

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 685 974**

51 Int. Cl.:

A61K 31/545 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.04.2015 PCT/EP2015/057310**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.10.2015 WO15150516**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.04.2015 E 15713766 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.06.2018 EP 3125901**

54 Título: **Derivados de cefalosporina para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

03.04.2014 EP 14305487

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.10.2018

73 Titular/es:

**INSTITUT CURIE (50.0%)
26, rue d'Ulm
75248 Paris Cedex 05, FR y
HARMONIC PHARMA (50.0%)**

72 Inventor/es:

**KARABOGA, ARNAUD SINAN;
PEREZ-NUENO, VIOLETA ISABEL;
SOUCHET, MICHEL y
DECAUDIN, DIDIER**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 685 974 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de cefalosporina para tratar el cáncer

Campo de la invención

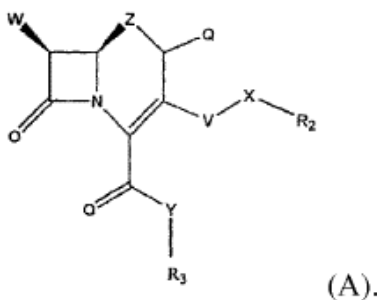
5 La presente invención se refiere al campo de la medicina, en particular al uso de los antagonistas del receptor del CXCR4 en el tratamiento contra el cáncer.

Antecedentes de la invención

10 Las quimioterapias antitumorales clásicas inducen la muerte celular mediante el daño al ADN, aprovechando el comportamiento proliferativo de las células cancerosas. Los últimos abordajes terapéuticos, en cambio, se refieren a la interacción de los oncocitos con su microentorno, que se produce a través de los receptores de la quimiocina y sus ligandos (Domanska y colaboradores: European Journal of Cancer, 2013, 49, 219-230). Una pareja importante y representativa de quimiocina-receptor es el ligando de la quimiocina CXCL12 y su receptor CXCR4. El CXCR4/CXCL12 participa en la proliferación de los tumores primarios, la migración de las células tumorales y el establecimiento de las metástasis. Por lo tanto, el CXCL12/CXCR4 parece ser un abordaje terapéutico atractivo y su interacción puede alterarse mediante los antagonistas del CXCR4. Ya se han aprobado varios inhibidores de CXCR4 para el tratamiento contra el cáncer, a saber, AMD3100 (Mozobil, plerixafor) y CTCE-9908, solos o en combinación con la quimioterapia convencional. En particular, los antagonistas del CXCR4 han demostrado ser fármacos interesantes para la sensibilizar las células tumorales a la quimioterapia. Actualmente se están investigando varios otros antagonistas de CXCR4 en ensayos clínicos. Por consiguiente, cualquier antagonista nuevo del CXCR4 es de gran interés para el desarrollo de los tratamientos antitumorales.

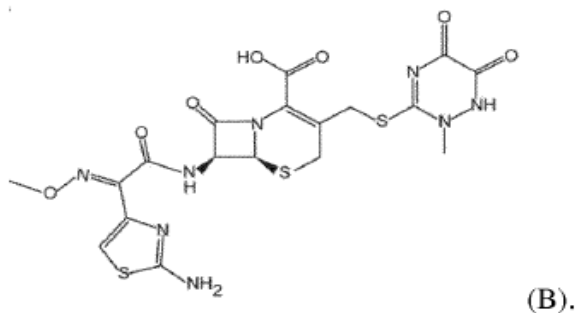
20 Además de esto, independientemente de la estrategia terapéutica anterior, otros han sugerido el uso de cefalosporinas para el tratamiento de distintos tipos de cáncer.

25 Por ejemplo, en la solicitud de patente WO 02/099430, Barker y colaboradores han reportado el uso de derivados de cefalosporinas como potenciales agentes anticancerosos. Estos derivados tienen una débil actividad antibiótica y se han diseñado para inhibir la formación de complejos de β -catenina y LEF/TCF, la actividad inhibidora que respalda su uso como fármaco antitumoral. Se ha preparado y probado una gran cantidad de derivados para determinar su capacidad de inhibir formación de complejos. No hay datos respecto de una potencial actividad como fármaco antitumoral. La mayoría de los derivados descritos por Barker y colaboradores se pueden clasificar en tres clases, según las definiciones de los sustituyentes V y X, tal como se representa en la siguiente fórmula (A):



30 V y X puede formar un sustituyente de acetato de metilo, un sustituyente de metilo o un sustituyente derivado del azufre, definiendo de este modo cada clase de derivados de cefalosporinas.

35 Li y colaboradores (Carcinogenesis, 2012, 33, 2548-2557) también han informado que una cefalosporina de tercera generación, conocida como Ceftriaxona, suprime el crecimiento del cáncer de pulmón, dirigiéndose a Aurora B. La ceftriaxona se sustituye mediante un sustituyente derivado del azufre, en la posición 3 del núcleo de cefalosporina y de la fórmula (B):

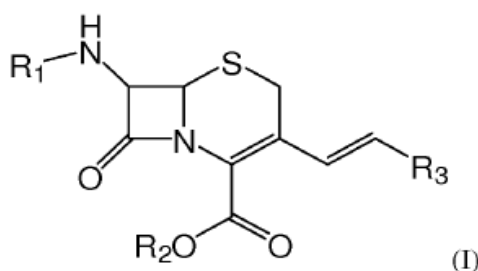


Sin embargo, todavía existe la necesidad de desarrollar nuevos fármacos y descubrir nuevos objetivos para tratar el cáncer, a fin de mejorar los tratamientos administrados a los pacientes que los necesitan.

Sumario de la invención

5 En este contexto, los inventores demostraron asombrosamente e identificaron que un derivado de cefalosporina representado por la siguiente fórmula (I) es útil para tratar el cáncer.

La presente invención se refiere a compuestos de la fórmula (I):



en la que:

- R₁ representa:
 - 10 - un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄ o una unidad —CO₂-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₁₀), alquileno (C₂-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₁₄), heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquilo (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquiloxi (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquiloxi, alquilo (C₁-C₆)-arilo, alquilo (C₁-C₆)-ariloxi, alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo o alquilo (C₁-C₆)-heteroariloxi; opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una cetona, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico eventualmente sustituido por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en la que R₅ y R₆ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;
 - 15
- R₂ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆) y
- 20 ▪ R₃ representa un átomo de hidrógeno, una cadena de alquilo (C₁-C₆) o alquileno (C₂-C₆), en donde dichas cadenas están opcionalmente sustituidas al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una unidad -O-CO-(C₁-C₆)alquilo, una cetona, un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en donde R₅ y R₆ representan H o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;
- 25 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento contra el cáncer.

En una realización particular del compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, R₂ representa un átomo de hidrógeno.

En otra realización particular del compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, R₃ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆). Ventajosamente, R₃ es un átomo de hidrógeno o un metilo.

30 En otra realización particular más del compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
- una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₆), arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-arilo o alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo; opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆ en la que R₅ y R₆ son tales como se los ha definido con anterioridad, un átomo de halógeno o un grupo ciano.
- 35

Con preferencia, R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
- 40 - una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa:

- un metilarilo, con preferencia un metilfenilo, un metilfenol o un metiltiofeno, eventualmente sustituido por un grupo amino, metilo o hidroxilo,
- un radical aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alaninilo, glicinilo, histidinilo, isoleucinilo, leucinilo, fenilalaninilo, serinilo, treoninilo, tirosinilo, valina, con preferencia, tirosinilo o uno de sus derivados, según se define a continuación
- un arilo, con preferencia, un fenilo o un imidazolilo, eventualmente sustituido por al menos un grupo metilo o un grupo ciano o
- un propilo, sustituido eventualmente por un grupo de ácido carboxílico.

Con mayor preferencia, R₁ representa un átomo de hidrógeno o tirosinilo.

10 En un aspecto muy particular, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- ácido 7-(2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamido)-8-oxo-3-(prop-1-enil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico;
- ácido 7-amino-8-oxo-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico y
- ácido 8-oxo-7-(2-fenilacetamido)-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

15 Con mayor preferencia, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

- ácido 7-(2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamido)-8-oxo-3-(prop-1-enil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico y
- ácido 7-amino-8-oxo-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

En particular, los compuestos de la presente invención tienen un efecto antagonista del CXCR4.

20 En una realización particular, los compuestos de la presente invención se formulan en una composición farmacéutica de liberación extendida, de liberación controlada o de liberación sostenida. Con preferencia, la composición farmacéutica de liberación extendida, de liberación controlada o de liberación sostenida comprende uno o más carbómeros.

25 Con preferencia, los compuestos de la presente invención se usan para tratar tumores sólidos, en especial cáncer de mama, cáncer de pulmón o melanoma, en particular, melanoma uveal.

La presente invención se refiere, asimismo, a una composición farmacéutica que comprende, como principios activos, un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, y al menos un fármaco antitumoral adicional, para usar en el tratamiento contra el cáncer, con preferencia tumores sólidos, en especial cáncer de mama, cáncer de pulmón o melanoma, en particular melanoma uveal.

30 Con preferencia, el fármaco antitumoral adicional se selecciona del grupo que consiste en un inhibidor de las topoisomerasas I o II, un agente alquilante de ADN, un agente antimetabólico, un agente diana, tal como un inhibidor de la quinasa, un anticuerpo terapéutico diseñado para mediar la citotoxicidad contra los oncocitos o para modular una de sus funciones biológicas fundamentales y/o un agente anti-EGFR (*epithelial growth factor receptor*, receptor del factor de crecimiento epitelial). El agente alquilante de ADN, con preferencia, se selecciona del grupo que

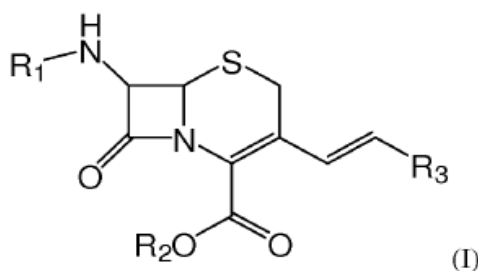
35 consiste en Cisplatino, Carboplatino, Oxaliplatino, Fotemustina y Dacarbazina y, con mayor preferencia, es Cisplatino, Fotemustina o Dacarbazina. El agente antimitótico es, con preferencia, Docetaxel o Paclitaxel, y con mayor preferencia, Docetaxel. El agente anti-EGFR puede seleccionarse entre Erlotinib, Cetuximab, Gefitinib, Zalutumimab, Panitumumab, Nimotuzumab, Matuzumab y Lapatinib, con preferencia, Cetuximab.

40 En particular, los compuestos o la composición farmacéutica de la presente invención pueden, usarse para tratar el cáncer en combinación con radioterapia, hipertermia, hormonoterapias y/o otras terapias antitumorales, de un modo opcional antes y/o después de una cirugía o en simultáneo con el desarrollo de esta.

45 La presente invención se refiere, asimismo, a un *kit* que comprende (a) un compuesto de la presente invención; y (b) un fármaco antitumoral adicional como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial, en el tratamiento contra el cáncer. Ventajosamente, el *kit* se usa para el tratamiento de tumores sólidos, en especial cáncer de mama, cáncer de pulmón o melanoma, en particular melanoma uveal.

Descripción detallada de la invención

Los inventores identificaron un nuevo uso de los derivados de cefalosporinas de la fórmula (I):

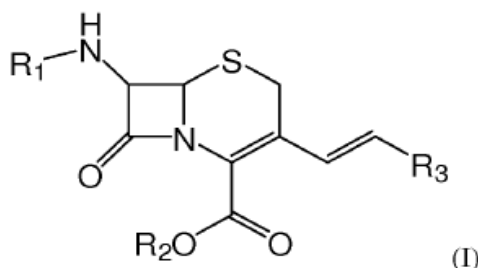


que tiene un interés terapéutico para tratar el cáncer como inhibidor del receptor del CXCR4.

Los inventores descubrieron con asombro que los compuestos de cefalosporina sustituidos con una cadena de alqueno en la posición 3 del núcleo de cefalosporina tienen una actividad inhibidora significativa del CXCR4.

- 5 En particular, se observó con asombro un mejor perfil de inhibición del CXCR4 con los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención, en la que R₃ representa un grupo metilo o un átomo de hidrógeno, en comparación con los compuestos descritos por la solicitud de patente WO 02/099430.

En consecuencia, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), que tiene, en particular, una actividad antagonista del receptor del CXCR4, para usar en el tratamiento contra el cáncer:



10

en la que:

- R₁ representa:
 - un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄ o una unidad —CO₂-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₁₀), alqueno (C₂-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₁₄), heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquilo (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquilo (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquilo, alquilo (C₁-C₆)-arilo, alquilo (C₁-C₆)-arilo, alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo o alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo; opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una cetona, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico eventualmente sustituido por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en la que R₅ y R₆ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;
- R₂ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆) y
- R₃ representa un átomo de hidrógeno, una cadena de alquilo (C₁-C₆) o alqueno (C₂-C₆), en donde dichas cadenas están opcionalmente sustituidas al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una unidad -O-CO-(C₁-C₆)alquilo, una cetona, un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en donde R₅ y R₆ representan H o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento contra el cáncer.

Según la presente invención, los términos y las frases enumerados a continuación tienen los siguientes significados:

- 30 Los términos mencionados en la presente con sufijos tales como, por ejemplo C₁-C₃, C₁-C₆, C₁-C₁₀, C₂-C₁₀ o C₃-C₁₄ también se pueden usar con números menores de átomos de carbono, tales como C₁-C₂, C₁-C₅, C₁-C₉, C₂-C₉ o C₃-C₁₃. Si, por ejemplo, se usa la frase C₁-C₃, significa que la correspondiente cadena de hidrocarburos puede comprender entre 1 y 3 átomos de carbono, en especial, 1, 2 o 3 átomos de carbono. Si, por ejemplo, se usa el término C₁-C₆, significa que la correspondiente cadena de hidrocarburos puede comprender entre 1 y 6 átomos de

carbono, en especial 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono. Si, por ejemplo, se usa el término C₂-C₁₀, significa que la correspondiente cadena de hidrocarburos puede comprender entre 2 y 10 átomos de carbono, en especial 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono.

5 El término "alquilo" se refiere a un grupo alifático saturado, lineal o ramificado. La frase "alquilo (C₁-C₃)" significa, más específicamente, metilo (también denominado "Me"), etilo (también denominado "Et"), propilo o isopropilo. La frase "alquilo (C₁-C₆)" significa, más específicamente, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, tert-butilo, pentilo o hexilo.

El término "alquilenno" se refiere a un grupo alifático lineal o ramificado, insustituído.

10 El término "cicloalquil" se refiere a un ciclo alifático saturado, sustituido o no sustituido, que corresponde a un grupo mono- o policíclico.

El término "heterocicloalquil" se refiere a un cicloalquilo, como se ha definido con anterioridad, y que comprende al menos un heteroátomo, tales como un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre.

15 El término "arilo" se refiere a hidrocarburos aromáticos mono- o bi-cíclicos que tienen de 6 a 12 átomos de carbono, de un modo opcional, sustituidos. Arilo puede ser un fenilo (también llamado "Ph"), bifenilo o naftilo. En una realización preferida, el arilo es un fenilo.

20 El término "heteroarilo", tal como se emplea en la presente, corresponde a un grupo aromático mono- o poli-cíclico que comprende entre 5 y 14 átomos y que comprende al menos un heteroátomo, tales como un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los ejemplos de tales grupos heteroarilo mono- y poli-cíclicos pueden ser: piridilo, dihidropiridilo, tiazolilo, tiofenilo, furanilo, azocinilo, piranilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzimidazolilo, pirrolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, triazinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, thianthrenilo, isobenzofuranilo, chromenilo, xanthenilo, fenoxanthinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, indolizínilo, isoindolilo, 3H-indolilo, 1-Hindazolilo, purinilo, 4H-quinolizínilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinnolinilo, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo, β-carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, fenoxazinilo, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolínilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, indolinilo, isoindolinilo, oxazolidinilo, benzotriazolilo, benzisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, benzothienilo, benzotiazolilo, isatinilo, dihidropiridilo, pirimidinilo, pirazinilo, s-triazinilo, oxazolilo, tiofuranilo. En una realización preferida, el heteroarilo es un grupo monocíclico aromático que comprende 5 o 6 átomos y que comprende al menos un heteroátomo, tales como un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre. Con preferencia, el heteroarilo es piridilo, tiazolilo, furanilo, piranilo, pirrolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, pirrolinilo, triazinilo, pirazinilo, piridazinilo, triazolilo o tetrazolilo. Con mayor preferencia, el heteroarilo es imidazolilo.

30 El término "alcoxi" o "alquiloxi" y "cicloalquiloxi" corresponde a los grupos alquilo o cicloalquilo definidos en la presente con anterioridad, unidos a la molécula mediante un enlace un —O— (éter). Alcoxi (C₁-C₆) incluye metoxi, etoxi, propiloxi, isopropiloxi, butiloxi, isobutiloxi, tert-butiloxi, pentiloxi y hexiloxi.

35 El término "halógeno" corresponde a un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo, con preferencia, a un cloro o un flúor.

La expresión "sustituido por al menos" o "sustituido por" significa que el radical está sustituido por uno o por varios grupos de la lista.

40 Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de ácidos inorgánicos, así como también, las sales de ácidos orgánicos. Los ejemplos representativos de los ácidos inorgánicos incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, fosfórico y similares. Los ejemplos representativos de los ácidos orgánicos adecuados incluyen los ácidos fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, maleico, metansulfónico y similares. Oros ejemplos de sales de adición de ácidos orgánicos e inorgánicos incluyen las sales farmacéuticamente aceptables que se mencionan en J. Pharm. Sci. 1977, 66, 2, y en Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use, editado por P. Heinrich Stahl y Camille G. Wermuth 2002. En una realización preferida, la sal se selecciona del grupo que consiste en maleato, clorhidrato, bromhidrato y metansulfonato.

45 En una realización particular, la presente invención se refiere a compuestos de la fórmula (I) en la que R₂ representa un átomo de hidrógeno, formando así una función de ácido carboxílico (—COOH) en la posición 2 del núcleo de cefalosporina.

50 En una realización particular, R₃ representa un hidrógeno o una cadena de (C₁-C₆)alquilo, con preferencia, un grupo metilo, correspondiente así a un sustituyente estérico de bajo impedimento en la posición 3 del núcleo de cefalosporina, tales como una cadena de alquilenno (C₂-C₈), por ejemplo, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno u octileno. La cadena (C₂-C₈) puede estar sustituido, de un modo opcional, por al menos un grupo alquilo (C₁-C₃), un grupo hidroxilo, una cetona, un grupo de ácido carboxílico eventualmente sustituido por un grupo alquilo (C₁-C₃), una unidad —NR₅R₆ en la que R₅ y R₆ representan H o un grupo alquilo (C₁-C₃), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro.

En una realización particular, R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
- una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₆), arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-arilo, alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo, opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆ en la que R₅ y R₆ son tales como se los ha definido con anterioridad, un átomo de halógeno o un grupo ciano.

Típicamente, R₁ representa una unidad —CO-R₄, y R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₆) o un alquilo (C₁-C₆)-arilo sustituido por un grupo amino, permitiendo formar un aminoácido conocido para el experto en la técnica. Según una realización preferida de la invención, R₁ representa un aminoácido seleccionado entre alanina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, serina, treonina, tirosina o valina, con preferencia, tirosina o uno de sus derivados, según se define a continuación.

El aminoácido y sus derivados que representan el sustituyente R₁ en la fórmula (I) de la invención pueden ser de origen natural o pueden ser sintetizados sin dificultades por el experto en la técnica, usando las técnicas convencionales.

Con preferencia, R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
- una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa:
 - un metilarilo, con preferencia un metilfenilo, un metilfenol o un metiltiofeno, eventualmente sustituido por un grupo amino, metilo o un hidroxilo,
 - un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alaninilo, glicinilo, histidinilo, isoleucinilo, leucinilo, fenilalaninilo, serinilo, treoninilo, tirosinilo, valina, con preferencia, tirosinilo o uno de sus derivados, como se define a continuación,
 - un arilo, con preferencia, un fenilo o un imidazolilo, eventualmente sustituido por al menos un grupo metilo o un grupo ciano o
 - un propilo, sustituido eventualmente por un grupo de ácido carboxílico.

El aminoácido puede tener una conformación L o D. Los derivados de tirosinilo se seleccionan entre α-metil-tirosinilo, dopa, m-tirosinilo, 3-halogenotirosinilo (por ejemplo, yodo, bromo, flúor o cloro), 3,5-dihalogenotirosinilo (por ejemplo, diyodo, dibromo, diflúor o dicloro o cualquier combinación de yodo, bromo, flúor o cloro), N-hidroxitirosinilo, N,N-dihidroxitirosinilo, 6-hidroxi-dopa, 6-halogenodopa y 3-amino-3-(4-hidroxifenil)propanilo.

En un aspecto particular, R₁ puede ser seleccionado del grupo que consiste en amino, tirosinilo, —CO—(CH₂)₃—COOH, —CO-fenil-CN, —CO-dimetilimidazolilo, —CO-metilfenilo, —CO—hidroximetilfenilo, —CO-dimetilfenilo, y —CO metiltiofeno.

Con mayor preferencia, R₁ es hidrógeno o tirosinilo, en particular L-tirosinilo o D-tirosinilo, todavía con mayor preferencia, D-tirosinilo.

Ventajosamente, R₁, R₂, R₃ y R₄ se definen así:

- R₁ representa:
 - un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa:
 - un metilarilo, con preferencia un metilfenilo, un metilfenol o un metiltiofeno, eventualmente sustituido por un grupo amino, metilo o un hidroxilo,
 - un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alaninilo, glicinilo, histidinilo, isoleucinilo, leucinilo, fenilalaninilo, serinilo, treoninilo, tirosinilo, valina, con preferencia, tirosinilo o uno de sus derivados, como se ha descrito anteriormente,
 - un arilo, con preferencia un fenilo o un imidazol, eventualmente sustituido por al menos un grupo metilo o un grupo ciano o
 - un propilo, sustituido eventualmente por un grupo de ácido carboxílico;

- R₂ representa un átomo de hidrógeno y
- R₃ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆), con preferencia, un metilo.

5 El aminoácido puede tener una conformación L o D. El sustituyente aminoácido está unido al núcleo de cefalosporina mediante su parte de carboxilo. Los derivados de tirosinilo se seleccionan entre α -metil-tirosinilo, dopa, m-tirosinilo, 3-halogenotirosinilo (por ejemplo, yodo, bromo, fluoro o cloro), 3,5-dihalogenotirosinilo (por ejemplo, diyodo, dibromo, difluoro o dicloro o cualquier combinación de yodo, bromo, flúor o cloro), N-hidroxiltirosinilo, N,N-dihidroxitirosinilo, 6-hidroxidopa, 6-halogenodopa y 3-amino-3-(4-hidroxifenil)propanilo.

10 En un aspecto particular, R₁ puede seleccionarse del grupo que consiste en amino, tirosinilo, —CO—(CH₂)₃—COOH, —CO-fenil-CN, —CO-dimetilimidazolilo, —CO-metilfenilo, —CO— hidroximetilfenilo, —CO-dimetilfenilo, y —CO-metiltiofeno.

Con mayor preferencia, R₁ es hidrógeno o tirosinilo, en particular L-tirosinilo o D-tirosinilo, con mayor preferencia todavía, D-tirosinilo.

Entre los compuestos para tratar el cáncer según la presente invención, puede citarse la siguiente lista de compuestos:

- 15
- ácido 7-(2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamido)-8-oxo-3-(prop-1-enil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico;
 - ácido 7-amino-8-oxo-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico y
 - ácido 8-oxo-7-(2-fenilacetamido)-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

Con preferencia, los compuestos se seleccionan del grupo que consiste en lo siguiente:

- 20
- ácido 7-(2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamido)-8-oxo-3-(prop-1-enil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico y
 - ácido 7-amino-8-oxo-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

25 La actividad antagonista del CXCR4 de los compuestos puede evaluarse mediante cualquier método disponible y conocido para el experto en la técnica (Zhou, Y. y colaboradores: J. Biol. Chem., 2002, 227, 49481-87). En un aspecto particular, la actividad antagonista puede ser evaluada según se describe en detalle en el ejemplo 1. Con preferencia, se considera que un compuesto tiene una actividad antagonista del CXCR4 significativa cuando se observa un porcentaje de inhibición de al menos 20 %, con preferencia, de al menos 25 %, en especial, cuando se usa el método que se describe en el ejemplo 1.

La presente invención también se refiere a lo siguiente:

- 30
- una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas, y un vehículo farmacéuticamente aceptable para tratar el cáncer o para utilizar en el tratamiento contra el cáncer y/o
 - un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas formuladas en una composición farmacéutica de liberación extendida, de liberación controlada o de liberación sostenida, para tratar el cáncer o para utilizar en el tratamiento contra el cáncer y/o
 - una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas, y un fármaco antitumoral adicional, para el tratamiento contra el cáncer o para usar en el tratamiento contra el cáncer y/o
 - un compuesto de la fórmula (I) o una composición farmacéutica según se ha definido con anterioridad que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas, para tratar el cáncer o para usar en el tratamiento contra el cáncer en combinación con radioterapia, hipertermia y/o otras terapias antitumorales, de un modo opcional antes y/o después de una cirugía o en simultáneo con el desarrollo de esta (por ejemplo, la resección de un tumor) y/o
 - un *kit* que comprende (a) un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas; y (b) un fármaco antitumoral adicional como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial, para tratar el cáncer o para usar en el tratamiento contra el cáncer y/o
 - el uso de una composición farmacéutica, según se ha definido con anterioridad, o de un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, que incluye una cualquiera de las realizaciones descritas, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento contra el cáncer y/o
 - un método para tratar el cáncer, en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, o una composición farmacéutica según se ha definido con anterioridad; de un modo opcional, el método comprende, asimismo, radioterapia, hipertermia y/o
- 50

otras terapias antitumorales, de un modo opcional, cirugía (por ejemplo, la resección de un tumor).

El término “cáncer”, tal como se emplea en la presente, se refiere a la presencia de células que poseen características típicas de las células causantes del cáncer, tales como proliferación descontrolada, inmortalidad, potencial metastásico, rápido crecimiento y velocidad de proliferación y ciertas características morfológicas típicas. El cáncer puede tratarse de tumores sólidos o de tumores hematopoyéticos. Los ejemplos de cáncer incluyen, por ejemplo, leucemia, linfoma, blastoma, carcinoma, melanoma y sarcoma. Con preferencia, el cáncer es un tumor sólido, por ejemplo, blastoma, carcinoma, melanoma y sarcoma. Más en particular, los ejemplos tales tipos de cáncer incluyen la leucemia mieloide crónica, leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfoblástica aguda con cromosoma de Filadelfia positivo (Ph+ ALL, *Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia*), carcinoma de células escamosas, cáncer de pulmón, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, glioma, cáncer gastrointestinal, cáncer renal, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, neuroblastoma, osteosarcoma, cáncer de páncreas, glioblastoma multiforme, cáncer cervical, cáncer de estómago, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer esofágico, carcinoma de colon y cáncer de cabeza y cuello, cáncer gástrico, tumor de células germinales, sarcoma pediátrico, linfoma de linfocitos T citolíticos naturales de senos paranasales, mieloma múltiple, melanoma uveal, leucemia mielógena aguda (AML, *acute myelogenous leukemia*), leucemia linfocítica crónica, mastocitosis y cualquier síntoma asociado con la mastocitosis. Con preferencia, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en cáncer de mama, cáncer de pulmón, melanoma y cáncer con mutación de KRAS y/o con mutación de EGFR. Con mayor preferencia, el cáncer es un cáncer de mama con mutación de KRAS y/o con mutación de EGFR, cáncer de pulmón y melanoma. En un aspecto muy particular, el cáncer de mama es, con preferencia, un cáncer de mama triple negativo (ER-, PR-, Her2-). En otro aspecto muy particular, el cáncer de pulmón es, con preferencia, un cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, *non-small cell lung cancer*), con preferencia un cáncer NSCLC con mutación de KRAS y/o un con mutación de EGFR. En otro aspecto adicional muy particular, el melanoma es un melanoma uveal, con preferencia con uno con mutación del GNA11 o GNAQ. De un modo alternativo, el melanoma es un melanoma con mutación del GNA11 o GNAQ.

Tal como se emplea en la presente, el término “tratamiento”, “tratar” o “tratando” se refiere a cualquier acto destinado a mejorar el estado de salud de los pacientes, tales como la terapia, la prevención, la profilaxis y el atraso de la enfermedad. En ciertas realizaciones, dicho término se refiere a mejorar o erradicar una enfermedad o los síntomas asociados con una enfermedad. En otras realizaciones, este término se refiere a minimizar la diseminación o el empeoramiento de la enfermedad resultante de la administración de uno o más agentes terapéuticos a un sujeto que padece tal enfermedad. Más en particular, el tratamiento puede reducir el desarrollo de tumores, reducir la carga tumoral, producir la regresión del tumor en un huésped mamífero y/o prevenir la aparición de metástasis y la recidiva del cáncer.

Por “cantidad eficaz” debe entenderse la cantidad de composición farmacéutica de la invención que evita, elimina o reduce los efectos nocivos de la enfermedad tratada en los seres humanos. Se entiende que la dosis administrada puede ser adaptada por el experto en la técnica, según el paciente, la patología, el modo de administración, etc. Por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden usar a una dosis de 0,01 a 500 mg/kg de peso corporal/día. En una realización particular, la composición farmacéutica según la invención comprende 0,01 a 500 mg/kg del compuesto de la invención, con preferencia entre 0,1 y 500 mg/kg/día, con mayor preferencia, entre 10 y 400 mg/kg/día. En un aspecto particular, los compuestos de la invención pueden administrarse por la vía oral, a una dosis diaria de entre 0,1 y 500 mg/kg, con preferencia, de entre 10 y 400 mg/kg. Pueden administrarse 4, 5, 6 o 7 días por semana, durante 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7 semanas. De un modo opcional, es posible realizar varios ciclos de tratamiento, de un modo opcional con un período de descanso entre los dos ciclos de tratamiento, por ejemplo, de 1, 2, 3, 4 o 5 semanas.

La vía de administración puede ser tópica, transdérmica, oral, rectal, sublingual, intranasal, intratecal, intratumoral o parenteral (lo cual incluye la vía subcutánea, intramuscular, intravenosa y/o intradérmica). Con preferencia, la vía de administración es la vía parenteral, oral o tópica. La composición farmacéutica está adaptada para una o varias de las vías antes citadas. La composición farmacéutica, el *kit*, el producto o la preparación combinada, con preferencia, se administra por inyección o por infusión intravenosa o soluciones estériles adecuadas o en forma de dosis líquidas o sólidas mediante el canal alimentario.

La composición farmacéutica se puede formular como soluciones en disolventes farmacéuticamente compatibles o como emulsiones, suspensiones o dispersiones en disolventes farmacéuticos o vehículos aceptables o como píldoras, comprimidos o cápsulas que contienen vehículos sólidos de un modo conocido en la técnica. Las formulaciones de la presente invención adecuadas para la administración oral pueden estar en forma de unidades separadas, como cápsulas, *sachets*, comprimidos o pastillas para chupar, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada del principio activo; en forma de un polvo o de gránulos; en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o líquido no acuoso; o en forma de una emulsión de aceite en agua o de una emulsión de agua en aceite.

Las formulaciones para la administración rectal pueden estar en forma de un supositorio que incorpore el principio activo y el vehículo, tales como manteca de cacao o en forma de enema. Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral comprenden, convenientemente, una preparación estéril oleosa o acuosa del principio

activo, que, con preferencia, es isotónica con la sangre del receptor. Cada formulación de esta naturaleza también puede contener otros agentes auxiliares farmacéuticamente compatibles y no tóxicos, tales como, por ejemplo estabilizadores, antioxidantes, aglutinantes, colorantes, emulsionantes o sustancias saborizantes. Las formulaciones de la presente invención comprenden un principio activo en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable y por lo tanto, de un modo opcional, otros ingredientes terapéuticos. El vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de que debe ser compatible con los otros ingredientes de las formulaciones e inocuos para quien lo recibe. Las composiciones farmacéuticas se aplican, ventajosamente, por inyección o infusión intravenosa de soluciones estériles adecuadas o como una dosis oral, por el tracto digestivo. Los métodos para la administración segura y eficaz de la mayoría de estos agentes quimioterapéuticos son conocidos para los expertos. Además, su administración se describe en la bibliografía estándar.

En un aspecto particular de la invención, los compuestos de la invención se formulan en una composición farmacéutica de liberación extendida, de liberación controlada o de liberación sostenida. Por liberación extendida, controlada o sostenida debe entenderse una liberación que es más lenta y constante en el torrente sanguíneo que la liberación inmediata.

En este aspecto, la composición farmacéutica comprende al menos un compuesto de la invención y cualquier excipiente adecuado para la liberación extendida, controlada o sostenida. El experto podría adaptar fácilmente la naturaleza y la cantidad de tales excipientes en la composición farmacéutica de liberación extendida, controlada o sostenida según la farmacocinética deseada.

Los excipientes típicos para la liberación extendida, controlada o sostenida son los carbómeros. La solicitud internacional con el número WO 2005/030178 se incorpora en la presente por referencia. Los carbómeros son polímeros de ácidos acrílicos, entrecruzados con éteres de polialqueno que los hacen solubles en agua y se ha descubierto que son compatibles con los compuestos de la invención. Se pueden usar como un único carbómero o como una mezcla de varios grados de carbómeros, para modificar la liberación del compuesto de la invención. A modo de ejemplo, pueden citarse los polímeros comerciales Carbopol®, tales como Carbopol 971P y Carbopol 974P.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de liberación extendida, controlada o sostenida comprende un compuesto de la invención y uno o más carbómeros. En particular, los carbómeros o polímeros están en una proporción de 0,1 a 50 %, con preferencia, de 0,1 a 40 %, en peso con respecto al peso total de la composición.

La composición farmacéutica de liberación extendida, controlada o sostenida puede comprender, asimismo, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables tales como diluyentes y lubricantes. Los diluyentes incluyen los que son hidrosolubles y los que son dispersables en agua. Los ejemplos de diluyentes hidrosolubles comprenden, sin limitación, lactosa, manitol, glucosa, sorbitol, maltosa, dextratos, dextrinas y similares. En particular, el diluyente hidrosoluble está en una proporción de 5 a 20 % en peso, con relación al peso total de la composición. Los ejemplos de diluyentes dispersables en agua comprenden, sin limitación, celulosa microcristalina, almidón, almidón pregelatinizado, silicatos de magnesio y aluminio y similares. En particular, el diluyente dispersable en agua está en una proporción de 5 a 20 % en peso con relación al peso total de la composición. Los lubricantes incluyen, sin limitación, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal, estearato de calcio, estearato de zinc, aceite vegetal hidrogenado y similares. En particular, el lubricante está en una proporción de 0,2 a 5 % en peso con relación al peso total de la composición.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de liberación extendida, controlada o sostenida comprende un compuesto de la fórmula (I) según se ha definido con anterioridad, una mezcla de carbómeros, lactosa y esterato de magnesio.

Con mayor preferencia, el compuesto de la fórmula (I), según se ha definido con anterioridad, está presente en una cantidad de al menos 100 mg, con preferencia de al menos 500 mg por forma de dosificación, con mayor preferencia, se ubica en el intervalo de 600 mg a 2000 mg por forma de dosificación.

Los ejemplos de composiciones farmacéuticas de liberación extendida, controlada o sostenida según la invención se describen en los ejemplos 1 a 4 de la solicitud internacional WO 2005/030178.

Además, los compuestos de la invención se pueden usar en combinación con al menos un fármaco antitumoral adicional. El fármaco antitumoral adicional puede seleccionarse de la lista no exhaustiva de agentes antitumorales que consisten en un inhibidor de las topoisomerasas I o II, un agente anti-mitótico, un agente alquilante de ADN, un agente causante del entrecruzamiento del ADN, un agente antimetabólico, un agente diana tales como un inhibidor de la quinasa y un agente anti-EGFR y/o un anticuerpo terapéutico diseñado para mediar la citotoxicidad contra los oncocitos o para modular una de sus funciones biológicas fundamentales.

Los agentes antimitóticos incluyen, aunque en forma no taxativa, Paclitaxel, Docetaxel y análogos, tales como Larotaxel (también denominado XRP9881; Sanofi-Aventis), XRP6258 (Sanofi-Aventis), BMS-184476 (Bristol-Meyer-Squibb), BMS-188797 (Bristol-Meyer-Squibb), BMS-275183 (Bristol-Meyer-Squibb) otataxel (también denominado IDN 5109, BAY 59-8862 o SB-T-101131; Bristol-Meyer-Squibb), RPR 109881A (Bristol-Meyer-Squibb), RPR 116258

(Bristol-Meyer-Squibb), NBT-287 (TAPESTRY), PG-Paclitaxel (también denominado CT-2103, PPX, Paclitaxel Poliglumex, Paclitaxel Polyglutamate o Xyotax™), ABRAXANE® (también denominado Nab-Paclitaxel; ABRAXIS BIOSCIENCE), Tesetaxel (también denominado DJ-927), IDN 5390 (INDENA), Taxoprexin (también denominado ácido docosahexanoico; PROTARGA), DHA-Paclitaxel (también denominado Taxoprexin®), y MAC-321 (WYETH).
5 Con preferencia, los agentes antimetabólicos son Docetaxel, Paclitaxel y, con mayor preferencia, Docetaxel.

Los inhibidores de las topoisomerasas I y/o II incluyen, aunque en forma no taxativa, etopósido, topotecán, camptotecina, irinotecán, amsacrina, intoplicina, antraciclina, tales como Doxorubicina, Epirubicina, Daunorubicina, Idarubicina y Mitoxantrona. Los inhibidores de las topoisomerasas I y II incluyen, aunque en forma no taxativa, Intoplicina.

10 El agente antitumoral adicional pueden ser agentes alquilantes que incluyen, sin limitación, mostazas de nitrógeno, derivados de etilenimina, sulfonatos de alquilo, nitrosoureas, sales de metales y triazenos. Sus ejemplos no exhaustivos incluyen mostaza de uracilo, Clormetina, Ciclofosfamida (CYTOXAN®), Ifosfamida, Melfalán, Clorambucilo, Pipobroman, Trietilenmelamina, Trietilentiofosforamina, Busulfán, Carmustina, Lomustina, Cisplatino, Carboplatino, Fotemustina, Oxaliplatino, Tiotepa, Estreptozocina, Dacarbazina y Temozolomide. En una realización
15 preferida, el agente alquilante de ADN es, con preferencia, Cisplatino, Fotemustina o Dacarbazina.

Los agentes antimetabólicos bloquean las enzimas responsables de la síntesis de ácido nucleico o se incorporan en el ADN, lo cual produce un código genético incorrecto y conduce a la apoptosis. Sus ejemplos no exhaustivos incluyen, sin limitación, antagonistas del ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina e inhibidores de adenosina desaminasa y, más en particular, Metotrexato, Floxuridina, Citarabina, 6-Mercaptopurina, 6-Tioguanina,
20 fosfato de Fludarabina, Pentostatina, 5-Fluorouracilo, Gemcitabina y Capecitabina.

El agente antitumoral adicional también puede ser un agente diana, en particular, un inhibidor de la quinasa. La quinasa puede seleccionarse del grupo que consiste en quinasas intracelulares de tirosina o serina/treonina, quinasa de los receptores de tirosina o serina/treonina. Por ejemplo, los agentes pueden tener la capacidad de inhibir la angiogénesis basándose en las actividades inhibitorias sobre las quinasas de VEGFR y PDGFR. En particular, el
25 agente diana puede seleccionarse entre múltiples fármacos de inhibidores de la quinasa, que ya se han aprobado: Gleevec, que inhibe Abl, y Iressa y Tarceva, que inhiben EGFR, Sorafenib (Nexavar, BAY 43-9006) que inhibe Raf, Dasatinib (BMS-354825) y Nilotinib (AMN-107, Tasigna) que inhibe también Abl, Lapatinib que inhibe también EGFR, Temozolomide (Toral, CCI-779) que se dirige a la vía mTOR, Sunitinib (Stuten, SU11248) que inhibe varias dianas, incluso VEGFR, así como también, anticuerpos específicos que inactivan los receptores de la quinasa:
30 Herceptina y Avastina. El agente anti-EGFR puede seleccionarse entre Erlotinib, Cetuximab, Gefitinib, Zolatumumab, Panitumumab, Nimotuzumab, Matuzumab, Lapatinib, con preferencia, es Erlotinib o Cetuximab.

En una realización preferida, el fármaco antitumoral adicional se selecciona entre Cisplatino, Dacarbazina, Fotemustina, Docetaxel y Cetuximab.

35 El término "terapia", tal como se emplea en la presente, se refiere a cualquier tipo de tratamiento contra el cáncer (es decir, una terapia antitumoral), lo cual incluye una terapia adyuvante y una terapia neoadyuvante. La terapia comprende radioterapia y terapias, con preferencia terapias sistémicas, tales como hormonoterapia, quimioterapia, inmunoterapia y terapia con anticuerpos monoclonales.

La frase "terapia adyuvante", tal como se emplea en la presente, se refiere a cualquier tipo de tratamiento contra el cáncer que se administra como tratamiento adicional, por lo general, después de la resección quirúrgica del tumor
40 primario, en un paciente afectado con un cáncer que está en riesgo de hacer metástasis y/o con posibilidades de recurrir. El objetivo de dicho tratamiento adyuvante es el de mejorar el pronóstico. Las terapias adyuvantes comprenden radioterapia y terapia, con preferencia, terapia sistémica, tales como hormonoterapia, quimioterapia, inmunoterapia y terapia con anticuerpos monoclonales.

45 El término "hormonoterapia" o la frase "terapia hormonal" se refiere a un tratamiento contra el cáncer cuya finalidad es la de bloquear, añadir o eliminar hormonas. Por ejemplo, en el cáncer de mama, las hormonas femeninas estrógeno y progesterona pueden promover el crecimiento de ciertos oncocitos mamarios. Por lo tanto, en estas pacientes, la hormonoterapia se administra para bloquear el estrógeno y una lista no exhaustiva de los fármacos usados habitualmente incluyen: Tamoxifeno, Toremifeno, Anastrozol, Exemestano, Letrozol, Goserelina/Leuprolida, acetato de Megestrol y Fluoximesterona.

50 Tal como se emplea en la presente, la frase "tratamiento quimioterapéutico" o "quimioterapia" se refiere a un tratamiento terapéutico contra el cáncer usando sustancias químicas o biológicas, en particular, usando uno o varios agentes antineoplásicos.

La frase "tratamiento radioterapéutico" o el término "radioterapia" se usa comúnmente en la técnica para referirse a
55 múltiples tipos de terapia con radiación, incluidas las terapias con radiación internas y externas o radioinmunoterapia, y el uso de diversos tipos de radiaciones, con rayos X, rayos gamma, partículas alfa, partículas beta, fotones, electrones, neutrones, radioisótopos y otras formas de radiaciones ionizantes.

La expresión "anticuerpo terapéutico" se refiere a cualquier anticuerpo que tiene un efecto antitumoral. Con

- preferencia, el anticuerpo terapéutico es un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos terapéuticos por lo general son específicos para los antígenos de la superficie, por ejemplo, los antígenos de la membrana. Los anticuerpos terapéuticos que más se prefieren son los específicos para los antígenos tumorales (por ejemplo, moléculas específicamente expresadas por las células tumorales), tales como CD20, CD52, ErbB2 (or HER2/Neu), CD33, CD22, CD25, MUC-1, CEA, KDR, $\alpha V\beta 3$ y similares. Los anticuerpos terapéuticos incluyen, aunque en forma no taxativa, anticuerpos tales como Trastuzumab (anticuerpo anti-HER2), Rituximab (anticuerpo anti-CD20), Alemtuzumab, Gemtuzamab, Cetuximab, Pertuzumab, Epratuzumab, Basiliximab, Daclizumab, Labetuzumab, Sevirumab, Tuvurimab, Palivizumab, Infliximab, Omalizumab, Efalizumab, Natalizumab, Clenoliximab, y Bevacizumab.
- 10 La hipertermia es un tratamiento médico en el que hay una exposición a altas temperaturas para dañar y matar los oncocitos o hacer que estos oncocitos sean más sensibles a los efectos de la radiación y ciertos medicamentos anticancerosos. Hay muchas técnicas, ampliamente conocidas para el experto, mediante las cuales se puede suministrar calor. Algunas de las más comunes implican el uso de ultrasonido focalizado (FUS, *focused ultrasound* o HIFU), sauna con infrarrojo, calor por microondas, calentamiento por inducción, hipertermia magnética, infusión de líquidos tibios o aplicación directa de calor, como por ejemplo, sentarse en una sauna o envolver al paciente en mantas calientes.

Figuras

Figura 1: ensayo de toxicidad del compuesto 1 (Cefprozil). Barras de izquierda a derecha: 1.^a = control = animales no tratados; 2.^a = 100 mg/kg; 3.^a = 200 mg/kg; 4.^a = 300 mg/kg.

- 20 Figura 2: Efecto del tratamiento con el compuesto 1 en el crecimiento del tumor de pulmón SC131.

Figura 3: Efecto del tratamiento con el compuesto 1 en el crecimiento del tumor uveal MP55B.

Figura 4: Efecto del tratamiento con el compuesto 1 en el crecimiento del tumor de pulmón LCF 29.

Figura 5: Efecto del tratamiento con el compuesto 1 en el crecimiento del tumor de mama HBCx-12A.

Otros aspectos y ventajas de la invención se describirán en la siguiente sección experimental.

25 Ejemplos

Ejemplo 1: ensayo *in vitro* de la actividad antagonista del CXCR4

Materiales y métodos

- La actividad antagonista de los compuestos se evaluó con un ensayo *in vitro* con el receptor del CXCR4 humano expresado en las células CHO transfectadas. Se determinó al medir sus efectos sobre la modulación de la impedancia inducida por el agonista, usando el método de detección "Cell-Key" (espectroscopía dieléctrica celular).

- El ensayo se realizó tal como se detalla en Zhou, Y. y colaboradores (J. Biol. Chem., 277, 49481-49487). Para explicarlo en pocas palabras, las células se sembraron en una placa de 96 pocillos, a razón de 5 104 células/pocillo y se dejó en cultivo durante toda la noche, en un medio de cultivo estándar, en condiciones de cultivo convencionales. El medio de crecimiento se intercambió con tampón HBSS + HEPES 20 mM (Invitrogen) con FCS al 10 % y BSA al 0,1%, y se permitió que las células se equilibrasen durante 45 minutos a 28 °C, antes de comenzar con los experimentos. Las placas se colocaron en el sistema y se realizaron las mediciones a una temperatura de 28 °C. El HBSS (basal y controles de simulación), el antagonista de MIP-II de referencia (determinación de IC50) o los compuestos de prueba se preincubaron durante 15 minutos antes de la adición de HBSS (control basal) y del agonista de referencia SDF-1 α a 1 nM (EC80). Las mediciones de impedancia se monitorizaron durante 10 minutos.

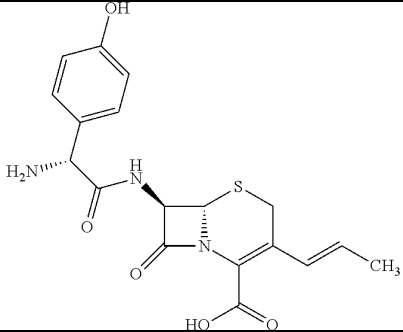
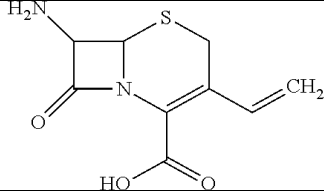
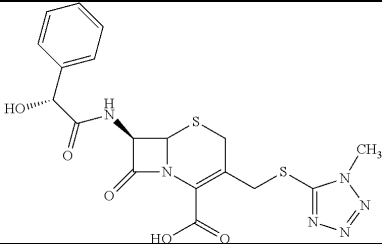
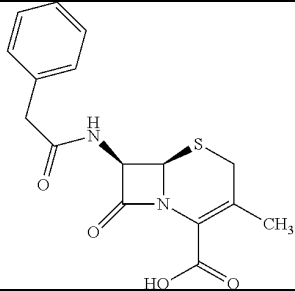
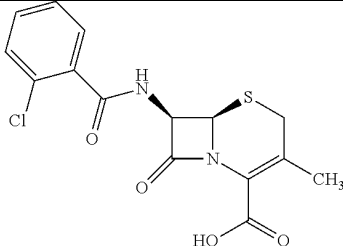
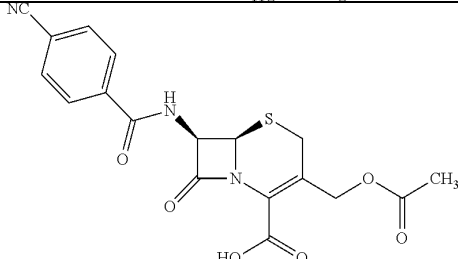
- 40 Los compuestos de la invención 1 y 2 se compraron en AKSci y Vitas-M Laboratory, respectivamente. Los compuestos del documento de patente WO 02/096430 se habían adquirido en Vitas-M Laboratory. El compuesto 3, para las pruebas comparativas, se había comprado a Vitas-M Laboratory.

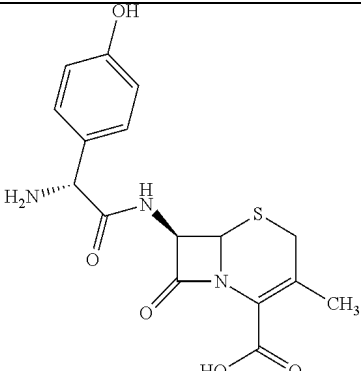
Resultados

El efecto del antagonista de CXCR4 se explica en la siguiente tabla 1.

45

Tabla 1

Compuestos	Estructura	Efecto antagonista del CXCR4 (% de inhibición)
1 (Cefprozil)		38,2
2		25,1
Ejemplo 25 del documento de patente WO 02/096430		16,5
Ejemplo 283 del documento de patente WO 02/096430		15,9
Ejemplo 258 del documento de patente WO 02/096430		3,2
Ejemplo 298 del documento de patente WO 02/096430		18,2

Compuestos	Estructura	Efecto antagonista del CXCR4 (% de inhibición)
3		14,2

Los porcentajes de inhibición del CXCR4 de Cefprozil (1) y del compuesto (2) son del 38,2 % y del 25,1 %, respectivamente, y demuestran un significativo efecto antagonista del CXCR4, puesto que un porcentaje aceptable de inhibición de CXCR4 es mayor que el 20 %.

5 Los compuestos del documento WO 02/096430 (ejemplos 25, 258, 283 y 298) sustituidos en la posición 3 del núcleo de cefalosporina por un grupo metilo, un grupo derivado de azufre o un grupo de acetato de etilo, tienen un porcentaje de inhibición de CXCR4 inferior al 20 %, lo que demuestra un efecto antagonista de CXCR4 no significativo.

10 Los inventores demostraron así la importancia del grupo alquileo en la posición 3 del núcleo de cefalosporina que caracteriza a los compuestos de la fórmula (I) de la invención que tienen un efecto antagonista de CXCR4 significativo.

Esto se confirma por los resultados comparativos entre Cefprozil (1) y su análogo de metilo (3) sustituido en la posición 3 del núcleo de cefalosporina. Por cierto, el efecto antagonista de CXCR4 de Cefprozil (% de inhibición = 38,2) es sensiblemente más importante que el efecto de CXCR4 del análogo de metilo (3) (14,2 %).

15 Ejemplo 2: ensayo *in vivo* de la actividad antitumoral

Materiales, modelos y métodos

Xenoinjertos obtenidos de los pacientes (PDX, *Patient-Derived Xenografts*)

El establecimiento de los modelos tumorales, el procedimiento de trasplante y los ensayos terapéuticos experimentales ya se han publicado (Nemati y colaboradores, *Clin Cancer Res.* 2000 May: 2075-86).

20 Para el presente estudio, se seleccionaron: un xenoinjerto de cáncer de mama (BC, *breast cancer*) triple negativo, que desarrolló metástasis pulmonares espontáneas; dos xenoinjertos de cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), con o sin mutación del gen EFGR y un xenoinjerto de melanoma uveal (*Uveal Melanoma*), con mutación del gen GNA11 (*Guanine Nucleotide Binding Protein*, proteína que se une al nucleótido de guanina (proteína G), Alfa 11). Las características moleculares de estos modelos se presentan en la siguiente tabla:

Tipos de cáncer	Nombres	Características
NSCLC	SC131	Adenocarcinoma con mutación de KRAS
	LCF29	Adenocarcinoma con mutación de EGFR
UM	MP55B	Mutación de GNA11
BC	HBCx-12A	ER-, PR-, Her2-

25

Animal y vivienda

Unas ratonas suizas nu/nu (sin pelo), de 5 semanas de edad, se usaron como receptoras de los xenoinjertos de BC y NSCLC. Unas ratonas SCID, de 5 semanas de edad, se usaron como receptoras de los xenoinjertos de UM. Las ratonas provenían de Charles River Laboratories y fueron alojadas en jaulas grupales, con 5 ratonas en cada una. Se les proveyó alimento esterilizado con peróxido de hidrógeno y botellas desechables con agua *ad libitum*.

30

Metodología y trasplante de tumores

El material tumoral se cortó en trozos de 5 × 5 mm. Cada fragmento de tumor se implantó por vía subcutánea interscapular en las ratonas anestesiadas y se identificaron mediante un número. Estos procedimientos se llevaron a cabo en condiciones asépticas, a cargo de técnicos experimentados que respetan el bienestar animal.

5 Criterios de inclusión y aleatorización

Solo las ratonas portadoras de tumores se asignaron al azar, distribuidas en grupos de 8-10 ratonas asignadas como controles o tratadas. Todos los tratamientos comenzaron el día uno, cuando los tumores alcanzaron un volumen comprendido entre 50 mm³ y 250 mm³. En caso de captación y crecimiento heterogéneo del tumor la inclusión de las ratonas se demoraba, hasta que sus tumores hubieran alcanzado el volumen inicial óptimo.

10 Compuesto sometido a prueba

Un polvo de control de Cefprozil (1) se tomó como muestra en dosis diarias y se mantuvo a 4° C. El Cefprozil se suspendió en glucosa al 5 % y se administró por boca.

Adquisición de datos

15 Los tamaños del tumor se midieron dos veces por semana, usando un calibre. Se registraron dos diámetros perpendiculares (a y b). Luego, se calcularon los volúmenes tumorales individuales de la siguiente manera: $a \times b^2 / 2$ en mm³, donde a es el diámetro mayor y b es el diámetro menor.

20 El volumen relativo del tumor (RTV, *Relative tumor volume*) se calculó como la relación del volumen en el momento t dividido por el volumen inicial el día 1 y se multiplicó por 100. Estos datos permiten evaluar rápidamente la falta de crecimiento cuando el RTV es igual o inferior al 100 % (regresiones tumorales). Se presentan las curvas de la media (o la mediana) del RTV en el grupo tratado y en el control en función del tiempo.

Se midieron los pesos de las ratonas individuales dos veces por semana. Se calcularon las variaciones de peso de las ratonas, en comparación con su peso inicial y las medias (o la mediana) por grupo.

Muestras

25 Las ratonas se sacrificaron cuando el volumen del tumor fue de 2000 mm³. Las muestras se tomaron a razón de 5 ratonas por grupo. Se congelaron un fragmento del tumor y medio pulmón, y el otro fragmento de tumor y el otro medio pulmón se fijaron en formalina para todos los modelos. Se tomaron muestras de sangre adicionales para los modelos de UM.

Resultados

1. Tolerancia dependiente de la dosis

30 Se administró Cefprozil (1) como se indica en la siguiente tabla.

Grupos	Dosis	Esquema de administración	Número de sujeto/grupo
Control	-	-	5
Cefprozil (1)	100 mg/kg	5 días/semana	
Cefprozil (1)	200 mg/kg	por boca	
Cefprozil (1)	300 mg/kg	3 semanas	

El Cefprozil fue bien tolerado a una dosis de 300 mg/kg por día y por administración oral, 5 días por semana (véase la figura 1).

No se observó pérdida de peso ni problemas de comportamiento durante el tratamiento.

35 El resultado permitió diseñar el tratamiento con Cefprozil para otros experimentos *in vivo*: 300 mg/kg por día y mediante administración oral, 5 días por semana, durante 6 semanas.

2. Evaluación del efecto antitumoral *in vivo*

Se obtuvieron los siguientes resultados:

- Modelo NSCLC SC131: figura 2 y la siguiente tabla

Grupos	N ratones por grupo	V al inicio del experimento (mm ³ ± sd)	V al final del experimento (mm ³ ± sd)	% de TGI	CR
Control	9	155 ± 18,35	1656 ± 140,09	Ninguno	Ninguno
Cefprozil	9	166 ± 15,53	1297 ± 203,16	31	Ninguno

Abreviaturas: (TGI): *Tumor Growth Inhibition*, Inhibición del crecimiento tumoral, (CR): *Complete Remission*, remisión completa.

Se observó una inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* del 31 % después de la administración de Cefprozil (1).

- 5
- Modelo de melanoma uveal MP55B: figura 3 y la siguiente tabla

Grupos	N ratones por grupo	V al inicio del experimento (mm ³ ± sd)	V al final del experimento (mm ³ ± sd)	% de TGI	CR
Control	11	151 ± 37,28	1124 ± 195,40	Ninguno	Ninguno
Cefprozil	10	182 ± 35,10	962 ± 190,41	30	Ninguno

Abreviaturas: (TGI): *Tumor Growth Inhibition*, Inhibición del crecimiento tumoral, (CR): *Complete Remission*, remisión completa.

Se observó una inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* del 30 % después de la administración de Cefprozil (1).

- Modelo de NSCLC LCF29: figura 4 y la siguiente tabla

Grupos	N ratones por grupo	V al inicio del experimento (mm ³ ± sd)	V al final del experimento (mm ³ ± sd)	% de TGI	CR
Control	10	72 ± 5,33	698 ± 111,38	Ninguno	Ninguno
Cefprozil	10	90 ± 7,90	574 ± 83,58	29	Ninguno

- 10
- Abreviaturas: (TGI): *Tumor Growth Inhibition*, Inhibición del crecimiento tumoral, (CR): *Complete Remission*, remisión completa.

Se observó una inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* del 29 % después de la administración de Cefprozil (1).

- Modelo de BC HBCx-12A: figura 5 y la siguiente tabla

Grupos	N ratones por grupo	V al inicio del experimento (mm ³ ± sd)	V al final del experimento (mm ³ ± sd)	% de TGI	CR
Control	10	77 ± 9,10	735 ± 166,96	Ninguno	Ninguno
Cefprozil	10	73 ± 8,86	520 ± 66,46	20	Ninguno

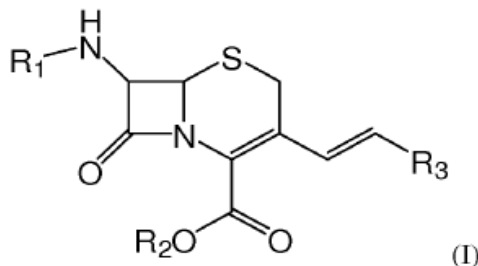
- 15
- Abreviaturas: (TGI): *Tumor Growth Inhibition*, Inhibición del crecimiento tumoral, (CR): *Complete Remission*, remisión completa.

Se observó una inhibición del crecimiento del tumor *in vivo* del 20 % después de la administración de Cefprozil (1).

Para concluir, los inventores demostraron que Cefprozil (1) indujo la inhibición del crecimiento del tumor en los cuatro modelos anteriores, demostrando de esta manera el efecto terapéutico del compuesto de la fórmula (I) para tratar el cáncer, en particular, el cáncer de mama, el cáncer de pulmón y el melanoma uveal.

REIVINDICACIONES

1. un compuesto de la fórmula (I):



en la que:

- 5 ▪ R₁ representa:
- un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄ o una unidad —CO₂-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₁₀), alquileo (C₂-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₁₄), heterocicloalquilo, arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquilo (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquilo, alquilo (C₁-C₆)-cicloalquiloxi (C₃-C₁₄), alquilo (C₁-C₆)-heterocicloalquiloxi, alquilo (C₁-C₆)-arilo, alquilo (C₁-C₆)-ariloxi, alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo o alquilo (C₁-C₆)-heteroariloxi; opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una cetona, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico eventualmente sustituido por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en la que R₅ y R₆ representa un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;
- 10
- 15 ▪ R₂ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆), con preferencia, un átomo de hidrógeno y
- 20 ▪ R₃ representa un átomo de hidrógeno, una cadena de alquilo (C₁-C₆) o alquileo (C₂-C₆), en donde dichas cadenas están opcionalmente sustituidas al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, una unidad -O-CO-(C₁-C₆)alquilo, una cetona, un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆, en donde R₅ y R₆ representan H o un grupo alquilo (C₁-C₆), un átomo de halógeno, un grupo ciano o un grupo nitro;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en el tratamiento contra el cáncer.

2. El compuesto para usar según la reivindicación 1, en el que R₃ representa un átomo de hidrógeno o una cadena de alquilo (C₁-C₆), con preferencia, un metilo.

25 3. El compuesto para usar según la reivindicación 1 o 2, en el que R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa un radical alquilo (C₁-C₆), arilo, heteroarilo, alquilo (C₁-C₆)-arilo o alquilo (C₁-C₆)-heteroarilo; opcionalmente, dichos radicales están sustituidos al menos por un grupo alquilo (C₁-C₆), un grupo hidroxilo, un grupo alcoxi (C₁-C₆), un grupo de ácido carboxílico sustituido eventualmente por un grupo alquilo (C₁-C₆), una unidad —NR₅R₆ en la que R₅ y R₆ son tales como se los ha definido con anterioridad, un átomo de halógeno o un grupo ciano.
- 30

4. El compuesto para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R₁ representa:

- un átomo de hidrógeno o
 - una unidad —CO-R₄, en la que R₄ representa:
 - 35 • un metilarilo, con preferencia un metilfenilo, un metilfenol o un metiltiofeno, eventualmente sustituido por un grupo amino, metilo o hidroxilo,
 - un radical aminoácido seleccionado del grupo que consiste en alaninilo, glicinilo, histidinilo, isoleucinilo, leucinilo, fenilalaninilo, serinilo, treoninilo, tirosinilo, valinilo, con preferencia, tirosinilo o uno de sus derivados, seleccionados entre α-metil-tirosinilo, dopa, m-tirosinilo, 3-halogenotirosinilo, 3,5-dihalogenotirosinilo, N-hidroxiltirosinilo, N,N-dihidroxiltirosinilo, 6-hidroxidopa, 6-halogenodopa y 3-amino-3-(4-hidroxifenil)propanilo.
- 40

- un anillo, con preferencia, un fenilo o un imidazolilo, eventualmente sustituido por al menos un grupo metilo o un grupo ciano o
- un propilo, sustituido eventualmente por un grupo de ácido carboxílico.

5 5. El compuesto para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que R¹ representa: un átomo de hidrógeno o una unidad—CO-R₄, en la que R₄ representa tirosinilo.

6. El compuesto para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho compuesto se selecciona del grupo que consiste en lo siguiente:

– ácido 7-(2-amino-2-(4-hidroxifenil)acetamido)-8-oxo-3-(prop-1-enil)-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico y

10 – ácido 7-amino-8-oxo-3-vinil-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-carboxílico.

7. El compuesto para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que tiene una actividad antagonista de CXCR4.

15 8. El compuesto para usar según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, formulado en una composición farmacéutica de liberación extendida, liberación controlada o liberación sostenida, con preferencia, que comprende uno o más carbómeros.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según se define una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y al menos un fármaco antitumoral adicional, para usar en el tratamiento contra el cáncer.

20 10. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 9, en la que el fármaco antitumoral adicional se selecciona del grupo que consiste en un agente antimetabólico, un inhibidor de las topoisomerasas I o II, un agente alquilante de ADN, un agente antimetabólico, un agente diana tal como un inhibidor de la quinasa y un agente anti-EGFR y un anticuerpo terapéutico diseñado para mediar la citotoxicidad contra los oncocitos o para modular una de sus funciones biológicas fundamentales.

11. La composición farmacéutica para usar según la reivindicación 10, en la que el fármaco antitumoral adicional es:

25 a) un agente alquilante de ADN seleccionado del grupo que consiste en Cisplatino, Carboplatino, Fotemustina, Oxaliplatino y Dacarbazina, con preferencia Cisplatino, Fotemustina o Dacarbazina o

b) un agente antimetabólico seleccionado del grupo que consiste en Docetaxel y Paclitaxel, con preferencia, Docetaxel o

c) un agente anti-EGFR seleccionado del grupo que consiste en Erlotinib, Cetuximab, Gefitinib, Zalutumimab, Panitumumab, Nimotuzumab, Matuzumab, y Lapatinib, preferiblemente, Erlotinib o Cetuximab.

30 12. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o la composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, para usar en el tratamiento contra el cáncer, en combinación con radioterapia, hipertermia y/u otras terapias antitumorales seleccionadas entre hormonoterapia, quimioterapia, inmunoterapia y terapia con anticuerpos monoclonales, de un modo opcional antes de la cirugía para extirpar el tumor, después de realizarla y/o en forma simultánea con su desarrollo.

35 13. Un *kit* que comprende (a) un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8; y (b) un fármaco antitumoral adicional, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento contra el cáncer.

40 14. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y 12, la composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 9-12 o el *kit* según la reivindicación 13, para usar en el tratamiento de un tumor sólido.

15. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, 12, y 14, la composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, y 14 o el *kit* según la reivindicación 13 o 14, para usar en el tratamiento de cáncer de mama, del cáncer de pulmón o del melanoma, en particular, del melanoma uveal.

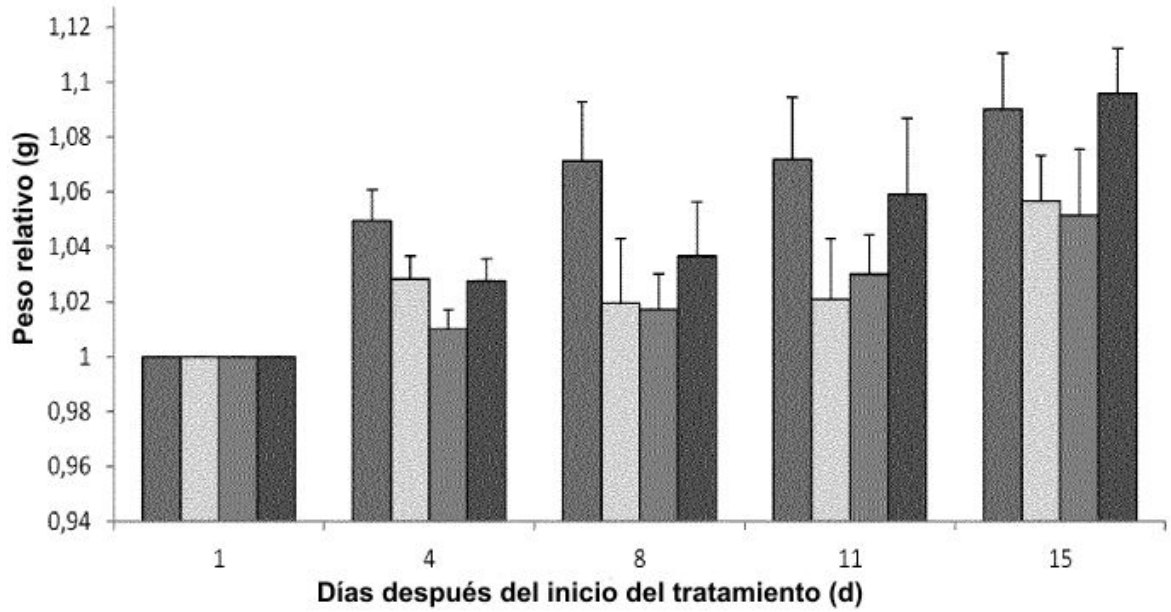


FIGURA 1

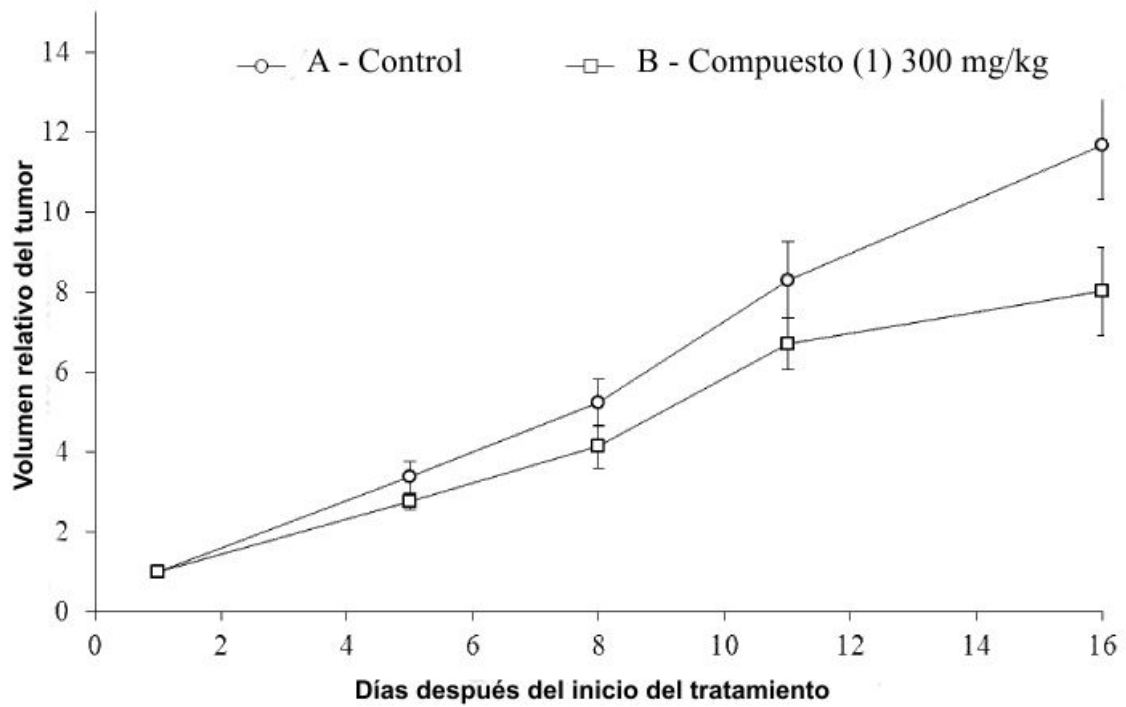


FIGURA 2

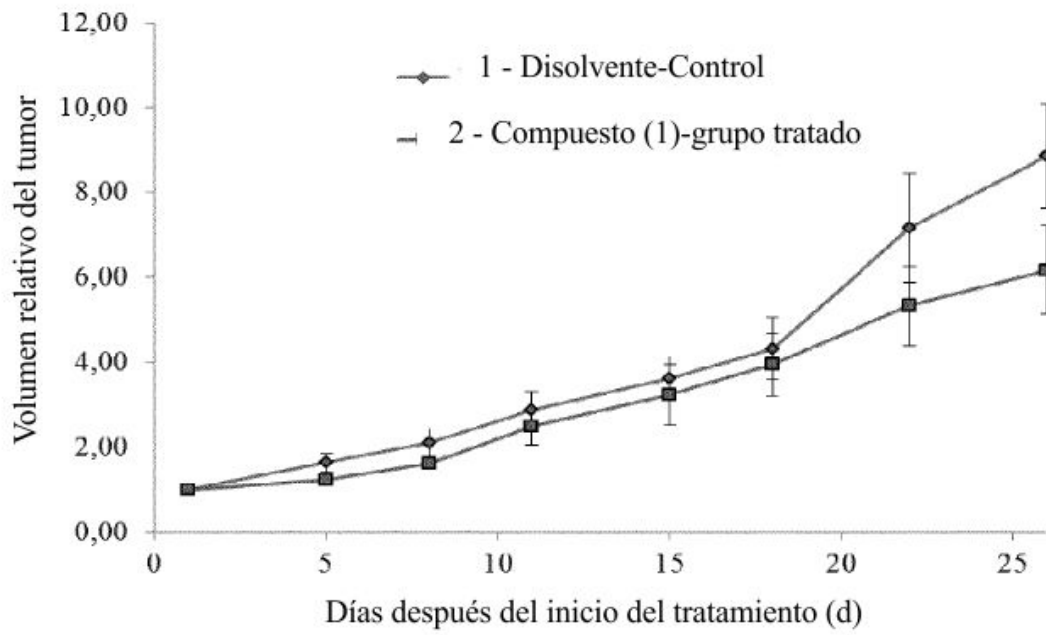


FIGURA 3

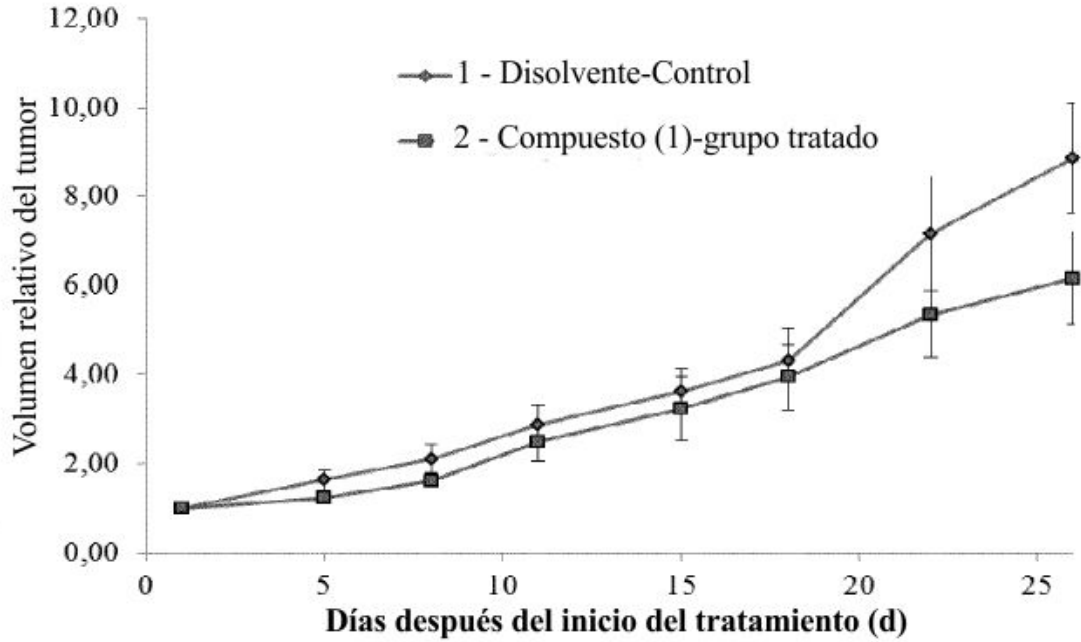


FIGURA 4

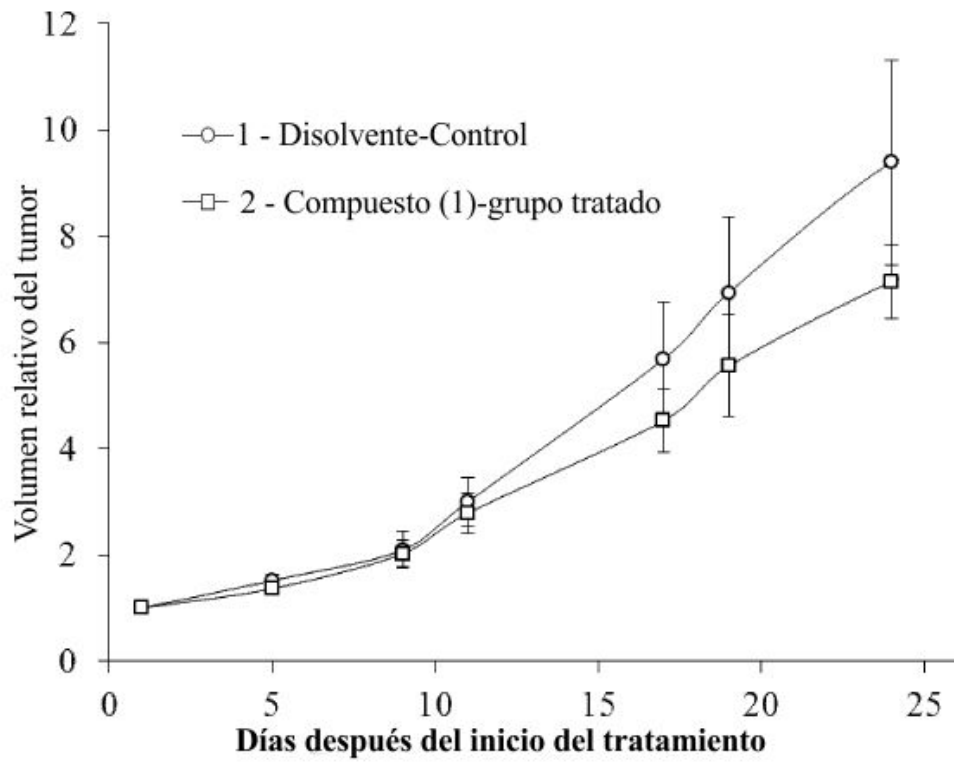


FIGURA 5