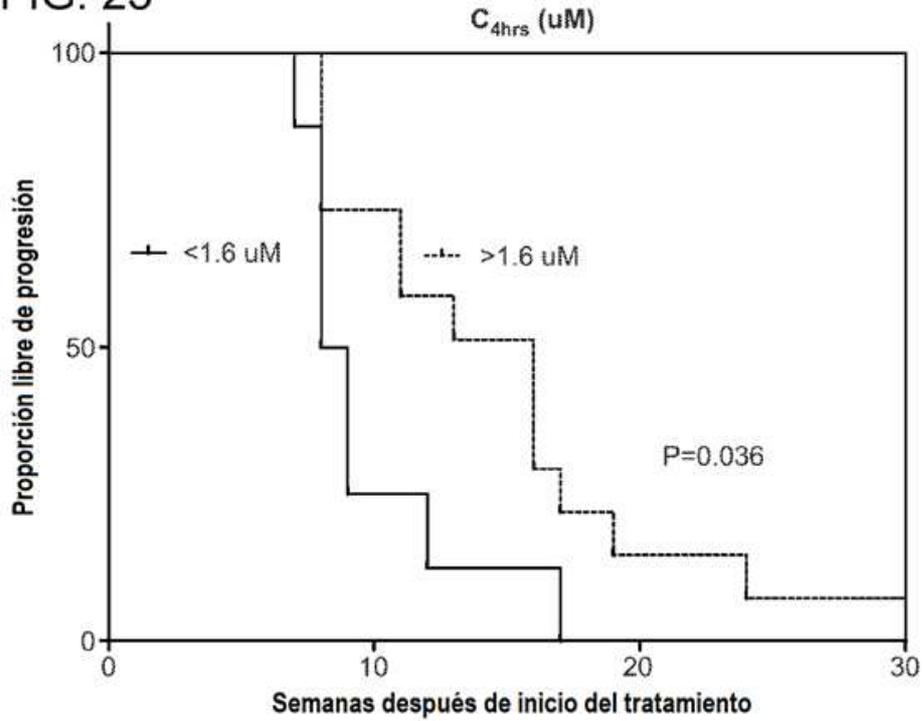


FIG. 23



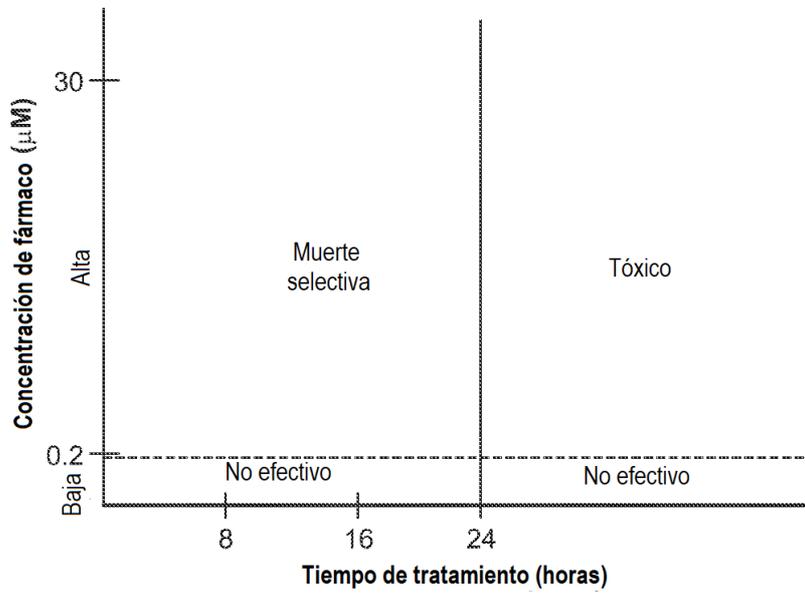


FIG. 24

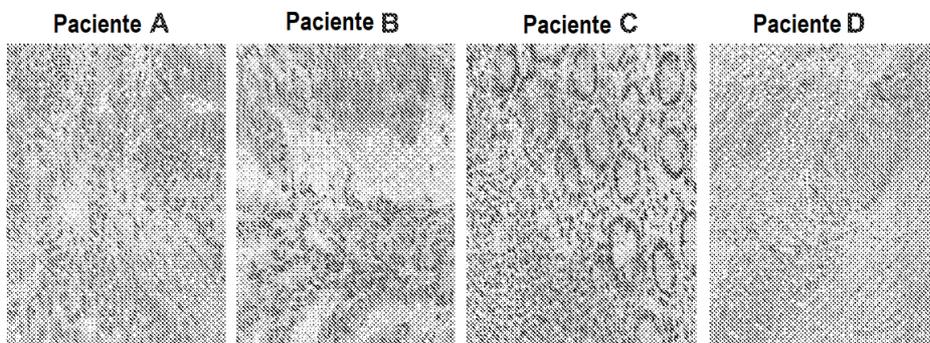


FIG. 25