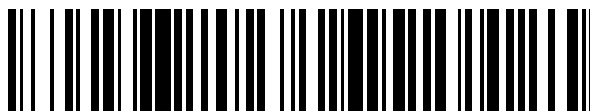


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 320**

51 Int. Cl.:

A61K 51/06 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 103/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.12.2011 PCT/US2011/063361**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12078534**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.12.2011 E 11797287 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.04.2018 EP 2648766**

54 Título: **Dendrímeros dirigidos a PSMA**

30 Prioridad:

06.12.2010 US 420265 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.07.2018

73 Titular/es:

**MOLECULAR INSIGHT PHARMACEUTICALS, INC.
(100.0%)
One World Trade Center, 47th Floor, Suite J
New York, New York 10007, US**

72 Inventor/es:

**BABICH, JOHN, W.;
JOYAL, JOHN, L. y
ZIMMERMAN, CRAIG**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 675 320 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

Dendrimeros dirigidos a PSMA.

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 [0001] La presente invención se refiere en general al campo de los radiofármacos y su uso en medicina nuclear como trazadores, agentes de formación de imágenes y para el tratamiento de diversos estados patológicos. Es bien sabido que los tumores pueden expresar proteínas únicas asociadas con su fenotipo maligno o pueden sobreexpresar proteínas constituyentes normales en mayor número que las células normales. La expresión de proteínas distintas en la superficie de las células tumorales ofrece la oportunidad de diagnosticar y caracterizar la enfermedad sondeando la identidad fenotípica, la composición bioquímica y la actividad del tumor. Las moléculas radiactivas que se unen selectivamente a proteínas específicas de la superficie de las células tumorales proporcionan una ruta atractiva para obtener imágenes y tratar tumores en condiciones no invasivas. En particular, los presentes inventores han descubierto que los ligandos radiomarcados de la proteína PSMA, a menudo sobreexpresados en células de cáncer de próstata y la vasculatura de otros tipos de tumores sólidos, proporcionan una ruta atractiva para la formación de imágenes no invasivas y la elección selectiva de células cancerosas como objetivo.

20 [0002] Al menos un millón de hombres padecen cáncer de próstata y se estima que la enfermedad afectará a uno de cada seis hombres estadounidenses entre las edades de 60 y 80 años. Cada año se diagnostican más de 300 000 casos nuevos de cáncer de próstata. El cáncer de próstata afectará a uno de cada seis hombres en los Estados Unidos, y la mortalidad de la enfermedad es solo superada por la del cáncer de pulmón. Se estima que se gastan 2000 millones de dólares en todo el mundo en tratamientos quirúrgicos, radiológicos, farmacológicos y mínimamente invasivos, 1000 millones de ese gasto solo en los EE. UU. Actualmente no existe una terapia eficaz para el cáncer de próstata recidivante, metastásico y andrógeno independiente. Se necesitan nuevos agentes que permitan una visualización rápida del cáncer de próstata y una selección de objetivo específica para permitir la presencia de radioterapia.

30 [0003] PSMA, también conocida como folato hidrolasa I o glutamato carboxipeptidasa II es una glucoproteína tipo II transmembrana, de 750 aminoácidos que se expresa principalmente en el epitelio prostático humano normal y aumenta en el cáncer de próstata, incluyendo la enfermedad metastásica (4-6). Se ha informado de que la sobreexpresión de PSMA en el cáncer de próstata primario se correlaciona con otros factores pronósticos tradicionales adversos y predice de manera independiente el resultado de la enfermedad (7). Dado que la PSMA se expresa virtualmente en todos los cánceres de próstata y su expresión aumenta aún más en carcinomas metastásicos poco diferenciados y refractarios a hormonas (8-10), es un objetivo muy atractivo para desarrollar radiofármacos para el diagnóstico, estadificación y tratamiento de la enfermedad.

40 [0004] La PSMA es altamente homóloga a la dipeptidasa ácida N-acetilada- α -ligada (NAALADasa), una neuropeptidasa que produce el neurotransmisor glutamato y N-acetilaspártato a través de la hidrólisis del N-acetilaspártilglutamato. El análisis de la estructura cristalina de la PSMA ha ayudado a comprender las interacciones críticas de inhibidores potentes dentro del sitio activo de la enzima y ha conducido al diseño y síntesis de varias clases de inhibidores de NAALADasa que son análogos de sustratos o de estados de transición.

50 [0005] Los anticuerpos monoclonales anti-PSMA radiomarcados, como Prostascint, que está aprobado por la FDA para diagnóstico por imágenes, y J591, que se encuentra en ensayos clínicos para radioterapia dirigida de cáncer de próstata metastásico (11, 12), han validado la PSMA como objetivo molecular para el cáncer de próstata. Sin embargo, aunque los anticuerpos monoclonales ofrecen un potencial para la selección de objetivos tumorales, la larga semivida circulante y la escasa penetrabilidad del tumor, particularmente para las metástasis óseas, limitan su efectividad como radiofármacos terapéuticos y de diagnóstico (13). Por estas razones, hasta la fecha ha habido solo éxitos clínicos limitados con anticuerpos radiomarcados, principalmente en el tratamiento de cánceres de la sangre como el linfoma no Hodgkin (14).

60 [0006] Las moléculas pequeñas ofrecen ventajas significativas sobre los anticuerpos para seleccionar como objetivos los tumores sólidos (15). Se pueden diseñar con afinidades similares a las de los anticuerpos monoclonales. Las moléculas pequeñas presentan difusibilidad mejorada en el espacio extravascular, y un aclaramiento más rápido en la sangre que los anticuerpos, lo que da lugar a una señal de fondo más baja. Sin embargo, los estudios llevados a cabo por los presentes inventores y otros han demostrado que los inhibidores de PSMA de molécula pequeña radiomarcados presentan una alta absorción en los riñones que tiene una alta expresión de la proteína PSMA. Por consiguiente, los riñones pueden funcionar para evitar que una dosis terapéuticamente eficaz del radiofármaco llegue al tejido diana.

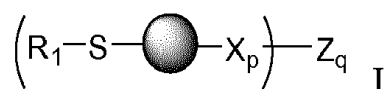
65 [0007] La presente invención supera el inconveniente mencionado de los inhibidores de PSMA de molécula pequeña proporcionando la síntesis de una serie de conjugados de dendrimeros de los inhibidores de PSMA de


la invención. También se describe la síntesis de tetrámeros de los compuestos de PSMA de la invención y las composiciones farmacéuticas de los dendrímeros de la invención. Además se describen las composiciones de la invención que se usan para tratar, diagnosticar y generar imágenes de tejido de cáncer de próstata.

5 RESUMEN DE LA INVENCION

[0008] La presente invención proporciona una fracción para selección como objetivo/reconocimiento de PSMA que se conjuga con un dendrímero de acuerdo con la fórmula I:

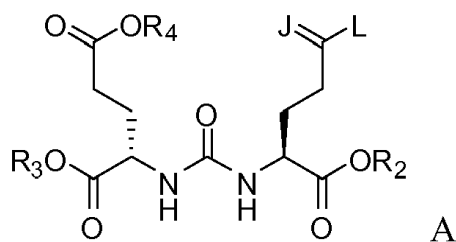
10



[0009] En la fórmula I,  representa el núcleo de dendrímero de una generación, n, seleccionada del grupo que consiste en ¹⁵ las generaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10. Cada generación del dendrímero se asocia con un número predeterminado de grupos de superficie, p. El sustituyente X se selecciona del grupo que consiste en -COOR', -NR'R", en su forma «libre» o no conjugada y -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)-, -NHC(O)-(C₂-DO₆) alquénil-C(O), -NHC(O)-CH₂-O-NH₂, -NHC(O)-(CH₂)_a-maleimida y -NR'-(CH₂)_a-NR" en su forma conjugada.

[0010] S es azufre. El sustituyente R₁ es un quelante de metales según la reivindicación 1 y p es un número entero seleccionado de entre 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 y 4096. El sustituyente Z es una fracción dirigida a antígeno de membrana específico de próstata de acuerdo con la fórmula A:

25



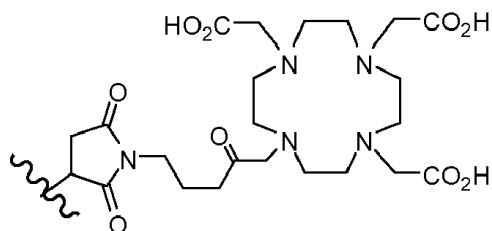
[0011] Para los compuestos de la fórmula A, -C=J es el grupo -CH₂ o el grupo -C=O y L se selecciona del grupo que consiste en -COOR"', -(CH₂)-NH-C(O)-CH(O)-, -(CH₂)-NH-C(O)-(CH₂-CH₂-O)_y-NR', -(CH₂)-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'- y -(CH₂)-NH-C(O)-(CH₂)_z-SH-.

[0012] R', R", R"', R₂, R₃ y R₄ se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en H, y el alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado, y q representa la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z. Los subíndices a, y y z son cada uno enteros independientes entre 0 y 8, ambos inclusive.

[0013] En otra realización, se proporciona un conjugado de dendrímero de la invención en el que X es -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)- y Z es un compuesto de la fórmula A en el que -C=J es -CH₂ y L es -(CH₂)-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'-.

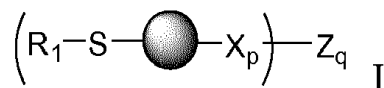
[0014] En otra realización más, R₁ es el grupo DOTA cuya estructura se muestra a continuación:

40



[0015] De acuerdo con otra realización, la invención proporciona un complejo según la reivindicación 8 que comprende (i) un ion metálico; y (ii) un conjugado de dendrímero de acuerdo con la fórmula I:

45



[0016] R₁ es un quelante de metales y los grupos X y Z, así como los subíndices p y q son como los definidos anteriormente. De acuerdo con este aspecto, el metal se selecciona del grupo que consiste en ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu,

^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{89}Zr , ^{186}Re , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{90}Y , ^{86}Y , ^{177}Lu , ^{68}Ga , ^{111}In y ^{188}Re . Si bien se puede usar cualquier quelante de metales adecuado para formar un complejo con el radionucleido, en una realización R₁ es DOTA.

5 [0017] La invención también proporciona una formulación farmacéutica que comprende el complejo dendrímero-radionucleido de la invención junto con una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 [0018] También se proporciona una composición farmacéutica del complejo de la invención para usar en un método para tratar el cáncer de próstata en un paciente, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica del complejo de la invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en el cual el radionucleido (M) se selecciona del grupo que consiste en ^{90}Y , ^{86}Y , ^{177}Lu , ^{188}Re , ^{186}Re , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In , ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi y ^{89}Zr .

15 [0019] La presente invención proporciona además un método de formación de imágenes de tejido de cáncer de próstata en un paciente, que comprende administrar a un paciente una cantidad eficaz para el diagnóstico de una composición farmacéutica del complejo de la invención, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en el que se selecciona el radionucleido (M) del grupo que consiste en ^{68}Ga , ^{111}In y ^{186}Re , y obtener una imagen de dicho tejido de próstata. Preferiblemente, el tejido del que se van a formar imágenes es un tejido que expresa PSMA, tal como un tejido de cáncer de próstata que expresa PSMA.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25 [0020] FIG. 1 es un gráfico que ilustra la unión competitiva de varios de los compuestos de la invención a PSMA en presencia de MIP 1072 radiomarcado

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

30 I. Definiciones

[0021] Por conveniencia, se recopilan aquí ciertos términos empleados en este documento y dentro de las reivindicaciones adjuntas.

35 [0022] Tal como se usa en este documento, los expertos en la técnica entenderán lo que es «aproximadamente» y variará en cierta medida dependiendo del contexto en el que se use. Si hay usos del término que no están claros para los expertos en la técnica, dado el contexto en el que se utiliza, «aproximadamente» significará hasta más o menos un 10 % del término particular.

40 [0023] Los términos «que comprende», «que incluye», «que contiene», etc., se interpretarán de forma amplia y sin limitaciones. Además, se entenderá que la frase «consiste esencialmente en» incluye los elementos específicamente enumerados y los elementos adicionales que no afectan materialmente a las características básicas y novedosas de la tecnología reivindicada. La frase «que consiste en» excluye cualquier elemento no especificado.

45 [0024] El uso de los términos «un» y «uno/a» y «el/la» y referentes similares en el contexto de la descripción de los elementos (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que abarca tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en este documento o esté en clara contradicción con el contexto.

50 [0025] El término «unido» se refiere a una conexión entre componentes químicos de la macromolécula, tales como el dendrímero y el inhibidor de PSMA mediante enlaces covalentes, enlaces de hidrógeno, adsorción, enlace metálico, fuerzas de Van der Waals, enlaces iónicos o cualquier combinación de los mismos. . En una realización, la unión se realiza a través de la formación de un enlace covalente. La unión entre el dendrímero y el inhibidor de PSMA puede ser directa o indirecta, es decir, a través de una fracción o fracciones intermedias, tales como puentes, espaciadores o enlazadores, cuyos términos se pueden usar de manera intercambiable en este documento. Además, un grupo enlazante o fracción o amina funcionales puede modificarse adicionalmente mediante un modificador para facilitar la unión.

60 [0026] El término «punto de unión seleccionado» se refiere a un grupo o grupos amino y/o carboxilo en el polímero del dendrímero que se diferencian de otros grupos amino del polímero del dendrímero al ser únicamente reactivos en una etapa definida en la síntesis del polímero del dendrímero, lo que permite la unión de una fracción funcional o motivo dendrítico. Esto permite conocer de forma ventajosa la posición y distribución de la superficie de una fracción funcional. El punto de unión seleccionado puede, por lo tanto, estar en el primer átomo de nitrógeno de la fracción del núcleo o en la superficie del dendrímero.

65

[0027] El término «unión» tal como se usa en este documento en las especificaciones y las reivindicaciones se refiere a la capacidad de una molécula determinada de ser capturada (unida) y retenida por otra, por ejemplo, un ligando, para interactuar con un objetivo tal que la interacción entre el ligando y su objetivo sea relativamente específica. Los ejemplos incluyen la interacción específica entre un anticuerpo, o derivados y fragmentos del mismo, y el objetivo del anticuerpo (receptor); o la interacción entre una molécula pequeña, como la biotina, el folato o el inhibidor de PSMA y sus objetivos respectivos.

[0028] El término «análogo de lisina» se refiere a una molécula que tiene un grupo carboxilo de un solo ápice y puede tener dos o tres grupos amino primarios. En un ejemplo, el análogo de lisina es un compuesto en el que la cadena lateral se extiende en el grupo amino épsilon para incluir un grupo $-C(O)-CH(O)-$, $-C(O)-(CH_2-CH_2-O)_y-$, $-NR'-$, $-C(O)-(CH_2)_z-NR'-$; y $-C(O)-(CH_2)_z$.

[0029] Tal como se usa en este documento, los términos «capa» o «generación» de un dendrímero se refieren a una multitud de unidades de construcción que tienen el mismo grado de conectividad con la fracción del núcleo, es decir, que tienen el mismo número de unidades de construcción que enlazan la unidad de construcción en cuestión con el átomo de nitrógeno amino del núcleo. Por ejemplo, las unidades de construcción que están unidas, directamente o a través de un grupo enlazante, a los átomos de nitrógeno de la fracción del núcleo se refieren a la primera capa o generación. Las unidades de construcción que tienen una unidad de construcción entre ellas y los átomos de nitrógeno de la fracción del núcleo se denominan segunda capa o generación. Una capa o generación de unidades de construcción debe contener al menos dos unidades de construcción. Cada capa de unidades de construcción es homogénea con respecto a la unidad de construcción utilizada, sin embargo, se pueden usar diferentes unidades de construcción para preparar diferentes capas. Por lo tanto, en ciertas realizaciones de la invención, la macromolécula está compuesta por una o más capas de un único tipo de unidad de construcción. En otras realizaciones, la macromolécula comprende al menos dos capas de unidades de construcción en las que al menos dos capas están compuestas por diferentes unidades de construcción.

[0030] El término «superficie», tal como se usa en este documento, se usa en referencia a la capa más externa de las unidades de construcción del dendrímero.

[0031] Los términos «grupo de superficie» o «unidad de construcción de superficie» se refieren a grupos presentes en la capa más externa del dendrímero. Los grupos de superficie pueden ser aminas libres, grupos carboxilo o el producto de reacción de estos grupos con una fracción o fracciones intermedias apropiadas, tales como puentes, espaciadores o enlazadores, cuyos términos se pueden usar de forma intercambiable en este documento.

[0032] El término «amina superficial» o «amino superficial» o «átomo de nitrógeno amino superficial» se refiere a cualquiera de los nitrógenos más externos del motivo dendrítico. Estas aminas superficiales representan los puntos de unión para las unidades de construcción adicionales, enlazadores o fracciones funcionales.

[0033] El término «fracción funcional» tal como se usa en este documento en las especificaciones y las reivindicaciones se refiere a cualquier grupo, tal como se define en este documento, que se puede unir, directa o indirectamente, a un primer nitrógeno amino del núcleo o una amina superficial con el fin de servir a la función indicada. La naturaleza y el número de fracciones funcionales se pueden determinar mediante técnicas analíticas estándar que incluyen RMN de protón/carbono y espectrometría de masas ESI o MALDI.

[0034] Los términos «grupo lipófilo» y «fracción lipófila» tal como se usan en el presente documento se refieren a un grupo, fracción o sustituyente que tiene una mayor afinidad por entornos no polares o no acuosos frente a entornos polares o acuosos. Por ejemplo, el diccionario en línea de Merriam Webster define «lipófilo» como «tener afinidad por los lípidos (como grasas)». Los ejemplos de fracciones lipófilas incluyen radicales de hidrocarburos alifáticos, por ejemplo, radicales alquilo, radicales de hidrocarburos aromáticos y radicales acilo de cadena larga; todos ellos tienen una lipofilia creciente a medida que aumenta el número de carbonos constituyentes. En general, la adición de una fracción lipófila a un determinado compuesto aumentará la afinidad del compuesto por el octanol en el protocolo estándar de determinación del coeficiente de partición octanol/agua; este protocolo se puede usar para medir la hidrofobicidad (lipofilia) e hidrofiliidad relativas de un compuesto.

[0035] El término «ligando» se refiere a una especie que interactúa de alguna manera con otra especie. En un ejemplo, un ligando puede ser una base de Lewis que es capaz de formar un enlace coordinado con un ácido de Lewis. En otros ejemplos, un ligando es una especie, a menudo orgánica, que forma un enlace coordinado con un ion metálico. Los ligandos, cuando están coordinados con un ion metálico, pueden tener una variedad de modos de unión conocidos por los expertos en la materia, que incluyen, por ejemplo, terminal (es decir, unido a un único ion metálico) y puente (es decir, un átomo de la base de Lewis unido a más de un ion metálico).

[0036] El término «agente quelante» se refiere a una molécula, a menudo una orgánica, y a menudo una base de Lewis, que tiene dos o más pares de electrones no compartidos disponibles para donación a un ion metálico. El ion metálico generalmente está coordinado por dos o más pares de electrones con el agente quelante. Los términos «agente quelante bidentado», «agente quelante tridentado» y «agente quelante tetradentado» están

reconocidos en la técnica y se refieren a agentes quelantes que tienen, respectivamente, dos, tres y cuatro pares de electrones disponibles inmediatamente para la donación simultánea a un ion metálico coordinada por el agente quelante. Habitualmente, los pares de electrones de un agente quelante forman enlaces coordinados con un solo ion metálico; sin embargo, en ciertos ejemplos, un agente quelante puede formar enlaces coordinados con más de un ion metálico, con posibilidad de una variedad de modos de unión.

[0037] El término «coordinación» se refiere a una interacción en la que un donador de pares multielectrónicos se une de forma coordinada (se «coordina») a un ion metálico.

[0038] El término «complejo» se refiere a un compuesto formado por la unión de una o más moléculas o átomos ricos y pobres en electrones capaces de existencia independiente con una o más moléculas o átomos electrónicamente pobres, cada uno de los cuales también es capaz de una existencia independiente.

[0039] Fmoc es una abreviatura del grupo químico: fluorenilmetiloxicarbonilo.

[0040] La frase «cantidad terapéuticamente eficaz» tal como se usa en este documento significa la cantidad de un compuesto, material o composición que comprende un compuesto que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado en al menos una subpoblación de células en un animal con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico.

[0041] Tal como se usan en este documento, los términos «tratar» o «tratamiento» pretenden abarcar también el diagnóstico, la profilaxis, la terapia y la cura. El paciente que recibe este tratamiento es cualquier animal que lo necesite, incluidos primates, en particular humanos, y otros mamíferos como equinos, vacas, cerdos y ovejas; y aves de corral y mascotas en general.

[0042] La frase «farmacéuticamente aceptable» se emplea en este documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del ámbito de un juicio médico sólido, son adecuados para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

[0043] La frase «vehículo farmacéuticamente aceptable» tal como se usa en este documento se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un material encapsulante relleno, diluyente, excipiente o disolvente líquido o sólido, implicado en el transporte del compuesto en cuestión desde un órgano o parte del cuerpo, hasta otro órgano o parte del cuerpo. Cada portador debe ser «aceptable» en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tampón, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tamponadas de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

[0044] Las expresiones «administración parenteral» y «administrado por vía parenteral» tal como se usan en este documento se refieren a modos de administración que no sean la administración enteral y tópica, generalmente por inyección, e incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

[0045] Las frases «administración sistémica», «administrado sistémicamente», «administración periférica» y «administrado periféricamente» tal como se usan en este documento se refieren a la administración de un compuesto, fármaco u otro material distinto de manera no directa al sistema nervioso central, de modo que entre en el sistema del paciente y, por lo tanto, esté sujeto al metabolismo y a otros procesos similares, por ejemplo, administración subcutánea.

[0046] El término «aminoácido» se refiere a todos los compuestos, ya sean naturales o sintéticos, que incluyen tanto una funcionalidad amino como una funcionalidad ácida, que incluyen análogos y derivados de aminoácidos.

[0047] El término «heteroátomo» se refiere a un átomo de cualquier elemento distinto de carbono o hidrógeno. Los heteroátomos ilustrativos incluyen boro, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre y selenio.

[0048] En general, «sustituido» se refiere a un grupo alquilo o alqueniilo, tal como se define a continuación (por ejemplo, un grupo alquilo), en el que uno o varios enlaces con un átomo de hidrógeno contenidos en él se reemplazan por un enlace con átomos que no son de hidrógeno o carbono. Los grupos sustituidos también incluyen grupos en los que uno o varios enlaces con un átomo de carbono o hidrógeno se reemplazan por uno o varios enlaces, incluidos enlaces dobles o triples, con un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo sustituido será sustituido por uno o más sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario. En algunas realizaciones, un grupo sustituido será sustituido por 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituyentes. Los ejemplos de grupos sustituyentes incluyen: halógenos (es decir, F, Cl, Br y I); hidroxilos; grupos alcoxi, alquenoxi, alquinoxí, ariloxi, aralquiloxi, heterocicliloxi y heterocicliclialcoxi; carbonilos (oxo); carboxilos; ésteres; uretanos; oximas; hidroxilaminas; alcoxiaminas; aralcoxiaminas; tioles; sulfuros; sulfóxidos; sulfonas; sulfonilos; sulfonamidas; aminas; N-óxidos; hidrazinas; hidrazidas; hidrazonas; azidas; amidas; ureas; amidinas; guanidinas; enaminas; imidas; isocianatos; isotiocianatos; cianatos; tiocianatos; iminas; grupos nitro; nitrilos (es decir, CN).

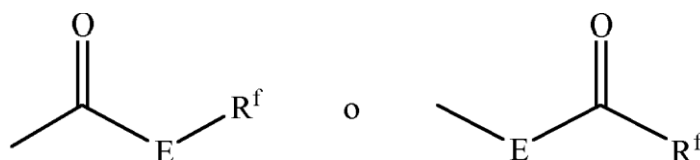
[0049] Los grupos alquilo incluyen grupos alquilo de cadena lineal y cadena ramificada que tienen de 1 a 12 átomos de carbono, y típicamente de 1 a 10 carbonos o, en algunas realizaciones, de 1 a 8, 1 a 6, o 1 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal incluyen grupos tales como los grupos metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo y n-octilo. Los ejemplos de grupos alquilo ramificados incluyen grupos isopropilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, neopentilo, isopentilo y 2,2-dimetilpropilo. Los grupos alquilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. A menos que se especifique el número de carbonos, «alquilo inferior» se refiere a un grupo alquilo, tal como se definió anteriormente, pero que tiene de uno a aproximadamente diez carbonos, alternativamente de uno a aproximadamente seis átomos de carbono en su estructura principal. Del mismo modo, «alqueniilo inferior» y «alquiniilo inferior» tienen longitudes de cadena similares.

[0050] Los grupos alqueniilo incluyen grupos de cadena lineal y ramificada y cicloalquilo como se ha definido anteriormente, con la diferencia de que existe al menos un doble enlace entre dos átomos de carbono. Por lo tanto, los grupos alqueniilo tienen de 2 a aproximadamente 12 átomos de carbono en algunas realizaciones, de 2 a 10 átomos de carbono en otras realizaciones y de 2 a 8 átomos de carbono en otras realizaciones. Los ejemplos incluyen vinilo, alilo, $-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}(\text{CH}_3)$, $-\text{C}(\text{CH}_2\text{CH}_3)=\text{CH}_2$, ciclohexeniilo, ciclopenteniilo, ciclohexadieniilo, butadieniilo, pentadieniilo y hexadieniilo, entre otros. Los grupos alqueniilo pueden ser sustituidos o no sustituidos. Los grupos alqueniilo sustituidos representativos pueden estar monosustituidos o sustituidos más de una vez, por ejemplo, como mono-, di- o trisustituidos con sustituyentes tales como los enumerados anteriormente.

[0051] El término «amina o amino» se refiere a un grupo $-\text{NR}^c\text{R}^d$ en el que cada R^c y R^d se refiere independientemente a un grupo hidrógeno, alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_8$), arilo, heteroarilo y heterocicloalquilo. Cuando R^c y R^d están unidos al mismo átomo de nitrógeno, se pueden combinar con el átomo de nitrógeno para formar un anillo de 5, 6 o 7 miembros. Por ejemplo, se pretende que $-\text{NR}^c\text{R}^d$ incluya un anillo 1-pirrolidinilo, piridinilo o 4-morfolinilo.

[0052] El término «amido» se reconoce en la técnica como un carbonilo sustituido con amino e incluye una fracción que puede representarse mediante la fórmula general, grupo $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^c\text{R}^d$ en el que R^c y R^d son como se ha definido anteriormente. De acuerdo con algunas realizaciones, la amida no incluye imidas que puedan ser inestables.

[0053] Los términos «carboxilo» y «carboxilato» incluyen fracciones que pueden representarse mediante las fórmulas generales:



donde E es un enlace o representa O o S, y R^f y R^f individualmente es H, alquilo, alqueniilo o una sal farmacéuticamente aceptable. Donde E es O, y R^f es como se ha definido anteriormente, la fracción se denomina en este documento grupo carboxilo, y particularmente cuando R^f es un hidrógeno, la fórmula representa un «ácido carboxílico». En general, cuando el oxígeno expresamente mostrado se reemplaza por azufre, la fórmula representa un grupo «tiocarbonilo».

[0054] Los términos «alcoxilo» o «alcoxi» se refieren a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene un radical de oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxilo representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, tert-butoxi. Un «éter» consiste en dos hidrocarburos unidos de manera covalente por un oxígeno. «Éter» también abarca poliéteres donde más de un grupo éter o enlace, pueden estar presentes en un grupo

determinado. «Éter» también abarca éteres cíclicos y éteres corona, donde el enlace éter está dentro de un grupo cíclico.

5 [0055] Ciertos compuestos contenidos en las composiciones pueden existir en formas geométricas o estereoisoméricas particulares. Además, los compuestos también pueden ser ópticamente activos. Los compuestos también pueden incluir isómeros cis y trans, enantiómeros R y S, diastereómeros, isómeros (D), isómeros (L), las mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos. Puede haber átomos de carbono asimétricos adicionales presentes en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Si, por ejemplo, se desea un enantiómero particular del compuesto, se puede preparar mediante síntesis asimétrica, o mediante derivación con un auxiliar quiral, donde la mezcla diastereomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar los enantiómeros puros deseados. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como un amino, o un grupo funcional ácido, tal como un carboxilo, las sales diastereoméricas se forman con un ácido o base ópticamente activo apropiado, seguido de la resolución de los diastereómeros así formados por cristalización fraccionada o medios cromatográficos bien conocidos en la técnica, y recuperación posterior de los enantiómeros puros.

20 [0056] La frase «grupo protector», tal como se usa en este documento, se refiere a sustituyentes temporales que protegen un grupo funcional potencialmente reactivo de transformaciones químicas no deseadas. Los ejemplos de tales grupos protectores incluyen ésteres de ácidos carboxílicos, silil éteres de alcoholes y acetales y cetales de aldehídos y cetonas, respectivamente. El campo de la química de grupos protectores se ha revisado (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª ed.; Wiley: Nueva York, 1999).

25 [0057] A menos que se indique lo contrario, «estereoisómero» se refiere a un estereoisómero de un compuesto que está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por lo tanto, un compuesto estereoméricamente puro que tiene un centro quiral estará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro que tiene dos centros quirales estará sustancialmente libre de otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto típico estereoméricamente puro comprende más de aproximadamente un 80% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 20 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, por ejemplo más de aproximadamente un 90 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 10 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, o más de aproximadamente un 95 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 5 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto, o más de aproximadamente un 97 % en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente un 3 % en peso de otros estereoisómeros del compuesto.

35 [0058] Si hay una discrepancia entre una estructura representada y un nombre dado a esa estructura, entonces la estructura representada predomina. Además, si la estereoquímica de una estructura o una parte de una estructura no se indica, por ejemplo, con líneas en negrita o discontinuas, debe interpretarse que la estructura o parte de la estructura abarca todos los estereoisómeros de la misma.

40 II. Compuestos de la invención y conjugados de dendrímeros

45 [0059] La presente invención se refiere a nuevas fracciones dirigidas a PSMA, y a la síntesis de un conjugado quelante-dendrímero de las fracciones dirigidas a PSMA. En particular, el grupo quelante es uno que quela de manera efectiva una variedad de iones metálicos que se usan en aplicaciones de radioimágenes y como radiofármacos para el tratamiento de estados patológicos.

50 [0060] También están comprendidos dentro del alcance de la presente invención las composiciones farmacéuticamente aceptables del radiomarcador de la invención que contiene conjugados dirigidos a quelante-dendrímero-PSMA, así como la composición de la invención para su uso en métodos con el fin de obtener imágenes y/o diagnosticar tejido de cáncer de próstata, así como proporcionar tratamiento radioterapéutico para el cáncer de próstata.

55 [0061] En particular, las fracciones de la invención dirigidas a PSMA son homodímeros de glutamato urea (GUG) o heterodímeros de glutamato urea, como, por ejemplo, un dímero de glutamato-urea-lisina (GUL). En un aspecto, por lo tanto, la presente invención describe la síntesis de las fracciones GUL y GUG dirigidas a PSMA así como las metodologías para la síntesis de di-, tri- o tetrámeros de estas fracciones usando un núcleo de EDTA.

60 [0062] Sin estar sujetos a ninguna teoría particular, los presentes inventores hipotetizaron que la distancia de las fracciones GUL y GUG desde los grupos de la superficie del dendrímero podría ser importante para la unión con la proteína PSMA. Para explorar la distancia óptima requerida para la unión firme del conjugado GUL/GUG-dendrímero con la PSMA, los presentes inventores primero sintetizaron y probaron una serie de conjugados GUL/GUG-EDTA en los que las fracciones GUL o GUG están unidas directamente o mediante enlazadores de diferentes longitudes al EDTA. Por lo tanto, en una realización, GUL se conjugó directamente con EDTA. En una realización alternativa, las fracciones GUL o GUG se conjugan con EDTA mediante enlazadores. Cuando GUL

es la fracción dirigida a PSMA, se permite a enlazadores tales como el ácido aminopropiónico o el ácido aminohexanoico reaccionar con el grupo ϵ -amino de lisina antes de la conjugación con EDTA. Sin embargo, cuando GUG es la fracción dirigida a PSMA, la cadena lateral de carboxilato del ácido glutámico puede prolongarse haciendo reaccionar el grupo γ -carboxilo con el 1, 3-diaminopropano o con un enlazador de diaminohexano antes de la tetramerización usando EDTA.

[0063] Las afinidades de unión de los tetrámeros de EDTA de GUL, GUG y las obtenidas usando enlazadores de longitudes variables se probaron usando el ensayo basado en células LNCaP como se explica con más detalle a continuación.

[0064] En otra realización más de la presente invención, los análogos de GUG y GUL se conjugan adicionalmente con un dendrímero. Ejemplos de dendrímeros adecuados son los dendrímeros Starbust, tales como un dendrímero de poli(amidoamina) (PAMAM) con núcleo de cistamina. Los dendrímeros PAMAM son polímeros que tienen una arquitectura macromolecular uniforme conocida como polímero de estrella densa. La uniformidad de la arquitectura molecular permite que los dendrímeros tengan un alto grado de uniformidad molecular, una distribución de peso molecular estrecha, características específicas de tamaño y forma, y una superficie terminal altamente funcionalizada. Cada dendrímero se fabrica mediante una serie de pasos repetitivos que comienzan a partir de un núcleo iniciador central. Cada paso de crecimiento consecutivo representa una nueva «generación» de polímero con un diámetro molecular mayor, el doble del número de sitios de superficie reactivos y aproximadamente el doble del peso molecular de la generación anterior.

[0065] La tabla 1 a continuación muestra las propiedades fisicoquímicas calculadas de los dendrímeros PAMAM funcionales de la superficie de la amina para cada generación.

Generación	Peso molecular	Diámetro medido (Å)	Grupos de superficie
0	517	15	4
1	1.430	22	8
2	3.256	29	16
3	6.909	36	32
4	14.215	45	64
5	28.826	54	128
6	58.048	67	256
7	116.493	81	512
8	233.383	97	1024
9	467.162	114	2048
10	934.720	135	4096

[0066] En particular, una serie de dendrímeros PAMAM conjugados con DOTA funcionalizados con glutamato-urea-lisina (GUL) o glutamato-urea-glutamato (GUG) con pesos moleculares entre 5000 -100 000 Da para identificar una molécula que presenta una alta afinidad por PSMA, aclaramiento rápido de la sangre y los tejidos no diana, y reducción de la captación renal en comparación con los radiofármacos de generación de imagen molecular actualmente en la clínica, para radioterapia dirigida del cáncer de próstata.

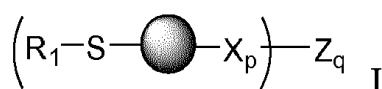
[0067] Los presentes inventores se dan cuenta de que se desean varias características en el diseño y desarrollo de dendrímeros sintéticos que incorporan los motivos GUL o GUG de unión a PSMA. Por ejemplo, la conjugación de la fracción dirigida a PSMA con un dendrímero debería permitir la síntesis rápida de conjugados con tamaño, número de grupos de carga superficial, peso molecular y capacidad de alterar fácilmente el tamaño del conjugado de dendrímeros basándose en el número de generación de dendrímero utilizados definidos. De acuerdo con esto, los conjugados de dendrímeros de la invención pueden evaluarse rápidamente para determinar la correlación entre el peso molecular del conjugado en la distribución tisular, la farmacocinética y el aclaramiento para los conjugados dirigidos a dendrímero-PSMA.


[0068] Otro criterio que se evaluará para los conjugados de dendrímeros de la invención es la influencia que tiene un número creciente de motivos dirigidos a PSMA sobre la afinidad/avidez de unión.

[0069] La capacidad de unir un único quelante de metales al conjugado dirigido a dendrímero-PSMA de la

invención es importante para muchas aplicaciones radiofarmacéuticas. La presente invención proporciona una metodología para sintetizar un conjugado dirigido a quelante-dendrímico-PSMA para estudios de radiomarcage usando cualquiera de los radioisótopos metálicos mencionados a continuación. Aunque puede usarse cualquier dendrímico para sintetizar complejos dirigidos a quelante-dendrímico-PSMA de acuerdo con la presente invención, los dendrímeros PAMAM comercialmente disponibles con un núcleo de cistamina y residuos de ácido succinámico superficiales se han usado para sintetizar conjugados de la fórmula I. Estos dendrímeros son ideales ya que proporcionan un único punto de unión para el quelante de radioisótopos mediante la reacción de un grupo sulfhidrido libre producido por la reducción del enlace disulfuro central. Para reducir la toxicidad *in vivo*, normalmente asociada con grupos de superficie libres de amina del dendrímico PAMAM, los presentes inventores modifican primero los grupos amino superficiales mediante reacción con ácido succínico en exceso o un derivado activado tal como anhídrido succínico seguido del acoplamiento de los residuos de ácido succinámico resultantes con GUL.

[0070] Por consiguiente, la presente invención describe la síntesis de un conjugado de PSMA-dendrímico de acuerdo con la fórmula 1 tal como se define en la reivindicación 1, o sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

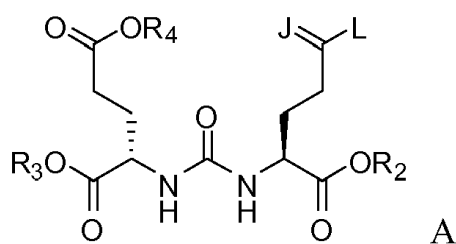


[0071] Para los conjugados de la fórmula I  representa el núcleo del dendrímico de una generación, n. El dendrímico seleccionado para conjugarse con el inhibidor de PSMA tiene un número fijo de grupos de superficie que dependen de la generación del dendrímico utilizado. La presente invención describe conjugados de dendrímeros que usan cualquier generación del dendrímico, tales como dendrímeros que pertenecen a las generaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10.

[0072] Para los compuestos de la fórmula I, X se selecciona del grupo que consiste en -COOR', -NR'R'', en su forma «libre» o no conjugada y -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)-, -NHC(O)-(C₂-DO₆) alquénil-C(O), -NHC(O)-CH₂-O-NH₂, -NHC(O)-(CH₂)_a-maleimida y -NR'-(CH₂)_a-NR'' en su forma conjugada. S es azufre o grupo sulfhidrido (grupo -SH). El quelante de metales R₁ se une al dendrímico a través del grupo sulfhidrido.

[0073] El número entero p representa el número de grupos de superficie presentes en una generación determinada del dendrímico. Típicamente, el número de grupos de superficie para los dendrímeros de la fórmula I es 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 y 4096, dependiendo de la generación de dendrímico utilizada.

[0074] Para los conjugados de la invención, la fracción (Z) dirigida a PSMA es un compuesto de acuerdo con la fórmula A:



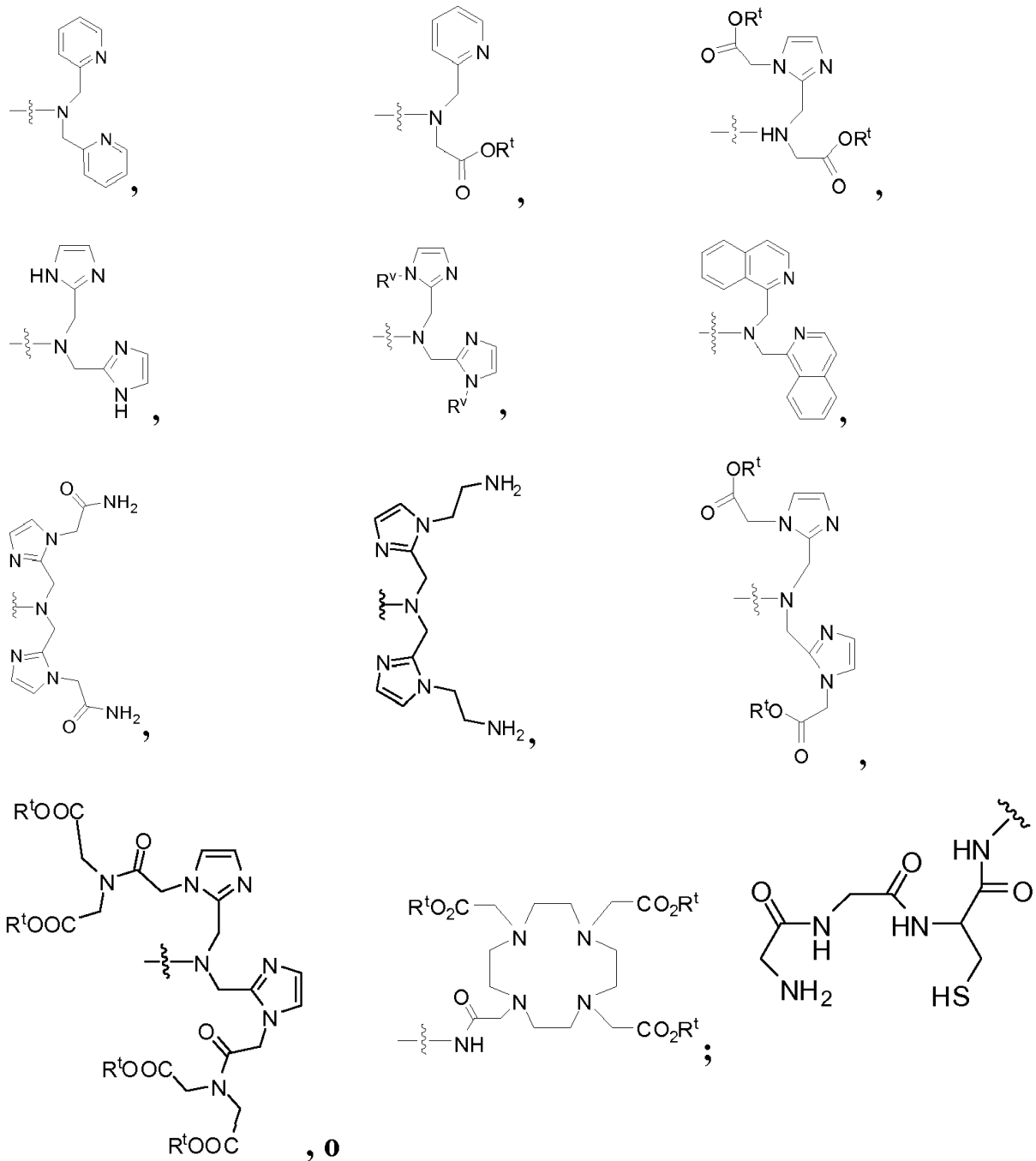
[0075] Para los compuestos de la fórmula A, -C=J es, o bien un grupo -CH₂, o bien el grupo -C=O. L se selecciona del grupo que consiste en -COOR''', -(CH₂)_z-NH-C(O)-CH(O)-, -(CH₂)_z-NH-C(O)-(CH₂-CH₂-O)_y-NR'-, -(CH₂)_z-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'- y -(CH₂)_z-NH-C(O)-(CH₂)_z-SH-. Cada uno de los sustituyentes R', R'', R''', R₂, R₃ y R₄ se selecciona de manera independiente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado.

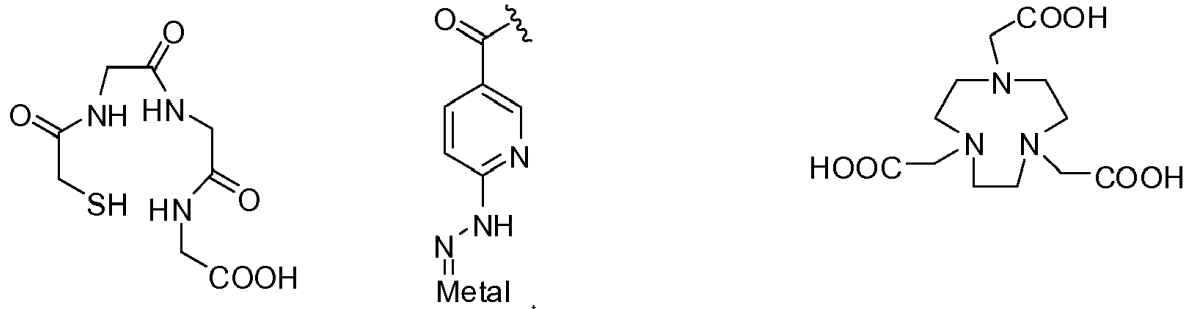
[0076] El número entero q, representa la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z. Por lo tanto, de acuerdo con una realización, la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z está en el rango de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 100 %, preferiblemente aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % o 99 % En una realización, la proporción de grupos superficiales disponibles, X, conjugados con Z está en el intervalo de aproximadamente el 50 %, 52 %, 54 %, 56 %, 58 %, 60 %, 62 %, 64 %, 66 %, 68 %, 70 %, 72 %, 74 %, 76 %, 78 %, 80 %, 82 %, 84 %, 86 % o 88 %. Además, los subíndices a, y y z son cada uno enteros independientes entre 0 y 8, ambos inclusive.

[0077] Para los complejos que comprenden conjugados de la fórmula I, el quelante de metales puede ser un

compuesto bidentado, un compuesto tridentado o un compuesto tetradentado que tiene dos o más pares de electrones no compartidos que están disponibles para la donación a un ion metálico. El ion metálico generalmente está coordinado por dos o más pares de electrones con el agente quelante.

- 5 [0078] Ejemplos de grupos de quelantes de metal para complejos que comprenden conjugados de la fórmula I son aquellos seleccionados del grupo que consiste en DOTA, DTPA, EDTA, ciclohexil DTPA, quelantes de ácido hidroxámico, deferrioxamina, HYNIC, tiosemicarbazona, TETA, NOTA, Mag3 y N2S2. Se muestran ejemplos de estructuras en la tabla 2:





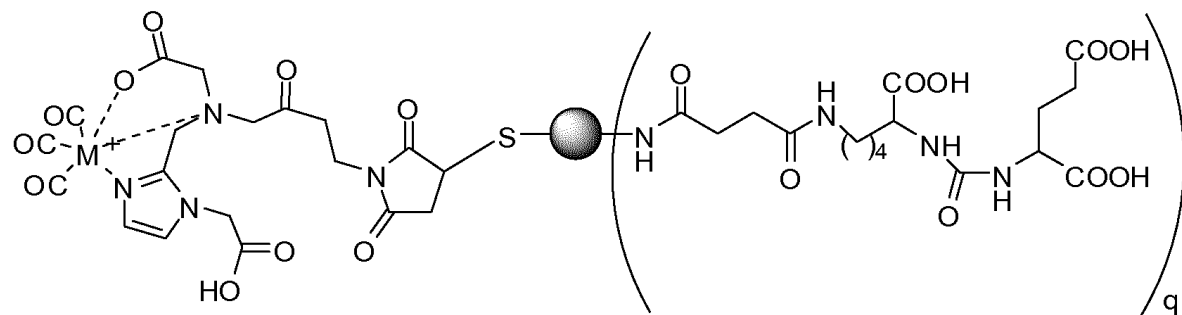
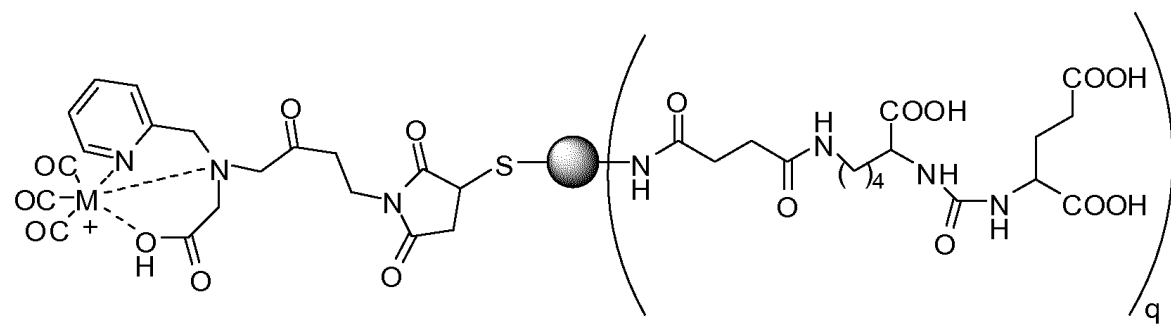
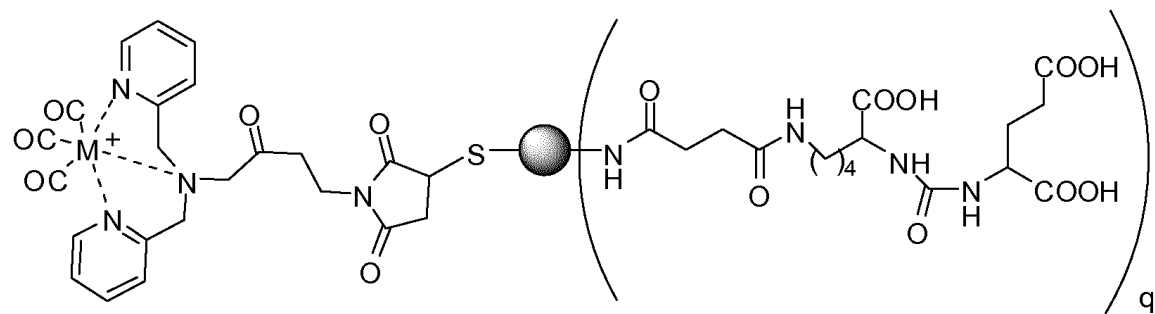
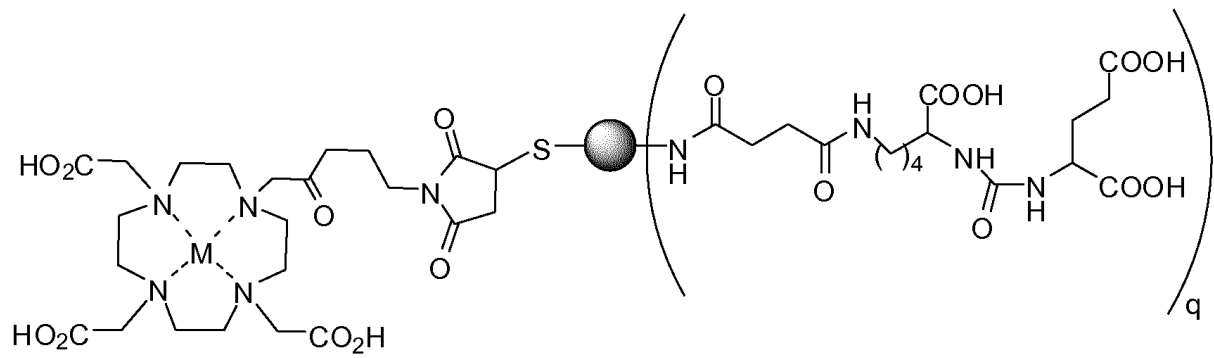
Para las estructuras que se muestran arriba, R^t es H, un grupo alquilo C₁-C₈, un ion de amonio, un ion de alquilamonio o un ion metálico alcalino o alcalinotérreo y R^v es un alquilo C₁-C₈.

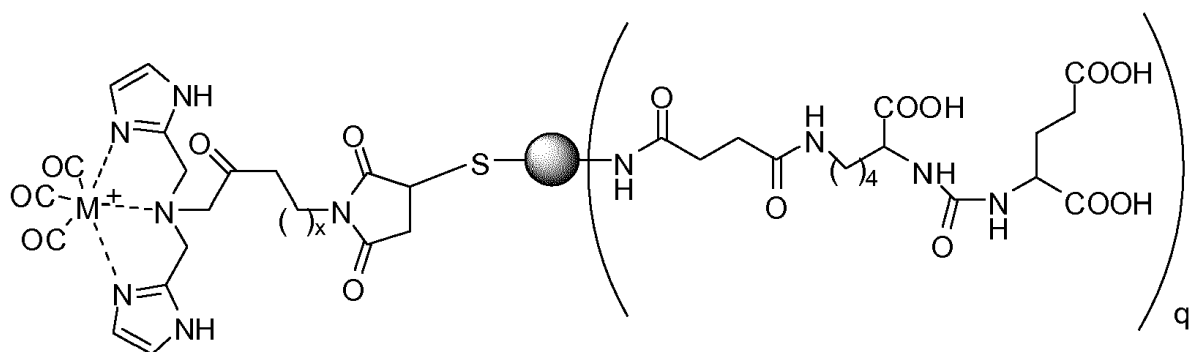
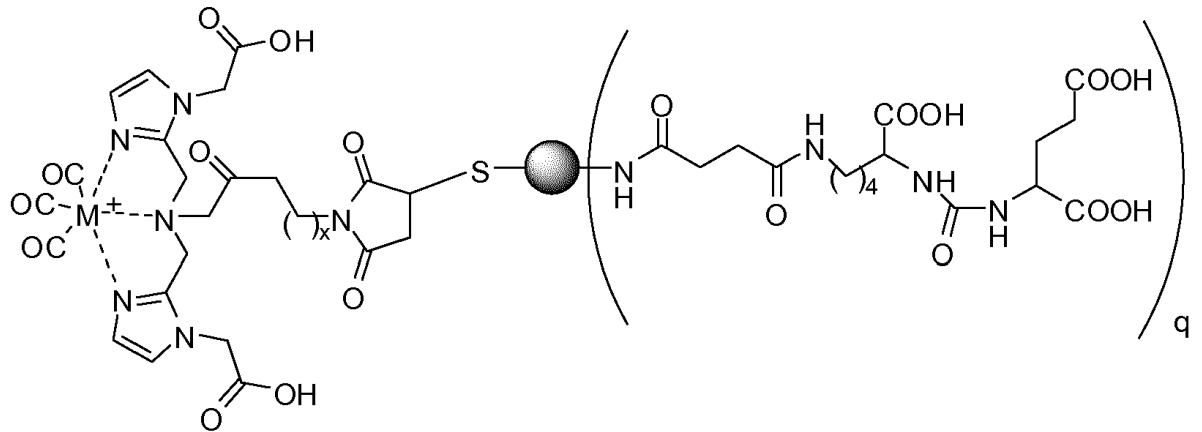
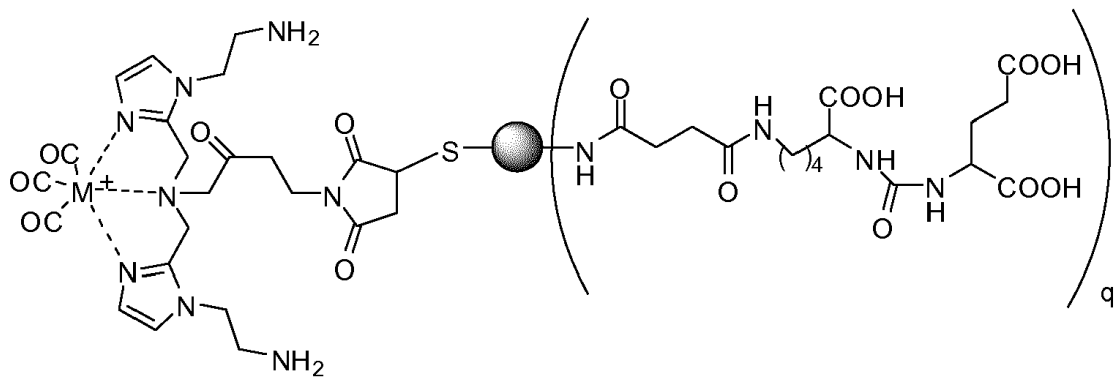
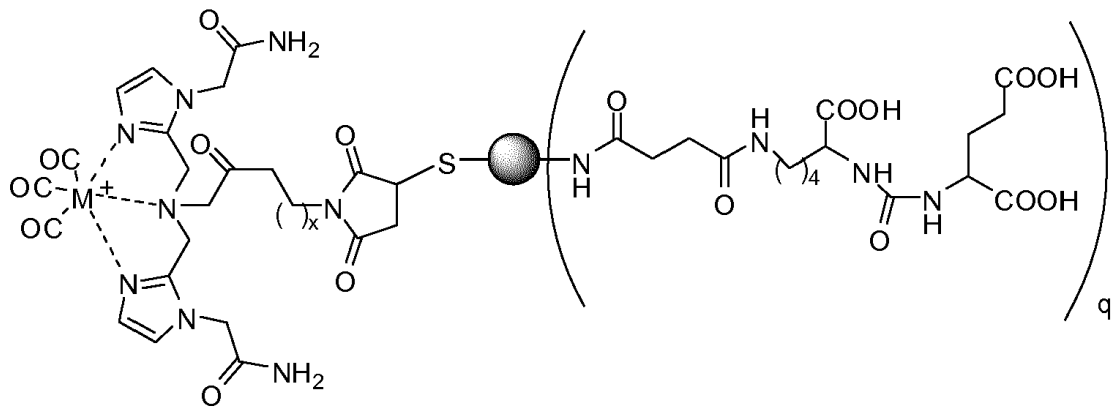
[0079] Los conjugados de dendrímeros de la invención deberían mejorar la distribución tisular, la afinidad de unión, mejorar el perfil toxicológico y la farmacocinética de un conjugado de dendrímero de fórmula I complejo con un radionucleido.

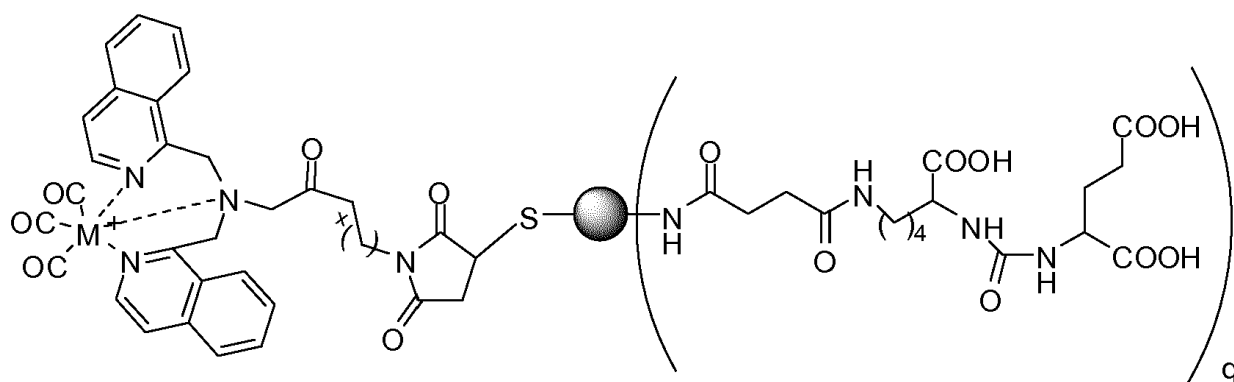
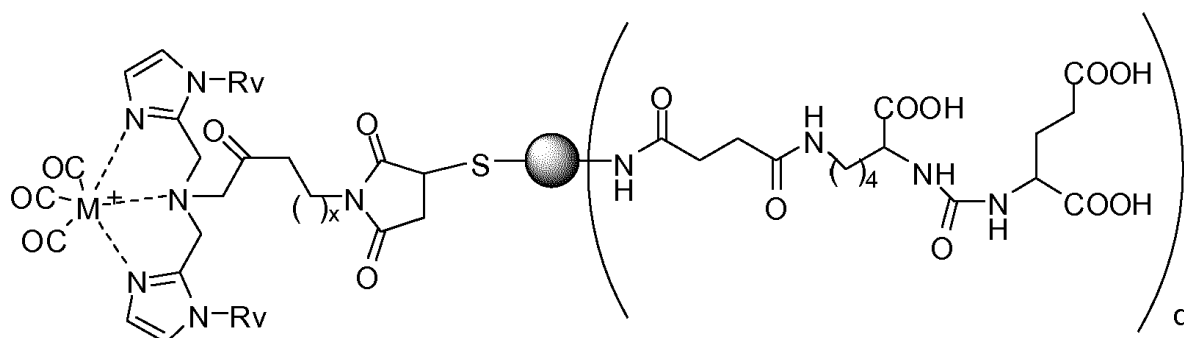
5

[0080] En otra realización de la presente invención, se proporciona un complejo que comprende un ion metálico seleccionado del grupo que consiste en ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ²¹²Pb, ²⁰³Pb, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ⁸⁹Zr, ¹⁸⁶Re, ^{99m}Tc, ⁹⁰Y, ⁸⁶Y, ¹⁷⁷Lu, ¹¹¹In y ¹⁸⁸Re, y un conjugado de dendrímero de acuerdo con la fórmula I. Son ilustrativos de un complejo de la invención los que se describen estructuralmente a continuación en la tabla 3.

Tabla 3

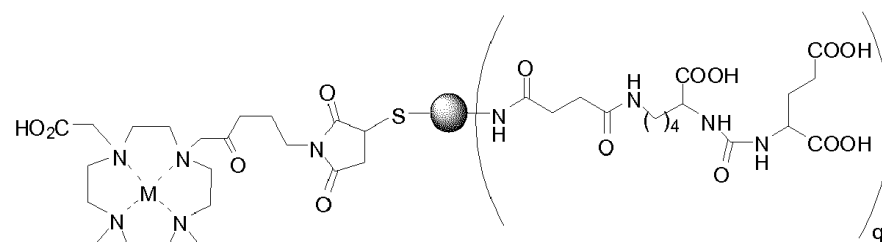






[0081] En una realización, un complejo de acuerdo con la presente invención es un dendrímtero PAMAM reducido cuyos residuos de ácido succinámico superficiales se conjugan directamente con GUL o un análogo enlazador GUL con un único grupo quelante de radioisótopos DOTA unido al dendrímtero a través de su grupo sulfhidrilo libre tal como se muestra a continuación.

5



Para este complejo, el número entero q representa la proporción de residuos de ácido succinámico conjugados con fracciones (Z) de GUL.

10

[0082] Es decir, la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z está en el intervalo de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 100 %, preferiblemente aproximadamente el 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % o 99 %. En una realización, la proporción de grupos superficiales disponibles, X, conjugados con Z está en el intervalo de aproximadamente el 50 %, 52 %, 54 %, 56 %, 58 %, 60 %, 62 %, 64 %, 66 %, 68 %, 70 %, 72 %, 74 %, 76 %, 78 %, 80 %, 82 %, 84 %, 86 % o 88 %.

15

[0083] Dependiendo de la aplicación para la que va a usarse el complejo de la invención, el complejo de la invención puede quelar con uno o más radionucleidos adecuados para proporcionar radioterapia, o uno o más radionucleidos adecuados para radioimágenes y/o detección de tejidos que expresan PSMA. Los radioisótopos se seleccionan del grupo que consiste en ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{89}Zr , ^{186}Re , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{90}Y , ^{86}Y , ^{177}Lu , ^{111}In y ^{188}Re .

20

[0084] Por consiguiente, en una realización se proporciona una composición farmacéutica que incluye el complejo de la invención que incluye un metal y el compuesto de fórmula I, una sal, solvato, estereoisómero o tautómero del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

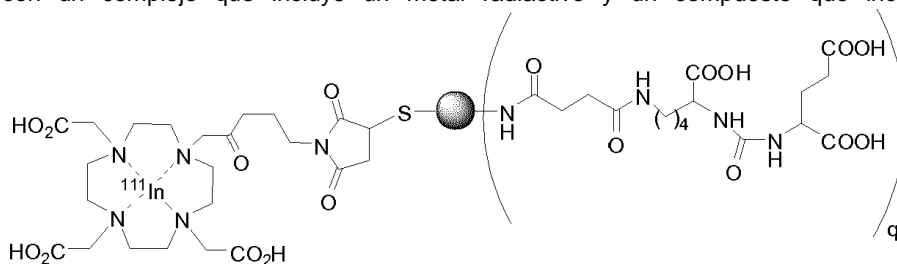
[0085] En general, los complejos metálicos del compuesto de fórmula I o las composiciones farmacéuticas de los mismos, pueden administrarse por vía oral, o a través de una ruta parenteral, generalmente mediante inyección. Las vías parenterales incluyen inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal. En algunas realizaciones, el compuesto o composición farmacéutica del mismo se administra por vía oral. Tales composiciones pueden tomar la forma de pastillas, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición apropiada.

[0086] De acuerdo con otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica, que es adecuada para la formación de imágenes en vivo. Tales composiciones farmacéuticas adecuadas de formación de imágenes contienen un agente de formación de imágenes que tiene un radionucleido, y ya sea como elemento, es decir, yodo radioactivo, o como complejo de quelato de metal radioactivo del compuesto de la fórmula I en una cantidad suficiente para formación de imágenes, junto con un vehículo radiológico farmacéuticamente aceptable. El vehículo radiológico debe ser adecuado para inyección o aspiración, como, por ejemplo, la albúmina de suero humano; soluciones tampón acuosas, por ejemplo, tris (hidrometil) aminometano (y sus sales), fosfato, citrato, bicarbonato, etc.; agua esterilizada; solución salina fisiológica; y soluciones iónicas equilibradas que contienen sales de cloro y/o dicarbonato o cationes normales del plasma sanguíneo tales como calcio, potasio, sodio y magnesio.

[0087] La concentración del agente de formación de imágenes en el vehículo radiológico debería ser suficiente para proporcionar imágenes satisfactorias. Por ejemplo, cuando se usa una solución acuosa, la dosificación es de aproximadamente 1.0 a 50 milicurios. El agente de formación de imágenes debe administrarse de modo que permanezca en el paciente durante aproximadamente de 1 a 24 horas, aunque son aceptables periodos de tiempo más largos y más cortos. Por lo tanto, pueden prepararse ampollas convenientes que contienen de 1 a 10 ml de solución acuosa.

[0088] Las formación de imágenes se puede llevar a cabo de la manera normal, por ejemplo inyectando una cantidad suficiente de la composición de formación de imágenes para proporcionar una formación de imágenes adecuada y luego escanear con una máquina adecuada, tal como una cámara gamma. En ciertas realizaciones, un método de formación de imágenes de una región de un paciente incluye las etapas: administrar a un paciente una cantidad eficaz para el diagnóstico de un compuesto complejo con un radionucleido; exponer una región del paciente a la radiación; y obtener una imagen de la región del paciente. En ciertas realizaciones de la región representada se encuentran la cabeza o el tórax. En otras realizaciones, los compuestos y complejos de la fórmula I tienen como objetivo la proteína PSMA.

[0089] Por tanto, en algunas realizaciones, se proporciona un método de obtención de imágenes de tejidos tales como tejido de bazo, tejido de riñón o tejido tumoral que expresa PSMA que incluye poner en contacto el tejido con un complejo que incluye un metal radiactivo y un compuesto que incluye un grupo de fórmula:



una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. Para un dendrímtero de generación 6 que tiene 256 grupos superficiales, de los cuales al menos el 50 % reacciona con las fracciones GUL o GUG dirigidas a PSMA, q, que representa la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z (grupos GUL), es igual a 128 sin reaccionar y 128 grupos conjugados de superficie. En otras realizaciones, la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z, puede ser del 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 %, 99 % o 100 %. Por ejemplo, la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z es al menos del 50 %, 52 %, 54 %, 56 %, 58 %, 60 %, 62 %, 64 %, 66 %, 68 %, 70 %, 72 %, 74 %, 76 %, 78 %, 80 %, 82 %, 84 %, 86 % o 88 %. En algunas realizaciones, el tejido objetivo del complejo de la invención es tejido tumoral que expresa PSMA.

[0090] De manera similar, los conjugados y complejos de dendrímteros de la invención se pueden obtener usando dendrímteros de generación 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 que tienen 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 y 4096 grupos de superficie respectivamente. La eficacia de conjugar los grupos (Z) dirigidos a PSMA con los grupos de superficie (X) de un dendrímtero determina la proporción de grupos de superficie que permanecen sin reaccionar. Preferiblemente, para cualquier generación de dendrímteros que se use para sintetizar los conjugados de la invención, la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z es al menos

del 50 %, 52 %, 54 %, 56 %, 58 %, 60 %, 62 %, 64 %, 66 %, 68 %, 70 %, 72 %, 74 %, 76 %, 78 %, 80 %, 82 %, 84 %, 86 %, 88 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o 100 %.

5 [0091] Por lo tanto, para los conjugados y complejos de dendrímeros de la invención de estos conjugados con radionucleido, el número de grupos de superficie de dendrímeros entre dos generaciones consecutivas n y $n + 1$ puede expresarse mediante la relación 2^m , donde m es el número de grupos de superficie para la generación n . Por lo tanto, para un dendrímero de la generación 3 hay 16 grupos de superficie. Para la generación $n + 1$, es decir, la generación 4, la cantidad de grupos de superficie es 2 (16) o 32 grupos de superficie.

10 [0092] La presente invención, así descrita en general, se entenderá más fácilmente mediante referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración.

EJEMPLOS

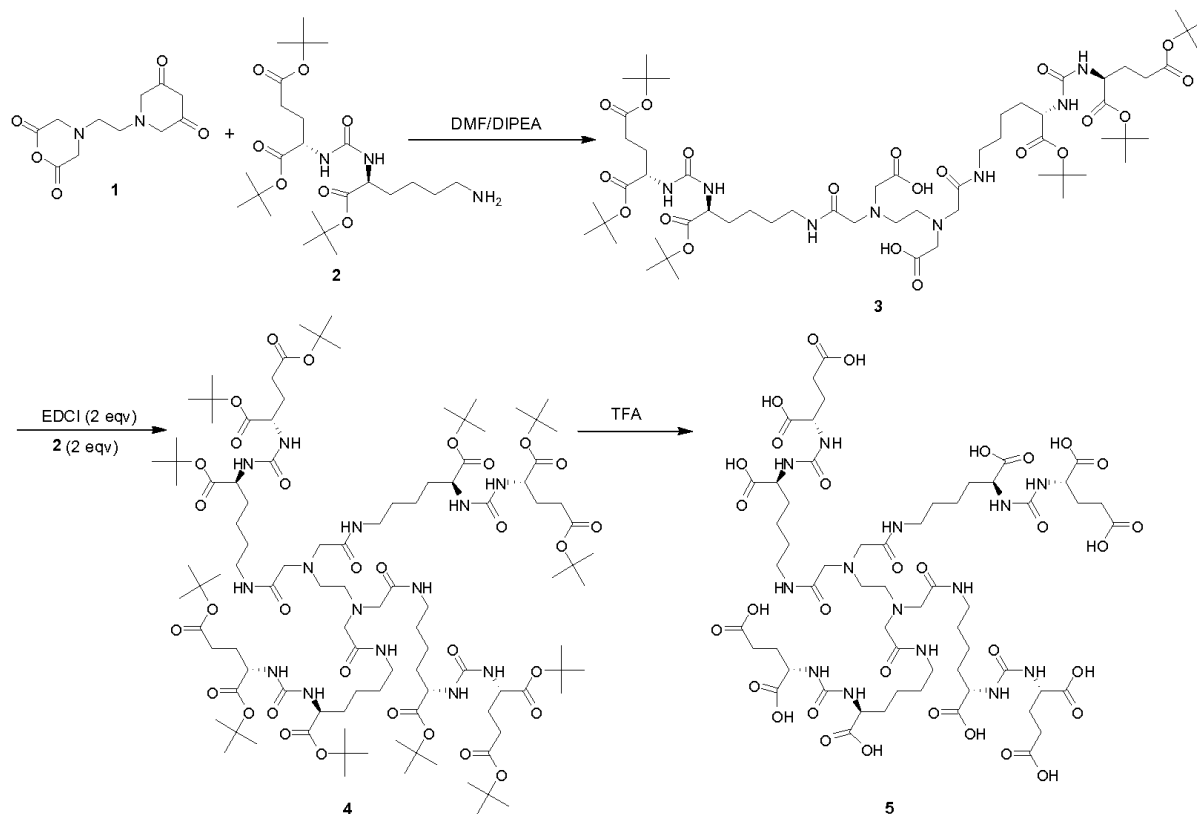
15 I Síntesis

A. Síntesis de los tetrámeros de fracción de EDTA dirigida a PSMA

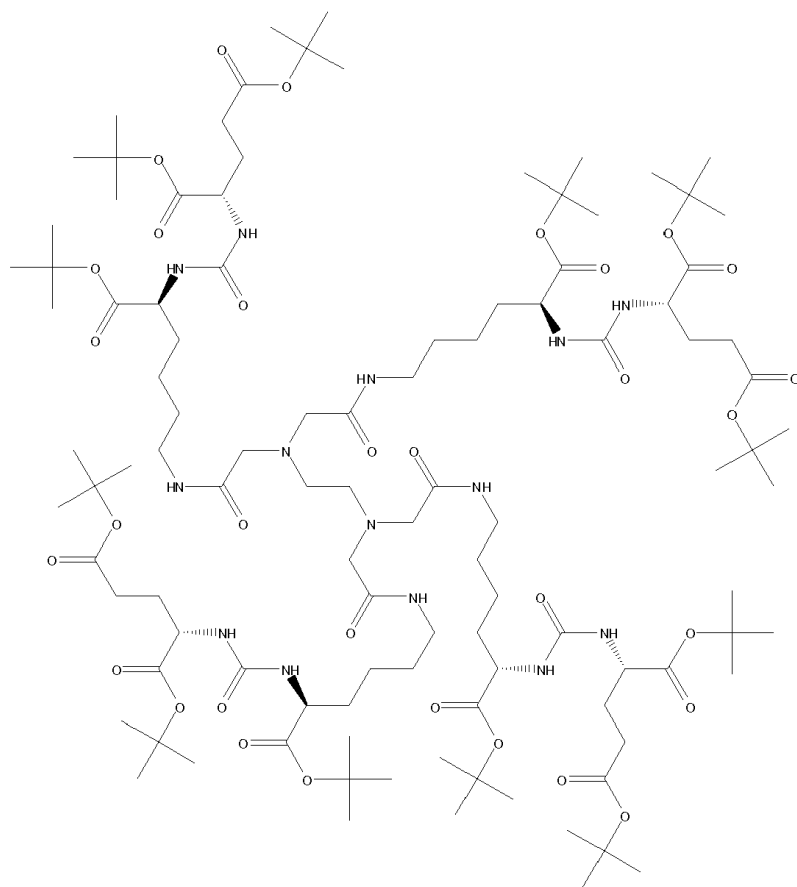
20 [0093] El esquema 1 ilustra la ruta sintética general para la multimerización de los compuestos basados en Glu-urea-lisina (GUL) usando EDTA. El primer paso implica la reacción, catalizada por una base, de GUL protegido por t-butilo con 4,4'-(etano-1,2-diil) dimorfolino-2,6-diona para dar el dímero GUL-EDTA protegido por t-butilo. La activación de los dos grupos carboxilo restantes del dímero GUL-EDTA usando un exceso de cualquiera de los reactivos de acoplamiento de péptidos disponibles comercialmente, tales como DCC, HOBT/HBTU o EDCI y hacer reaccionar el dímero activado con un ligero exceso de GUL protegido por t-butilo produjo el tetrámero GUL-EDTA deseado que se desprotegió en condiciones ácidas suaves y se sometió a purificación. Las técnicas analíticas adecuadas para la purificación del tetrámero incluyen cromatografía líquida de alta resolución, cromatografía preparativa en capa fina (TLC), cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de exclusión por tamaño. La caracterización del producto purificado se puede lograr usando espectroscopia $^1\text{H-RMN}$ y espectrometría de masas.

30

Esquema 1



[0094] Se utiliza una estrategia sintética similar para tetramerizar el análogo de GUG-enlazador-EDTA, cuya estructura se muestra a continuación:



(4)

(3S, 7S, 26S, 30S)-hexa-tert-butilo 15,18-bis((7S,11S)-7,11-bis(tert-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-4,9,17-trioxo-3-oxa-8,10,16-triazaoctadecan-18-il)-5,13,20,28-tetraoxo-4,6,12,15,18,21,27,29-octaazadotriacontano-1,3,7,26,30,32-hexacarboxilato

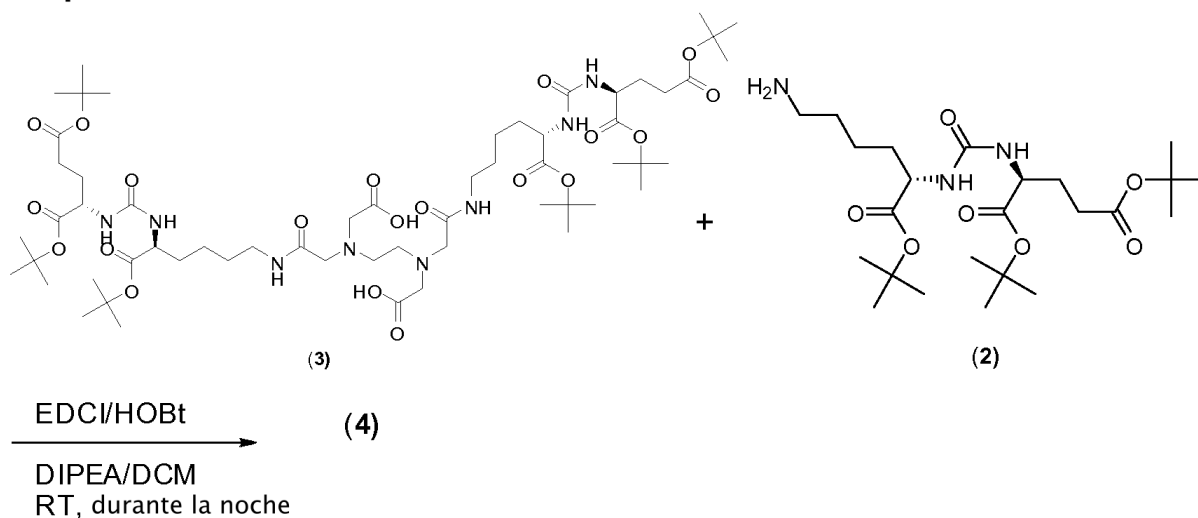
5

[0095] Por lo tanto, la síntesis del tetrámero GUG-EDTA anterior se logró agitando una solución de (14S,18S)-3-((7S,11S)-7,11-bis(tert-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-4,9,17-trioxo-3-oxa-8,10,16-triazaoctadecan-18-il)-14,18-bis(ácido-tert-butoxicarbonil)-6-(carboximetil)-23,23-dimetil-8,16,21-trioxo-22-oxa-3,6,9,15,17-pentaazatetracosan-1-oico(3), 200.0 mg, 0.16 mmol), (S)-di-tert-butil 2-(3-((S)-6-amino-1-tert-butoxi-1-oxohexan-2-il)ureido) pentanodioato ((2), 158.0 mg, 0.32 mmol), EDCI (66.0 mg, 0.34 mmol), HOBt (44.0 mg, 0.32 mmol) y DIPEA (0.09 ml) en DCM (5.0 ml.) a temperatura ambiente durante la noche (Esquema 2). Al día siguiente, la mezcla de reacción se concentró y purificó usando un sistema de cromatografía Biotage SP4 que utiliza un 0 % a un 10 % de metanol en DCM para producir el compuesto del título (4) como sólido blanco. $(M + H/2)^+ = 1086$.

10

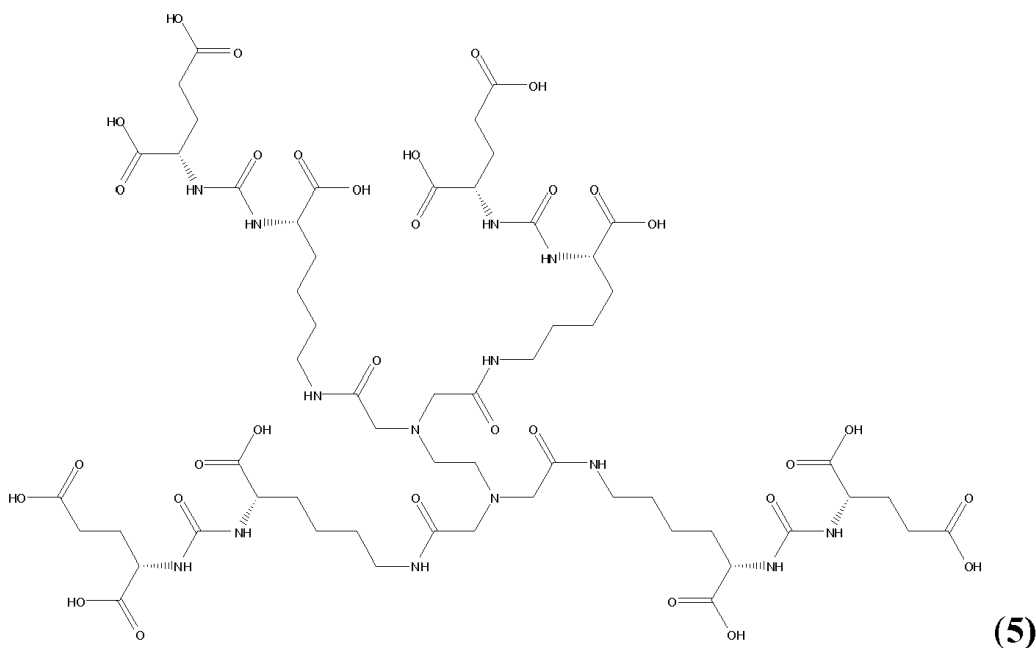
15

Esquema 2



5 [0096] La desprotección del tetrámero GUG-EDTA se consiguió agitando una solución de DCM (1.0 ml), de (3S, 7S, 26S, 30S)-hexa-terc-butilo 15,18-bis((7S,11S)-7,11-bis(tert-butoxicarbonil)-2,2-dimetil-4,9,17-trioxo-3-oxa-8,10,16-triazaoctadecan-18-il)-5,13,20,28-tetraoxo-4,6,12,15,18,21,27,29-octaaazadotriacontano-1,3,7,26,30,32-hexacarboxilato (4) en TFA (2.0 ml), durante 12 horas a temperatura ambiente. La evaporación del disolvente proporcionó el producto bruto deseado (3S, 7S, 26S, 30S)-15,18-bis(2-((S)-5-carboxi-5-(3-((S)-1,3-dicarboxipropil)ureido)pentilamino)-2-oxoetil)-5,13,20,28-tetraoxo-4,6,12,15,18,21,27,29-octaaazadotriacontano-1,3,7,26,30,32-ácido hexacarboxílico (5), que se purificó mediante HPLC. (M + H)⁺ = 1497.

10



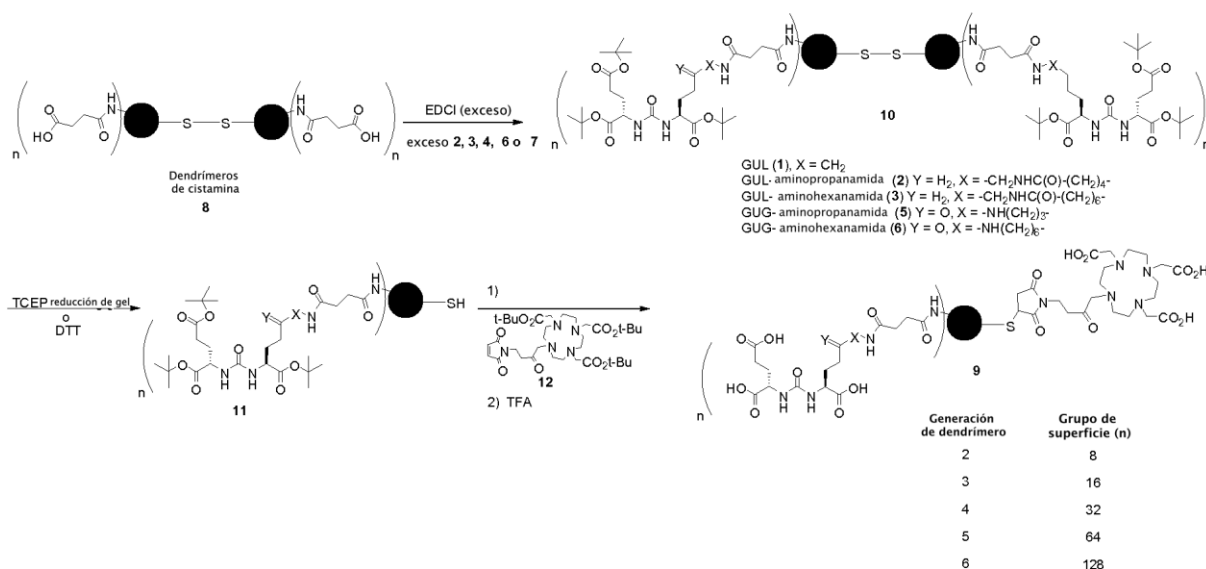
B. Síntesis de conjugados de fracción-dendrímico quelante de metales dirigidos a PSMA

15 [0097] Se sintetizarán una serie de conjugados de dendrimeros de la invención usando GUI, GUG o los compuestos apropiados de enlazadores GUL o enlazadores GUG que mostraron una afinidad de unión incrementada por PSMA basándose en estudios de unión usando los análogos de tetrámeros de EDTA de estos compuestos. La conjugación de estos compuestos de farmacóforo-enlazador de alta afinidad con los grupos ácidos de superficie de dendrimeros PAMAM de un núcleo de cistamina que contienen 16-128 grupos de

20

superficie, se lleva a cabo usando el protocolo de sintetización ilustrado a continuación en el esquema 3.

Esquema 3



[0098] En general, los dendrimeros de núcleo de disulfuro de cistamina comerciales disponibles con grupos de superficie de ácido succinámico en las generaciones dos a seis (8) reaccionarán con un exceso de un compuesto apropiado dirigido a PSMA, por ejemplo, los compuestos 1, 2, 3, 5 o 6 para producir los conjugados de dendrimeros de PSMA protegidos (10) que contienen las unidades deseadas de selección como objetivo/reconocimiento de PSMA. La conjugación de los grupos dirigidos a PSMA con la superficie del dendrimerio se consigue usando un exceso de agente de acoplamiento, por ejemplo, EDCI, junto con un ligero exceso del compuesto apropiado dirigido a PSMA.

[0099] El núcleo de disulfuro de cistamina del conjugado de dendrimeros se reducirá químicamente para permitir la conjugación de una única fracción de DOTA (quelante de metales) con el grupo sulfhidrilo libre. La conjugación de DOTA con el grupo sulfhidrilo libre se logrará usando el compuesto DOTA-maleimida (12). La desprotección de los grupos t-butil éster con TFA producirá los conjugados de dendrimeros de la fórmula I deseados.

[0100] En una realización, se usarán dendrimeros de PAMAM-ácido succinámico de generación 2, 3, 4, 5 o 6, que tienen 16, 32, 64, 128 o 256 grupos de superficie para la conjugación con la fracción dirigida a PSMA. Usando el protocolo de reacción descrito anteriormente, se conjugarán al menos el 80 % de los grupos de superficie libres con la fracción dirigida a PSMA. De acuerdo con una realización de esta invención, la reacción de conjugación ilustrada en el esquema 3 anterior produce un conjugado de dendrimerio de la fórmula I en el que al menos el 85 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o el 100% de los grupos de ácido succinámico de superficie se unen de manera covalente a la fracción dirigida a PSMA. En otra realización, el porcentaje de grupos de ácido succinámico de superficie unidos de forma covalente a la fracción dirigida a PSMA es al menos el 50 %, 52 %, 54 %, 56 %, 58 %, 60 %, 62 %, 64 %, 66 %, 68 % o 70 %.

[0101] Inicialmente, las moléculas diana se sintetizarán como derivados de indio no radioactivo para caracterización in vitro y evaluación biológica. Los compuestos se analizarán para determinar su pureza y confirmar su estructura mediante técnicas analíticas estándar ampliamente aceptadas (espectroscopía de ¹H-RMN y espectroscopía de masas (MALDI-TOF), y la pureza se evaluará mediante cromatografía de exclusión por tamaño) y se seleccionarán in vitro en un ensayo competitivo de unión para la inhibición de la unión de [¹²³I]-MIP-1072 con células de cáncer de próstata humano LNCaP.

[0102] Los conjugados de la fracción dirigida a DOTA-dendrimerio-PSMA que exhiben la mayor afinidad por PSMA se completarán luego con un radionucleido adecuado para aplicaciones de radioimagen o radioterapéuticas. Por lo tanto, el radiomarcaje de los conjugados de la fórmula I para formar complejos se llevó a cabo utilizando α-aminoácidos libres o como el derivado de aminoácidos apropiadamente N-prottegido utilizando la siguiente metodología. El radiomarcaje de ¹¹¹In se logrará de la siguiente manera: A un vial de 10 ml que contiene 10 mCi de cloruro de indio-111 en un volumen de 0.5 ml (HCl 0.05 N) se agrega agua TraceSelect® Ultra para obtener un volumen de reacción final de 1.0 ml. La solución del radionucleido se transferirá a un vial que contiene 10 nmoles de un conjugado de dendrimerio de la fórmula I. La mezcla de reacción se calentará a 100 °C durante 30 minutos, luego se enfriará a temperatura ambiente durante un mínimo de 5 minutos. La reacción se diluirá hasta el volumen deseado mediante la adición de solución salina estéril para preparar una muestra del complejo de la invención que sea adecuada para inyección (0.9 % de NaCl).

II. Formulaciones farmacéuticas

- 5 [0103] Los compuestos de la invención dirigidos a PSMA, sus conjugados con dendrímeros y complejos de radionucleidos-dendrímeros serán útiles para inhibir la expresión y/o actividad de PSMA así como también la metástasis del cáncer de próstata. Los conjugados de la fórmula I y sus conjugados de radionucleidos también se utilizarán en aplicaciones de radioimágenes usadas para detectar tejido canceroso que expresa PSMA.
- 10 [0104] En una realización, la invención proporcionará una composición farmacéutica que comprende uno o varios conjugados de la fórmula I o una sal, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable, mezclados con un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición contiene además, de acuerdo con las prácticas aceptadas de compuestos farmacéuticos, uno o varios agentes terapéuticos adicionales, excipientes, diluyentes, adyuvantes, estabilizadores, emulsionantes, conservantes, colorantes, tampones y agentes aromatizantes farmacéuticamente aceptables.
- 15 [0105] En otra realización, la formulación farmacéutica comprenderá el complejo del conjugado de dendrímero de la invención y un metal radionucleido junto con una sal, solvato, estereoisómero, tautómero o profármaco farmacéuticamente aceptable, mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 [0106] Las composiciones de la invención pueden administrarse por vía oral, tópica, parenteral, por inhalación o por pulverización o vía rectal en formulaciones de unidades de dosificación. El término parenteral, tal como se usa en el presente documento, incluye técnicas de inyección e infusión subcutáneas, intravenosas, intramusculares o intraesternales.
- 25 [0107] Las composiciones orales adecuadas de acuerdo con la invención incluyen comprimidos, trociscos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires.
- 30 [0108] Dentro del alcance de la invención se incluyen composiciones farmacéuticas adecuadas para dosificaciones de una sola unidad que comprenden un complejo de la invención, su estereoisómero, profármaco, sal, solvato, hidrato o tautómero farmacéuticamente aceptable y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 35 [0109] Las composiciones de la invención adecuadas para uso oral se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Por ejemplo, las formulaciones líquidas de los complejos de la invención contienen uno o varios agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparados farmacéuticamente elegantes y de sabor agradable del complejo de la invención.
- 40 [0110] Para composiciones de pastillas, el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos se usa para la fabricación de pastillas. Los ejemplos de tales excipientes incluyen diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las pastillas pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertas mediante técnicas de recubrimiento conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción terapéutica sostenida durante un período de tiempo deseado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.
- 45 [0111] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.
- 50 [0112] Para suspensiones acuosas, el complejo de la invención se mezcla con excipientes adecuados para mantener una suspensión estable. Los ejemplos de tales excipientes incluyen carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidropropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga.
- 55 [0113] Las suspensiones orales también pueden contener agentes dispersantes o humectantes, tales como fosfátidos de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alqueno con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de sorbitán polioxietilenado, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de sorbitán polietilenado. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o de n-propilo, uno o varios agentes colorantes, uno o varios agentes aromatizantes y uno o varios agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.
- 60
- 65

[0114] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los ingredientes activos en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico.

5

[0115] Se pueden añadir agentes edulcorantes tales como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar preparados orales de buen sabor. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

10

[0116] Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o varios conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican mediante los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

15

[0117] Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de cacahuete; o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales, por ejemplo, goma arábiga o goma tragacanto, fosfátidos naturales, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de sorbitán polioxietileno. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

20

25

[0118] Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un emoliente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de un inyectable estéril, una suspensión acuosa o una suspensión oleosa. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se emplean convencionalmente como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo blando incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

30

35

[0119] Los complejos de radionucleidos de la fórmula I también se pueden administrar en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales son manteca de cacao y polietilenglicoles.

40

[0120] Las composiciones para administraciones parenterales se administran en un medio estéril. Dependiendo del vehículo utilizado y la concentración del fármaco en la formulación, la formulación parenteral puede ser una suspensión o una solución que contienen el fármaco disuelto. También se pueden añadir adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes tamponantes a las composiciones parenterales.

45

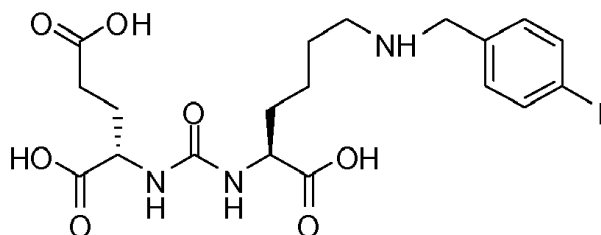
III. Biología general

50

A. Prueba de tetrámeros de EDTA-PSMA

[0121] Los análogos recién preparados de la estructura general 5 se seleccionaron en un ensayo de unión a células de cáncer de próstata humano a una concentración de 3 nM usando células LnCap positivas (+) para PSMA. Los resultados de este examen nos mostraron si los compuestos presentaban unión específica a células PSMA (+). Los compuestos que presentaban unión específica a células PSMA (+) se siguieron evaluando en un ensayo de unión competitiva contra el inhibidor de PSMA ácido (S)-2-(3-((S)-1-carboxi-5-(4-yodobencilamino)pentilo)ureido)pentanodioico (MIP-1072), y se calcularon los valores IC₅₀.

55



MIP-1072

B. Selección preliminar in vitro

5

[0122] La línea celular de cáncer de próstata humano, LNCaP (PSMA positiva) se obtuvo de la American Type Culture Collection (Rockville, MD). Las células LNCaP se mantuvieron en medio RPMI-1640 (Invitrogen, Carlsbad, CA) suplementado con suero bovino fetal al 10 % (Hyclone, Logan, UT) en una incubadora humidificada a 37 °C/5 % de CO₂. Se retiraron las células de los matraces para pase o para transferencia a placas de ensayo de 12 pocillos incubándolas con tripsina/EDTA (Invitrogen, Carlsbad, CA) al 0.25 %.

10

[0123] En un ensayo de unión competitivo típico, las células LNCaP se colocaron en placas de 12 pocillos con aproximadamente 4 x 10⁵ células/pocillo y se incubaron durante 48 horas en una incubadora humidificada a 37 °C/dióxido de carbono al 5 % antes de la adición de inhibidores de PSMA. El ejemplo de tetrámero de EDTA-PSMA MIP-1444 se diluyó en un medio de cultivo celular libre de suero que contenía un 0.5 % de albúmina de suero bovino (BSA). El MIP-1444 diluido se añadió a las células en presencia de [¹²³I]-MIP-1072 3 nM durante 1 hora a temperatura ambiente. Las células se eliminaron de las placas pipeteando cuidadosamente y se transfirieron a tubos Eppendorff de 1.5 ml. Las muestras se microcentrifugaron durante 30 segundos a 15 K x g. El medio se aspiró y el sedimento se lavará dos veces mediante dispersión en medio de ensayo nuevo seguido de microcentrifugación. La unión celular de [¹²³I]-MIP-1072 se determinó contando el sedimento celular en un contador gamma automatizado Wallac 1282. El MIP-1072 frío servirá como control positivo en el ensayo. Los valores IC₅₀ se generaron usando el software GraphPad Prism. Las figuras 1 ilustran las curvas de unión competitiva para varias fracciones dirigidas a PSMA de la invención, así como los conjugados obtenidos por di- y tetramerización usando EDTA. Como se ilustra en la figura 1, el grupo GUL (MIP-1033) dirigido a PSMA, tiene una afinidad por PSMA baja, con un valor IC₅₀ que es 36 veces mayor que el IC₅₀ para el tetrámero MIP-1444. El dímero de GUL (MIP-1046) también presenta una mayor afinidad de unión por PSMA que MIP1033, con un valor de IC₅₀ ~30 veces menor que el valor IC₅₀ para MIP-1033. Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que la multimerización de fracciones GUL o GUG apropiadamente espaciadas usando un dendrímero podría proporcionar una estrategia adecuada para aumentar la eficacia terapéutica de los conjugados GUL y/o GUG radiomarcados, mejorando la distribución de tejidos, disminuyendo la captación de fármaco en los riñones, y gracias al perfil farmacocinético mejorado de los conjugados de dendrímeros de la invención.

15

20

25

30

C. Distribución de tejidos

35

[0124] La captación de los complejos de dendrímero-PSMA etiquetados con ¹¹¹In en modelos de xenoinjertos de tumores humanos se realizará según los métodos publicados. Brevemente, las células LNCaP se tripsinizarán, se contarán y se suspenderán en una solución que contiene un 50 % de PBS (con 1 mg/ml de D-glucosa y 36 µg/ml de piruvato de sodio) y un 50 % de Matrigel (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ). Se inocularán a ratones NCr^{nu/nu} 2 x 10⁶ células por vía subcutánea en el flanco posterior en un volumen de suspensión de 0.25 ml. Los estudios de captación tumoral se realizarán cuando los tumores alcancen un tamaño de 100-200 mm³. La captación tisular se analizará administrando, a través de la vena de la cola, una inyección en bolo de aproximadamente 2 µCi/ratón a un volumen constante de 0.05 ml. Grupos de 5 animales serán sacrificados por asfixia con dióxido de carbono a las 1, 4 y 24 horas después de la inyección. Los tejidos (tumor, sangre, corazón, hígado, pulmones, bazo, intestino grueso y delgado, estómago, riñones, músculo esquelético, hueso, tejido adiposo, testículos y cerebro) serán disecados, extirpados, pesados, transferidos a tubos de plástico y contados en un contador y automatizado (LKB modelo 1282, Wallac Oy, Finlandia). Los niveles de radioactividad en el tiempo de tejido se expresarán como % de dosis inyectada por gramo de tejido (%DI/g) y % de dosis inyectada por órgano (% DPO). La coinyección de 50 mg/kg de PMPA se usará para demostrar la unión específica al objetivo.

40

45

50

D. Tratamientos terapéuticos

[0125] Los compuestos dirigidos a PSMA de la invención, sus conjugados con dendrímeros y los complejos de radionucleido-dendrímero de la invención serán útiles para inhibir la expresión y/o actividad de PSMA así como para inhibir la metástasis del cáncer de próstata. Los conjugados de Fórmula I y sus conjugados de

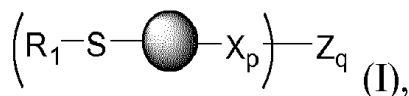
55

radionucleidos también se usan en aplicaciones de radioimagen utilizadas para detectar tejido canceroso que expresa PSMA.

- 5 [0126] Los compuestos, los conjugados de dendrímeros y sus complejos con radionucleidos de acuerdo con el presente, inhiben la NAALADasa (PSMA) y, por lo tanto, son candidatos terapéuticos adecuados para el tratamiento de enfermedades que podrían ser receptivas a la inhibición de NAALADasa. Los ejemplos de dichas enfermedades incluyen neuropatía diabética dolorosa y sensorial, daño neuronal y cáncer de próstata, esquizofrenia, cáncer colorrectal, inflamación, esclerosis lateral amiotrófica o neuropatía diabética. Se puede encontrar una guía para el modelado de dichos tratamientos terapéuticos en The Pharmacological Basis of Therapeutics de Goodman & Gilman, McGraw Hill, 10^a edición, 2001, Pharmaceutical Preformulation and Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form, CRC, 2001 y Handbook of Pharmaceutical Excipients, AphA Publications, 5^a edición, 2005.
- 10


REIVINDICACIONES

1. Conjugado de dendrímero de acuerdo con la fórmula I:

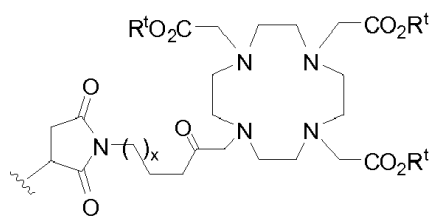


5

donde

-  representa un núcleo de dendrímero de una generación, n, seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, cada generación asociada con un número predeterminado de grupos de superficie, p;
- X es un grupo de superficie seleccionado del grupo que consiste en -COOR', -NR'R", en su forma «libre» o no conjugada y -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)-, -NHC(O)-(C₂-DO₆) alqueniil-C(O), -NHC(O)-CH₂-O-NH₂, -NHC(O)-(CH₂)_a-maleimida y -NR'-(CH₂)_a-NR" en su forma conjugada.
- S es azufre;
- R₁ es

15

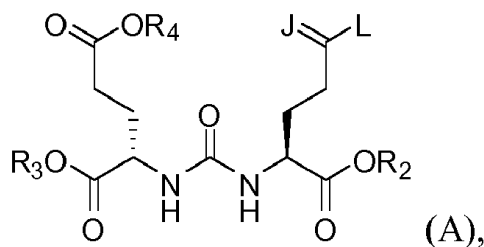


20

donde

- R^t es H, un grupo alquilo C₁-C₈, un ion de amonio, un ion de alquilamonio o un ion metálico alcalino o alcalinotérreo, y
- x es un número entero igual a 1, preferiblemente donde R^t es H;
- p es un número entero seleccionado de 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 y 4096;
- Z es una fracción dirigida a antígeno de membrana específico de próstata de acuerdo con la fórmula A:

25



30

donde

- C=J es el grupo -CH₂ o -C=O;
- L se selecciona del grupo que consiste en -COOR", -(CH₂)₂-NH-C(O)-CH(O)-, -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂-CH₂-O)_y-NR'-, -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'- y -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂)_i-SH.

35

- R', R", R"', R₂, R₃ y R₄ se seleccionan cada uno de manera independiente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado;
- q representa la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z;
- los subíndices a, y y z son cada uno enteros independientes entre 0 y 8, ambos inclusive.

40

2. Conjugado de dendrímero según la reivindicación 1, en el que X es -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)-, -C=J es -CH₂ y L es -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'-.

3. Conjugado de dendrímero según la reivindicación 2, en donde a es 2 y z es 3.

45

4. Conjugado de dendrímero según la reivindicación 2, en donde a es 2 y z es 6.

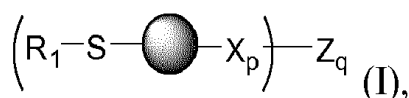
5. Conjugado de dendrímero según la reivindicación 1, en el que X es -NR'-(CH₂)_a-NR"-, - C=J es -C=O y L es -COOR"', preferiblemente donde a es un número entero entre 1 y 3, ambos inclusive, más preferiblemente a es 2.

5 6 Conjugado de dendrímero según la reivindicación 5, en el que X es -NH-(CH₂)₂-NH- y L es un -COO-(C₁-C₆)alquilo.


7. Conjugado de dendrímero según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z está en el intervalo de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 100 %, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 75 %.

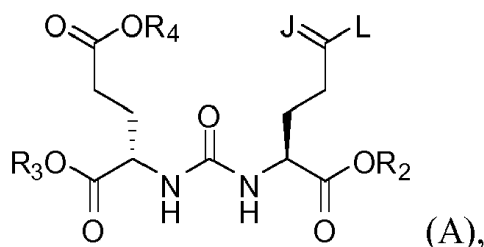
8. Complejo que comprende:

- 15 (i) un ion metálico, en el que el metal se selecciona del grupo que consiste en ⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ²¹²Pb, ²⁰³Pb, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ⁸⁹Zr, ¹⁸⁶Re, ^{99m}Tc, ⁹⁰Y, ⁸⁶Y, ¹⁷⁷Lu, ¹¹¹In y ¹⁸⁸Re, preferiblemente el metal es ¹¹¹In; y
 (ii) un conjugado de dendrímero de acuerdo con la fórmula I:



donde

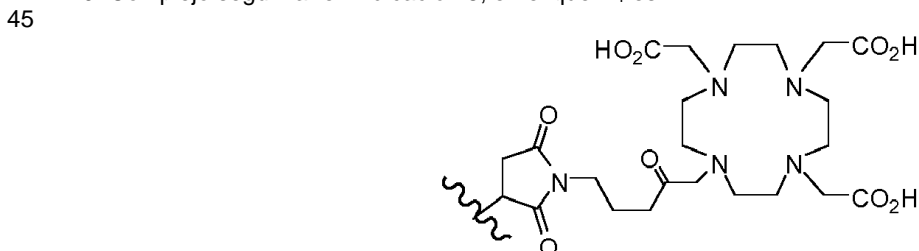
- 20 -  representa un núcleo de dendrímero de una generación, n, seleccionado del grupo que consiste en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, cada generación asociada con un número predeterminado de grupos de superficie, p;
 - X es un grupo de superficie seleccionado del grupo que consiste en -COOR', -NR'R", en su forma «libre» o no conjugada y -NHC(O)-(CH₂)_a-C(O)-, -NHC(O)-(C₂-DO₆) alqueniil-C(O), -NHC(O)-CH₂-O-NH₂, -NHC(O)-(CH₂)_a-maleimida y -NR'-(CH₂)_a-NR" en su forma conjugada.
 - S es azufre;
 - R₁ es un quelante de metales;
 - p es un número entero seleccionado de 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 y 4096;
 30 - Z es una fracción dirigida a antígeno de membrana específico de próstata de acuerdo con la fórmula A:



donde

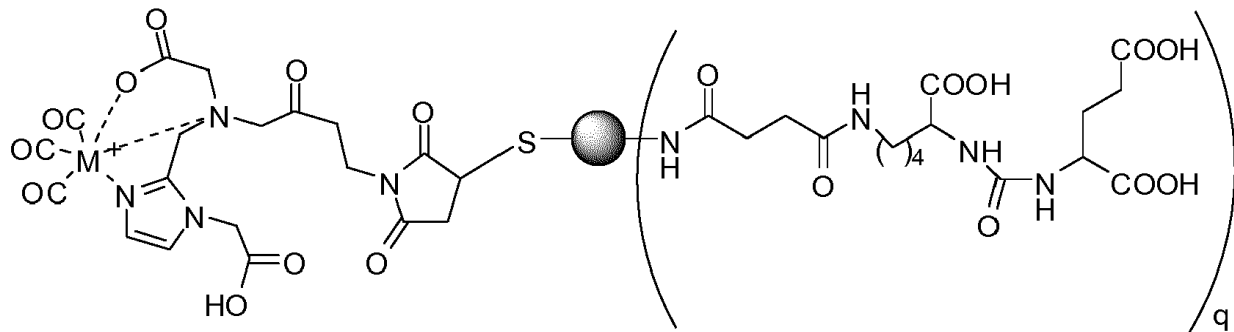
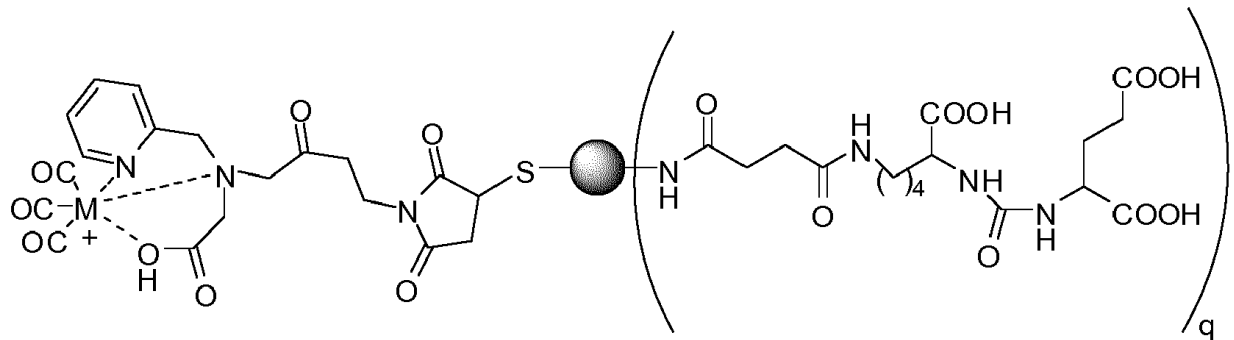
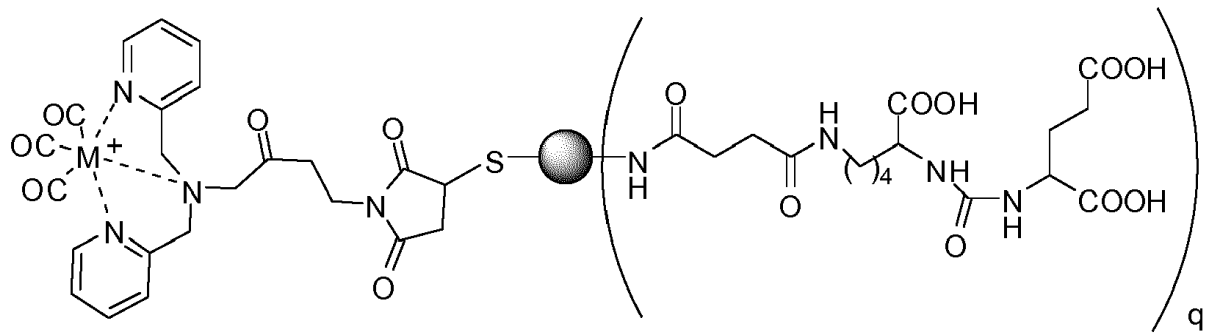
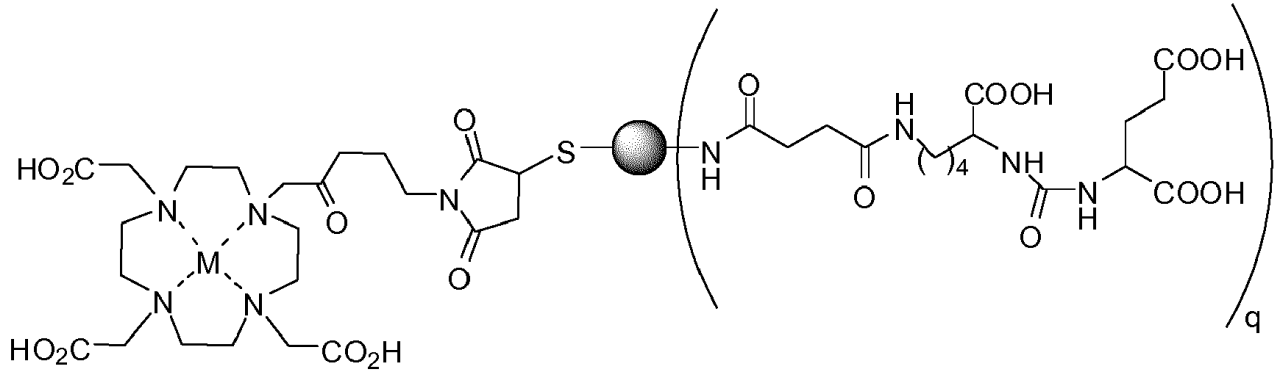
- 35 - C=J es el grupo -CH₂ o -C=O;
 - L se selecciona del grupo que consiste en -COOR"', -(CH₂)₂-NH-C(O)-CH(O)-, -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂-CH₂-O)_y-NR'-, -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂)_z-NR'- y -(CH₂)₂-NH-C(O)-(CH₂)_z-SH-.
 - R', R", R"', R₂, R₃ y R₄ se seleccionan cada uno de manera independiente del grupo que consiste en H y alquilo C₁-C₆ lineal o ramificado;
 40 - q representa la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z;
 - los subíndices a, y y z son cada uno enteros independientes entre 0 y 8, ambos inclusive.

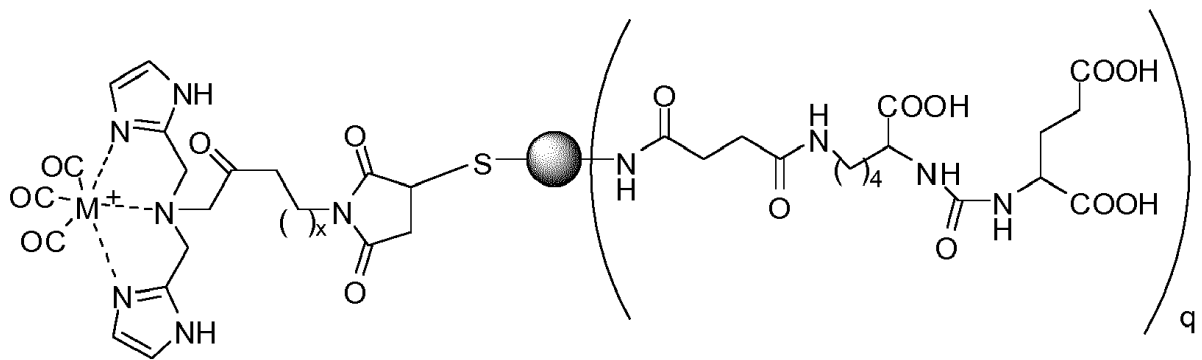
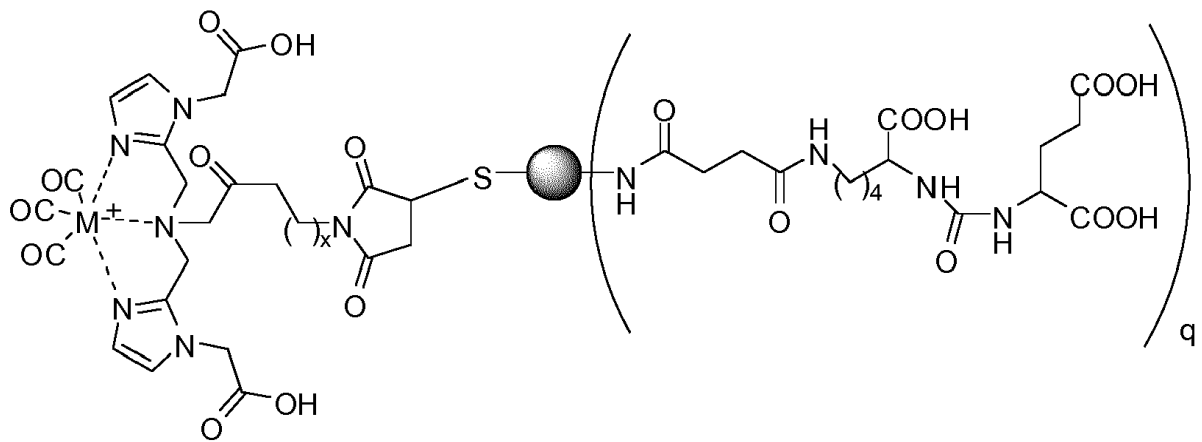
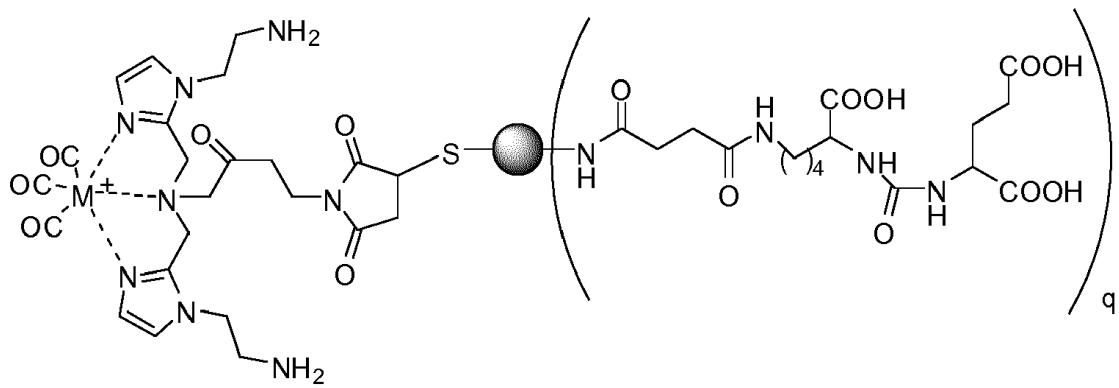
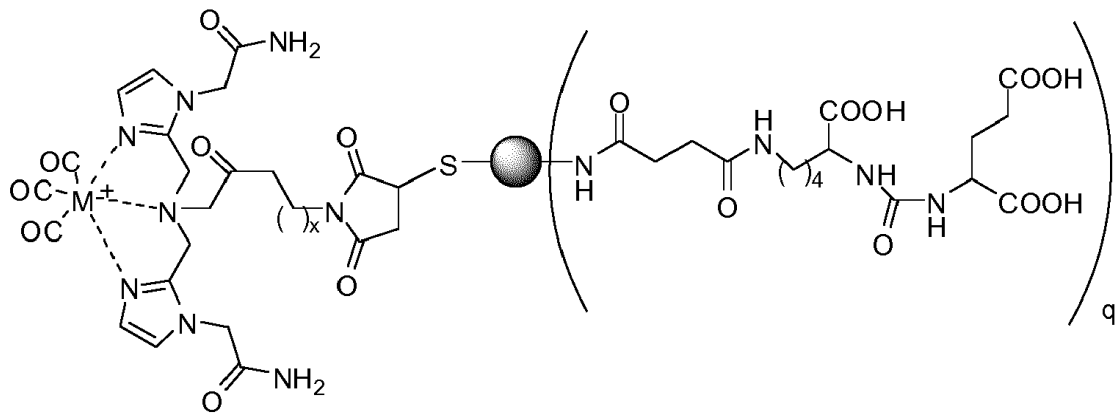
9. Complejo según la reivindicación 8, en el que R₁ es

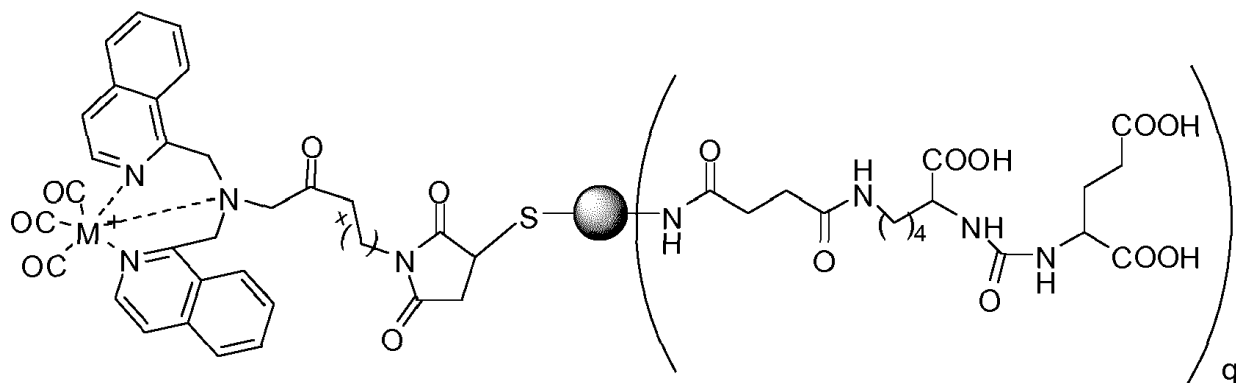
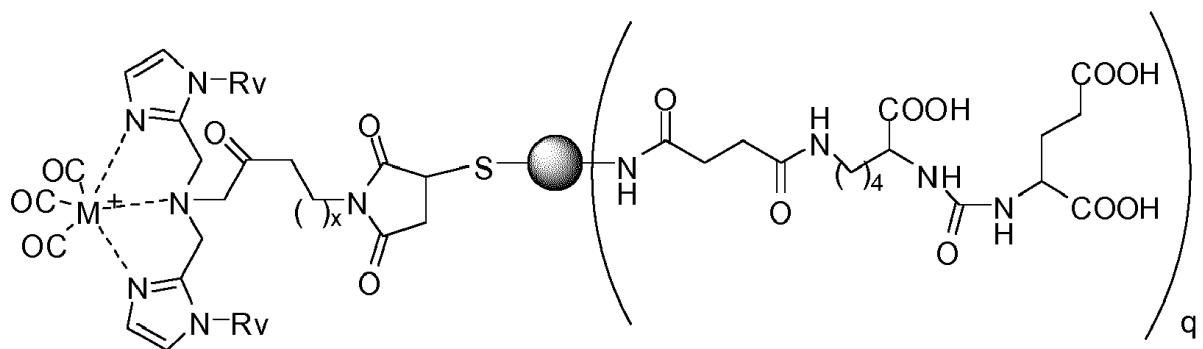


10. Complejo según la reivindicación 8 o 9, en el que la proporción de grupos de superficie disponibles, X, conjugados con Z está en el intervalo de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 100 %, preferiblemente en el intervalo de aproximadamente un 50 % a aproximadamente un 75 %.

5 11. Complejo según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, que se selecciona de entre:







donde

- M se selecciona del grupo que consiste en ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{89}Zr , ^{186}Re , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{90}Y , ^{86}Y , ^{177}Lu , ^{111}In y ^{188}Re ;

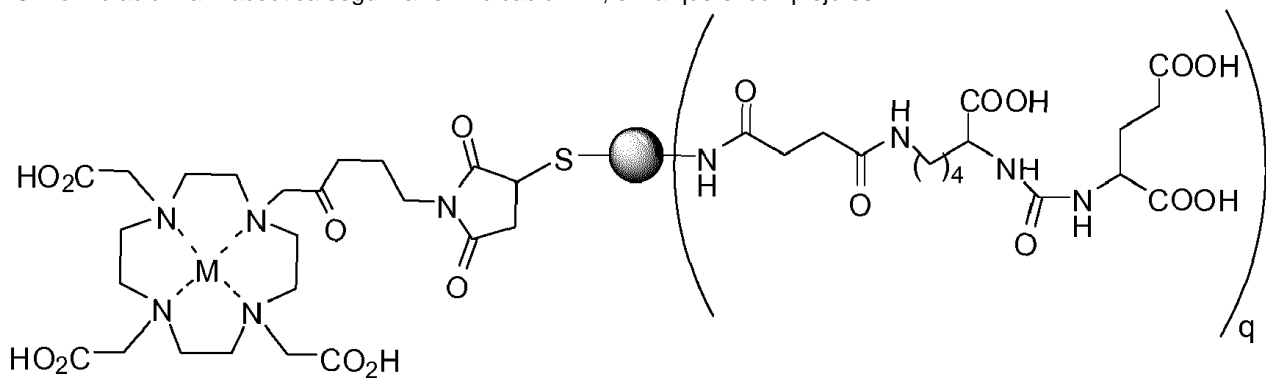
- R^v es un alquilo C₁-C₈;

- x es un número entero entre 0 y 6, ambos inclusive;

5 y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

12. Formulación farmacéutica, que comprende el complejo según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 13. Formulación farmacéutica según la reivindicación 12, en la que el complejo es



donde

- M se selecciona del grupo que consiste en ^{68}Ga , ^{64}Cu , ^{67}Cu , ^{212}Pb , ^{203}Pb , ^{212}Bi , ^{213}Bi , ^{89}Zr , ^{186}Re , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{90}Y , ^{86}Y , ^{177}Lu , ^{111}In y ^{188}Re ;

15 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. Complejo según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento del cáncer de próstata.

20 15. Complejo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el metal (M) se selecciona del grupo que consiste en ^{68}Ga , ^{111}In , $^{99\text{m}}\text{Tc}$ y ^{186}Re , para su uso en la obtención de imágenes de tejido de cáncer de próstata.

16. Complejo para su uso según las reivindicaciones 14 o 15, en el que el tejido es tejido de cáncer de próstata que expresa PSMA.

Figura 1

Ensayo de unión competitiva PSMA

