

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 740**

51 Int. Cl.:

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/455 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61K 31/285 (2006.01)

A61K 31/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.08.2009 PCT/US2009/053858**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2010 WO10021928**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2009 E 09808635 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2321012**

54 Título: **Compuestos de organoarsénico y procedimientos para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

20.08.2008 US 189511 P

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

12.03.2019

73 Titular/es:

**SOLASIA PHARMA K.K. (100.0%)
4F, Sumitomo Fudosan Shiba-koen Tower, 2-11-1
Shiba-koen, Minato-ku
Tokyo 105-0011, JP**

72 Inventor/es:

**SCHWARTZ, BRIAN, ERIC;
LEWIS, JONATHAN y
KOMARNITSKY, PHILIP, B.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 703 740 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de organoarsénico y procedimientos para el tratamiento del cáncer

Campo de la invención.

5 La presente invención se refiere en general al campo de la terapia contra el cáncer. Más particularmente, proporciona compuestos orgánicos de arsénico para su uso en el tratamiento de cánceres tales como leucemia y tumores sólidos.

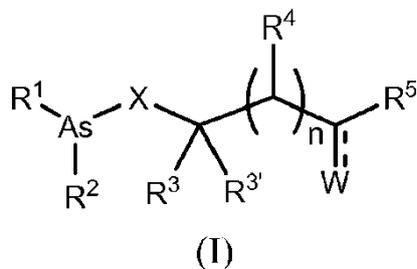
Antecedentes de la invención.

10 A pesar del progreso en la terapia de leucemia, la mayoría de los pacientes adultos con leucemia todavía mueren por la progresión de la enfermedad. El trióxido de arsénico, un compuesto inorgánico, ha sido aprobado para el tratamiento de pacientes con leucemia promielocítica aguda (APL) en recaída o refractaria y se está evaluando como terapia para otros tipos de leucemia. Sin embargo, los datos preliminares de China y la experiencia reciente en los Estados Unidos, sugieren un papel para el trióxido de arsénico en los otros cánceres hematológicos. En consecuencia, la actividad del trióxido de arsénico como agente antileucémico se está investigando actualmente en muchos tipos de leucemia. Aunque los resultados parecen favorables en términos de la tasa de respuesta de algunos de los tipos de leucemia que se están investigando, la toxicidad sistémica del trióxido de arsénico es un problema (Soignet et al., 1999; Wiernik et al., 1999; Geissler et al., 1999; Rousselot et al., 1999).

15 El único arsenical orgánico (OA) fabricado para uso humano, el melarsoprol, se ha evaluado para determinar su actividad antileucémica (documentos WO9924029, EP1002537). Desafortunadamente, este compuesto es excesivamente tóxico para los pacientes con leucemia en las concentraciones utilizadas para el tratamiento de la tripanosomiasis. Por lo tanto, existe la necesidad de identificar derivados de arsénico que puedan usarse para el tratamiento de neoplasias malignas hematológicas y cáncer en general, que tengan una actividad similar o mayor y una menor toxicidad que el trióxido de arsénico.

Sumario de la invención

20 La presente divulgación presenta compuestos arsenicales orgánicos con propiedades anticancerígenas. La invención se refiere a un compuesto específico cubierto por la estructura de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



en la que

X es S o Se;

30 W es O, S o (R)(R) donde cada aparición de R es independientemente H o alquilo C₁₋₂; n es un número entero de 0 a 20;

R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₃₀;

R³ es -H, alquilo C₁₋₁₀, o alquilo C₀₋₆-COOR⁶;

35 R^{3'} es H, amino, ciano, halógeno, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroaralquilo, carboxilo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₁₋₁₀ o alquinilo C₁₋₁₀, preferiblemente H;

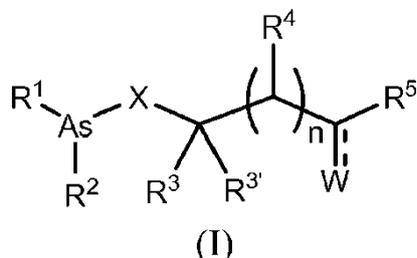
R⁴ es -OH, -H, -CH₃, amino, -OC(O)aralquilo C₁₋₁₀, -OC(O)alquilo C₁₋₁₀, -OC(O)arilo, o un sustituyente de glutamina;

R⁵ es -OH, ciano, alcoxi C₁₋₁₀, amino, O-aralquilo, -OC(O)aralquilo C₁₋₁₀, -OC(O)alquilo C₁₋₁₀, -OC(O)arilo, o un sustituyente de glicina; y

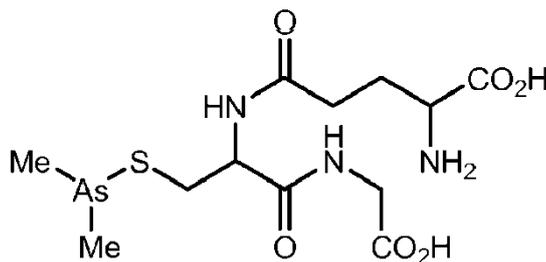
R⁶ es H o alquilo C₁₋₁₀.

Descripción detallada de la invención.

La presente invención proporciona un compuesto específico cubierto por la estructura de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



- 5 en la que
- X es S o Se, preferiblemente S;
 - W es O, S o (R)(R), donde cada aparición de R es independientemente H o un alquilo C₁₋₂, preferiblemente O o (R)(R);
 - 10 n es un número entero de 0 a 20;
 - R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₃₀;
 - R³ es -H, alquilo C₁₋₁₀, o alquilo C₁₋₆-COOR⁶;
 - R^{3'} es H, amino, ciano, halógeno, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroaralquilo, carboxilo, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₁₋₁₀ o alquinilo C₁₋₁₀, preferiblemente H;
 - 15 R⁴ es -OH, -H, -CH₃, amino, -OC(O)aralquilo C₁₋₁₀, -OC(O)alquilo C₁₋₁₀, -OC(O)arilo, o un sustituyente de glutamina;
 - R⁵ es -OH, ciano, alcoxi C₁₋₁₀, amino, O-aralquilo, -OC(O)aralquilo C₁₋₁₀, -OC(O)alquilo C₁₋₁₀, -OC(O)arilo, o un sustituyente de glicina; y
 - R⁶ es H o alquilo C₁₋₁₀, preferiblemente H.
 - 20 En particular, la invención se refiere al compuesto específico de fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de un linfoma seleccionado de entre linfoma de células B grandes, linfoma de zona marginal y esclerosis nodular de Hodgkin en un sujeto tratado previamente por linfoma.

- 25 Si hay un centro quiral presente, todas las formas isoméricas están dentro del alcance de la invención. Con respecto a la estereoquímica, se siguen las reglas de Cahn-Ingold-Prelog para determinar la estereoquímica absoluta. Estas reglas se describen, por ejemplo, en Organic Chemistry, Fox and Whitesell; Jones and Bartlett Publishers, Boston, MA (1994); Section 5-6, pp 177-178.
- 30 La invención también se refiere al uso del compuesto específico de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento mencionado.

La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto puede ser de 0,1 a 1000 mg/kg, 1 a 500 mg/kg o 10 a 100 mg/kg. En realizaciones particulares, el procedimiento puede comprender administrar la composición diariamente. Se contempla además que los procedimientos de tratamiento puedan implicar múltiples administraciones. El procedimiento puede comprender administrar el compuesto diariamente tal como por inyección. También se pueden usar las rutas alternativas y los procedimientos de administración descritos en la especificación y el modo de administración dependerá principalmente del tipo y la ubicación del cáncer. En ciertas realizaciones, el procedimiento comprende además administrar uno o más agentes adicionales al paciente. El agente adicional puede ser ácido todo-trans-retinoico, ácido 9-cis retinoico, Am-80 o ácido ascórbico. El uso de otras terapias complementarias para el cáncer, tales como quimioterapia, radioterapia, terapia génica, terapia hormonal y otras terapias contra el cáncer conocidas en la técnica también se contemplan junto con los procedimientos de la presente invención.

Se contemplan varios procedimientos de administración, que incluyen administración regional, sistémica, directa y perfusión. Tales procedimientos incluyen la administración por inyección, vía oral, intravenosa, intraarterial, intratumoral, administración a la vasculatura tumoral, intraperitoneal, intratraqueal, intramuscular, endoscópica, intralesiones, percutánea, subcutánea, tópica, nasal, bucal, mucosa, anogenital, rectal y similares.

Definiciones

El término "alquilo C_{x-y}" se refiere a grupos hidrocarburo saturados sustituidos o no sustituidos, que incluyen grupos alquilo de cadena lineal y grupos alquilo de cadena ramificada que contienen de x a y carbonos en la cadena, incluyendo grupos haloalquilo tales como trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo, etc. Alquilo C₀ indica un hidrógeno donde el grupo está en una posición terminal, un enlace si es interno. Los términos "alquenilo C_{2-y}" y "alquinilo C_{2-y}" se refieren a grupos alifáticos insaturados sustituidos o no sustituidos de longitud análoga y posible sustitución a los alquilos descritos anteriormente, pero que contienen al menos un enlace doble o triple, respectivamente.

El término "alcoxi C₁₋₆" se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ que tiene un oxígeno unido. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, tert-butoxi y similares. Un "éter" es dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que hace que el alquilo sea un éter es o se parece a un alcoxi.

El término "aralquilo C₁₋₆", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo C₁₋₆ sustituido con un grupo arilo.

El término "arilo", como se usa en el presente documento, incluye grupos aromáticos de un solo anillo, sustituidos o no sustituidos, de 5, 6 y 7 miembros, en los que cada átomo del anillo es carbono. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterocicilos. Los grupos arilo incluyen benceno, naftaleno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para hacer referencia a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico sensato, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica, otro problema o complicación excesivas, en proporción con una relación razonable riesgo/beneficio.

El término "prevenir" está reconocido en la técnica, y cuando se usa en relación con una condición, tal como una recurrencia local (por ejemplo, dolor), una enfermedad como el cáncer, un complejo de síndrome como la insuficiencia cardíaca o cualquier otra condición médica, es bien entendido en la técnica, e incluye la administración de una composición que reduce la frecuencia de, o retrasa la aparición de, los síntomas de una condición médica en un sujeto con relación a un sujeto que no recibe la composición. Por lo tanto, la prevención del cáncer incluye, por ejemplo, reducir el número de crecimientos cancerosos detectables en una población de pacientes que reciben un tratamiento profiláctico en relación con una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de crecimientos cancerosos detectables en una población tratada en comparación con una población de control no tratada, por ejemplo, por una cantidad estadísticamente y/o clínicamente significativa. La prevención de una infección incluye, por ejemplo, reducir el número de diagnósticos de infección en una población tratada en comparación con una población de control no tratada, y/o retrasar la aparición de los síntomas de la infección en una población tratada en comparación con una población de control no tratada. La prevención del dolor incluye, por ejemplo, reducir la magnitud de, o alternativamente retrasar, las sensaciones de dolor experimentadas por los sujetos en una población tratada en comparación con una población control no tratada.

El término "tratamiento profiláctico o terapéutico" está reconocido en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones objeto. Si se administra antes de la manifestación clínica de la condición no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), el tratamiento es entonces profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la condición no deseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la condición no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o estabilizar la condición no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).

El término "sustituido" se refiere a unidades estructurales que tienen sustituyentes que reemplazan un hidrógeno en uno o más carbonos del esqueleto. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que dicha sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, por ejemplo, que no sufre una transformación espontánea tal como por reordenamiento, ciclización, eliminación, etc. Tal como se usa en el presente documento, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y los mismos o diferentes para los compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos aquí que satisfagan las valencias de los heteroátomos. Los sustituyentes pueden incluir, por ejemplo, un halógeno, un hidroxilo, un carbonilo (como un carboxilo, un alcoxycarbonilo, un formilo o un acilo), un tiocarbonilo (como un tioéster, un tioacetato o un tioformiato), un alcoxilo, un fosforilo, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un amino, un amido, una amidina, una imina, un ciano, un nitro, un azido, un sulfhidrilo, un alquiltio, un sulfato, un sulfonato, un sulfamoilo, un sulfonamido, un sulfonilo, un heterociclilo, un aralquilo, o una unidad estructural aromática o heteroaromática. Los expertos en la técnica entenderán que las unidades estructurales en la cadena de hidrocarburo pueden estar sustituidas, si es apropiado.

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto con respecto al procedimiento de tratamiento en cuestión se refiere a una cantidad de los compuestos en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (para un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mejora una condición o retrasa la aparición de afecciones patológicas de acuerdo con los estándares clínicamente aceptables para el trastorno o condición que se va a tratar o el propósito cosmético, por ejemplo, a una relación razonable riesgo/beneficio aplicable a cualquier tratamiento médico.

Como se usa en el presente documento, el término "régimen" es un programa predeterminado de uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un cáncer. En consecuencia, cuando un agente terapéutico se administra "solo", el régimen no incluye el uso de otro agente terapéutico para el tratamiento del cáncer.

En ciertas realizaciones, el compuesto se administra diariamente durante cinco días cada cuatro semanas. En ciertas realizaciones, el compuesto se administra una vez al día durante cinco días cada cuatro semanas, preferiblemente durante cinco días consecutivos. En ciertas realizaciones alternativas, el compuesto se administra dos días a la semana durante tres semanas, seguido de una semana de descanso. En ciertas de tales realizaciones, el compuesto se administra durante dos días consecutivos o dos días no consecutivos (por ejemplo, con uno, dos, tres o incluso cuatro días entre dosis) por semana durante tres semanas, seguido de una semana de descanso. En ciertas realizaciones, estos protocolos pueden repetirse indefinidamente.

En ciertas realizaciones, tal dosificación es por administración intravenosa. En ciertas realizaciones alternativas, tal dosificación es por administración oral. En ciertas de tales realizaciones, el compuesto se administra por vía intravenosa en una dosis de aproximadamente 200-420 mg/m² o aproximadamente 250 a 350 mg/m². En ciertas realizaciones, el compuesto se administra a una dosis de aproximadamente 200, aproximadamente 250, aproximadamente 300, aproximadamente 350, aproximadamente 400 o incluso aproximadamente 420 mg/m². En ciertas realizaciones, el compuesto se administra por vía oral a una dosis diaria total de 300 a aproximadamente 700 mg o aproximadamente 400 a aproximadamente 600 mg. En ciertas realizaciones, el compuesto se administra a una dosis diaria total de 300, aproximadamente 400, aproximadamente 500, aproximadamente 600 o incluso aproximadamente 700 mg.

Tal como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" incluye revertir, reducir o detener los síntomas, signos clínicos y patología subyacente de una condición de manera que mejore o estabilice la condición de un sujeto.

Toxicidad de arsenicales inorgánicos vs. orgánicos

El uso de trióxido de arsénico está limitado por su toxicidad. Por otro lado, la OA es mucho menos tóxica, en la medida en que la metilación del arsénico inorgánico *in vivo* en OA se ha considerado como una reacción de

desintoxicación. El ácido monometilarsínico y el ácido dimetilarsínico OA son los metabolitos primarios del arsénico inorgánico (Hughes et al., 1998). Los arsenicales inorgánicos, incluido el trióxido de arsénico, tienen efectos variados en muchos sistemas orgánicos, como el sistema cardiovascular, el tracto gastrointestinal, los riñones, la piel, el sistema nervioso y la sangre. Los arsenicales inorgánicos son particularmente tóxicos para el hígado, causando infiltración, necrosis central y cirrosis (IARC, 1980; ACGIH, 1991; Beliles et al., 1994; Goyer et al., 1996). Actualmente hay pruebas suficientes de que los compuestos de arsénico inorgánicos son carcinógenos cutáneos y pulmonares en humanos (Goyer et al., 1996).

La toxicidad de un arsenical dado está relacionada con la velocidad de su eliminación del cuerpo y la extensión de la acumulación en los tejidos (Beliles et al., 1994). En general, la toxicidad aumenta en la siguiente secuencia: arsenicales orgánicos $<As^{5+}$ $<As^{3+}$ (incluyendo trióxido de arsénico) $<$ arsina. A diferencia de los arsenicales inorgánicos, no se han reportado muertes o casos graves de toxicidad debido a OA en la literatura. En consecuencia, en los mamíferos, la metilación del arsénico inorgánico se ha considerado un mecanismo de desintoxicación debido a la menor toxicidad de OA metilada y su rápida excreción y baja retención (Beliles et al., 1994; Goyer et al., 1996). Un buen ejemplo es el del ácido dimetilarsínico, un compuesto orgánico, el metabolito urinario predominante excretado por la mayoría de los mamíferos después de la exposición al arsénico inorgánico, incluido el trióxido de arsénico. En estudios de toxicidad *in vivo* en ratones, después de la administración intraperitoneal de trióxido de arsénico, la LD_{50} (una dosis a la que el 50 % de los animales mueren debido a toxicidad aguda) fue de 10 mg/kg, (Investigator's Brochure, 1998), mientras que después de la administración de ácido dimetilarsínico, el LD_{50} fue de 500 mg/kg (MSDS, 1998).

El arsenical orgánico puede usarse para tratar cánceres hematológicos que se han vuelto refractarios a otras formas de tratamiento.

El linfoma es un tipo de cáncer que se produce cuando los linfocitos -los glóbulos blancos sanguíneos que ayudan a proteger al cuerpo de infecciones y enfermedades- comienzan a comportarse de manera anormal. Los linfocitos anormales pueden dividirse más rápido que las células normales o pueden vivir más de lo que se supone. El linfoma puede desarrollarse en muchas partes del cuerpo, incluidos los ganglios linfáticos, el bazo, la médula ósea, la sangre u otros órganos. Hay dos tipos principales de linfomas: el linfoma de Hodgkin y el linfoma no Hodgkin (LNH).

Los linfomas periféricos de células T son tumores compuestos por células T maduras (no células B). Los linfomas periféricos de células T, como el linfoma angioinmunoblástico de células T o el linfoma anaplásico de células grandes, pueden aparecer en los ganglios linfáticos, mientras que otros como el linfoma subcutáneo de células T, el linfoma nasal NK/de células T o el linfoma intestinal de células T surgen en sitios extranodales.

Los linfomas de células grandes son el tipo más común de linfoma. Estos cánceres pueden surgir en los ganglios linfáticos o en sitios extranodales, como el tracto gastrointestinal, los testículos, la tiroides, la piel, el seno, el sistema nervioso central o el hueso, y pueden estar localizados o generalizados (diseminados por todo el cuerpo).

Los tumores de la zona marginal son linfomas indolentes de células B y pueden aparecer fuera de los ganglios linfáticos (extranodales) o dentro de los ganglios linfáticos (ganglios). Se dividen en dos categorías según la ubicación del linfoma. Los linfomas de tejido linfoide asociados a la mucosa (también llamados MALT o MALTomas) son formas de la zona marginal de los ganglios linfáticos (como el tracto gastrointestinal, los ojos, la tiroides, las glándulas salivales, los pulmones o la piel). Los linfomas de células B de la zona marginal nodal son poco frecuentes y, en ocasiones, se llaman linfomas de células B monocitoides.

En la esclerosis nodular de Hodgkin, los ganglios linfáticos afectados contienen áreas de células de Reed-Sternberg mezcladas con glóbulos blancos normales. Los ganglios linfáticos a menudo contienen tejido cicatricial prominente, de ahí el nombre de esclerosis nodular (cicatrización). Este subtipo es el más común, ya que representa del 60 % al 75 % de todos los casos de linfoma de Hodgkin.

Composiciones farmacéuticas

La preparación de una composición farmacéutica que contiene al menos un ingrediente activo arsenical orgánico o adicional como se ejemplifica en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. Mack Printing Company, 1990, incorporado en el presente documento como referencia. Además, para la administración animal (por ejemplo, humana), se entenderá que las preparaciones deben cumplir con la esterilidad, pirogenicidad, seguridad general y estándares de pureza según lo exige la FDA Office of Biological Standards.

Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, medicamentos, estabilizadores de medicamentos, geles, aglomerantes, excipientes, agentes de desintegración,

lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, colorantes, tales como materiales y combinaciones de los mismos, como lo sabría un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18a. Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329). Excepto en la medida en que cualquier vehículo convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

5 El arsenical orgánico se puede combinar con diferentes tipos de vehículos dependiendo de si se debe administrar en forma sólida, líquida o en aerosol, y si debe ser estéril para las vías de administración como la inyección. La presente invención se puede administrar de forma intravenosa, intradérmica, intraarterial, intraperitoneal, intralesiones, intracraneal, intraarticular, intraprostática, intrapleural, intratraqueal, intranasal, intravítrea, intravaginal, intrarrectal, tópica, intratumoral, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, subconjuntival, intravesicularmente, por
10 las mucosa, intrapericardial, intraumbilical, intraocular, oral, tópica, local, inyección, infusión, infusión continua, perfusión localizada, baño de perfusión de las células diana directamente, a través de un catéter, a través de un lavado, en composiciones lipídicas (por ejemplo, liposomas), o por otro procedimiento o cualquier combinación de los anteriores, como sabría un experto en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. Mack Printing Company, 1990).

15 La cantidad de dosificación real de una composición de la presente invención administrada a un paciente puede determinarse por factores físicos y fisiológicos, como el peso corporal, la gravedad de la condición, el tipo de enfermedad que se está tratando, las intervenciones terapéuticas previas o concurrentes, la idiopatía del paciente y la vía de administración. El profesional responsable de la administración, en cualquier caso, determinará la concentración de ingredientes activos en una composición y las dosis apropiadas para el sujeto individual.

20 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, al menos aproximadamente el 0,1 % de un compuesto arsenical orgánico. En otras realizaciones, el compuesto activo puede comprender entre aproximadamente el 2 % y aproximadamente el 75 % del peso de la unidad, o entre aproximadamente el 25 % y aproximadamente el 60 %, por ejemplo, y cualquier intervalo derivado de la misma. En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender de aproximadamente 0,1 mg/kg/peso corporal, 0,5 mg/kg/peso corporal, 1 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 5 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 10 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 20 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 30 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 40 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 50 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 75 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 100 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 200 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 350 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 500 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 750 mg/kg/peso corporal, hasta aproximadamente 1000 mg/kg/peso corporal o más por administración, y cualquier intervalo derivado en el mismo. En los ejemplos no limitativos de un intervalo derivado de los números enumerados en el presente documento, se puede administrar un intervalo de aproximadamente 10 mg/kg/peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg/peso corporal, etc., basado en los números descritos anteriormente.

35 En cualquier caso, la composición puede comprender diversos antioxidantes para retardar la oxidación de uno o más componentes. Además, la prevención de la acción de los microorganismos se puede lograr mediante conservantes como diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, que incluyen, entre otros, parabenos (por ejemplo, metilparabenos, propilparabenos), clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal o combinaciones de los mismos.

40 El arsenical orgánico se puede formular en una composición en forma de base libre, neutra o salina. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales formadas con los grupos carboxilo libres derivados de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o hierro; o bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, histidina o procaína.

45 En realizaciones en las que la composición está en forma líquida, un vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que comprende, pero no se limita a, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, etc.), lípidos (por ejemplo, triglicéridos, aceites vegetales, liposomas) y combinaciones de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, como la lecitina; mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido por dispersión en vehículos tales como, por ejemplo, poliol líquido o lípidos; mediante el uso de tensioactivos tales como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa; o combinaciones de los mismos tales procedimientos. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, tales como, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o combinaciones de los mismos.

50 Las soluciones inyectables estériles se preparan incorporando los compuestos activos en la cantidad requerida del solvente apropiado con diversos de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y/o los otros ingredientes. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones, suspensiones o emulsiones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son técnicas de secado al vacío o liofilización que producen un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de un medio líquido previamente esterilizado y
55

filtrado del mismo. El medio líquido debe estar adecuadamente regulado, si es necesario, y el diluyente líquido debe hacerse isotónico antes de la inyección con suficiente solución salina o glucosa. También se contempla la preparación de composiciones altamente concentradas para inyección directa, donde se contempla el uso de DMSO como disolvente para dar como resultado una penetración extremadamente rápida, suministrando altas concentraciones de los agentes activos a un área pequeña.

La composición debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento, y conservarse contra la acción contaminante de microorganismos, como bacterias y hongos. Por lo tanto, las composiciones preferidas tienen un pH mayor que aproximadamente 5, preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 8, más preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 7. Se apreciará que la contaminación con endotoxinas debe mantenerse mínimamente a un nivel seguro, por ejemplo, menos que 0,5 ng/mg de proteína.

En realizaciones particulares, la absorción prolongada de una composición inyectable se puede lograr mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, tales como, por ejemplo, monoestearato de aluminio, gelatina o combinaciones de los mismos.

Terapia de combinación

Un aspecto de esta invención es que el arsenical orgánico se puede usar en combinación con otro agente o procedimiento de terapia, preferiblemente otro tratamiento contra el cáncer. El arsenical orgánico puede preceder o seguir el tratamiento del otro agente en intervalos que van desde minutos hasta semanas. En las realizaciones en las que el otro agente y el constructo de expresión se aplican por separado a la célula, generalmente se garantizaría que no transcurriera un período de tiempo significativo entre el momento de cada administración, de modo que el agente y el constructo de expresión aún podrían ejercer un efecto ventajosamente combinado sobre la célula. Por ejemplo, en tales casos, se contempla que se puede poner en contacto la célula, el tejido o el organismo con dos, tres, cuatro o más modalidades de manera sustancialmente simultánea (es decir, en menos de aproximadamente un minuto) con el arsenical orgánico. En otros aspectos, uno o más agentes pueden administrarse en aproximadamente 1 minuto, aproximadamente 5 minutos, aproximadamente 10 minutos, aproximadamente 20 minutos, aproximadamente 30 minutos, aproximadamente 45 minutos, aproximadamente 60 minutos, aproximadamente 2 horas, aproximadamente 3 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas, aproximadamente 10 horas, aproximadamente 11 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 13 horas, aproximadamente 14 horas, aproximadamente 15 horas, aproximadamente 16 horas, aproximadamente 17 horas, aproximadamente 18 horas, aproximadamente 19 horas, aproximadamente 20 horas, aproximadamente 21 horas, aproximadamente 22 horas, aproximadamente 23 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 25 horas, aproximadamente 26 horas, aproximadamente 27 horas, aproximadamente 28 horas, aproximadamente 29 horas, aproximadamente 30 horas, aproximadamente 31 horas, aproximadamente 32 horas, aproximadamente 33 horas, aproximadamente 34 horas, aproximadamente 35 horas, aproximadamente 36 horas, aproximadamente 37 horas, aproximadamente 38 horas, aproximadamente 39 horas, aproximadamente 40 horas, aproximadamente 41 horas, aproximadamente 42 horas, aproximadamente 43 horas, aproximadamente 44 horas, aproximadamente 45 horas, aproximadamente 46 horas, aproximadamente 47 horas, hasta aproximadamente 48 horas o más antes y/o después de administrar el arsenical orgánico. En ciertas otras realizaciones, un agente puede administrarse dentro de aproximadamente 1 día, aproximadamente 2 días, aproximadamente 3 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 5 días, aproximadamente 6 días, aproximadamente 7 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 9 días, aproximadamente 10 días, aproximadamente 11 días, aproximadamente 12 días, aproximadamente 13 días, aproximadamente 14 días, aproximadamente 15 días, aproximadamente 16 días, aproximadamente 17 días, aproximadamente 18 días, aproximadamente 19 días, aproximadamente 20, hasta aproximadamente 21 días antes y/o después de administrar el arsenical orgánico. En algunas situaciones, puede ser deseable prolongar el período de tratamiento significativamente, sin embargo, donde transcurren varias semanas (por ejemplo, aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7 o aproximadamente 8 semanas o más) entre las respectivas administraciones.

Se pueden emplear diversas combinaciones, el arsenical orgánico es "A" y el agente secundario, que puede ser cualquier otro agente terapéutico, es "B":

- A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B
- B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A
- B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

La administración de las composiciones terapéuticas de la presente invención a un paciente seguirá los protocolos generales para la administración de quimioterapéuticos, teniendo en cuenta la toxicidad, si la hay. Se espera que los

ciclos de tratamiento se repitan según sea necesario. También se contempla que varias terapias estándar o terapias complementarias para el cáncer, así como la intervención quirúrgica, pueden aplicarse en combinación con el agente arsenical descrito. Estas terapias incluyen, entre otras, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia, terapia génica y cirugía. La siguiente sección describe algunas terapias complementarias para el cáncer:

5 *Quimioterapia*

Las terapias contra el cáncer también incluyen una variedad de terapias de combinación con tratamientos tanto químicos como basados en la radiación. Las quimioterapias de combinación incluyen, por ejemplo, cisplatino (CDDP), carboplatino, procarbazona, mecloretamina, ciclofosfamida, camptotecina, ifosfamida, mafalan, clorambucil, busulfan, nitrosourea, dactinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, bleomicina, plicomicina, mitomicina, etopósido (VP16), tamoxifeno, raloxifeno, agentes de unión al receptor de estrógeno, taxol, gemcitabina, navelbina, inhibidores de la farnesil-proteína transferasa, transplatino, 5-fluorouracilo, vincristina, vinblastina y metotrexato, o cualquier variante análoga o derivada de los anteriores.

Radioterapia

Otros factores que causan daños en el ADN y que se han usado ampliamente incluyen lo que comúnmente se conoce como rayos γ , rayos X y/o el suministro dirigido de radioisótopos a las células tumorales. También se contemplan otras formas de factores que dañan el ADN, como las microondas y la radiación UV. Es muy probable que todos estos factores generen una amplia gama de daños en el ADN, en los precursores del ADN, en la replicación y reparación del ADN y en el ensamblaje y mantenimiento de los cromosomas. Los intervalos de dosificación para los rayos X varían desde dosis diarias de 50 a 200 roentgens durante períodos prolongados de tiempo (3 a 4 semanas), hasta dosis únicas de 2000 a 6000 roentgens. Los intervalos de dosificación para los radioisótopos varían ampliamente y dependen de la vida media del isótopo, la fuerza y el tipo de radiación emitida y la absorción por las células neoplásicas. Los términos "puesta en contacto" y "expuesta", cuando se aplican a una célula, se usan en el presente documento para describir el proceso mediante el cual se entregan una construcción terapéutica y un agente quimioterapéutico o radioterapéutico a una célula objetivo o se colocan en yuxtaposición directa con la célula objetivo. Para lograr la muerte celular o la estasis, ambos agentes se envían a una célula en una cantidad combinada efectiva para matar la célula o evitar que se divida.

Inmunoterapia

Los tratamientos inmunoterapéuticos, en general, se basan en el uso de células y moléculas efectoras inmunes para atacar y destruir las células cancerosas. El efector inmune puede ser, por ejemplo, un anticuerpo específico para algún marcador en la superficie de una célula tumoral. El anticuerpo solo puede servir como un efector de la terapia o puede reclutar otras células para efectuar realmente la destrucción celular. El anticuerpo también puede conjugarse con un fármaco o toxina (quimioterapéutico, radionucleótido, cadena A de ricina, toxina del cólera, toxina pertussis, etc.) y servir simplemente como un agente de direccionamiento. Alternativamente, el efector puede ser un linfocito que porta una molécula de superficie que interactúa, directa o indirectamente, con un objetivo de célula tumoral. Diversas células efectoras incluyen células T y células NK citotóxicas.

La inmunoterapia, por lo tanto, podría usarse como parte de una terapia de combinación, junto con la terapia génica. A continuación se discute la metodología general para la terapia de combinación. En general, la célula tumoral debe tener algún marcador que sea susceptible de ser direccionado, es decir, no está presente en la mayoría de las otras células. Existen muchos marcadores tumorales y cualquiera de estos puede ser adecuado para ser direccionado en el contexto de la presente invención. Los marcadores tumorales comunes incluyen antígeno carcinoembrionario, antígeno prostático específico, antígeno asociado a tumor urinario, antígeno fetal, tirosinasa (p97), gp68, TAG-72, HMFG, antígeno Sialyl Lewis, MucA, MucB, PLAP, receptor de estrógeno, receptor de laminina, erb B y p155.

Terapia génica

En aun otra realización, el tratamiento secundario es una terapia génica secundaria en la que se administra un polinucleótido terapéutico antes, después o al mismo tiempo que un primer agente terapéutico. El suministro del agente terapéutico junto con un vector que codifica un producto génico tendrá un efecto antihiperproliferativo combinado en los tejidos diana.

Cirugía

Aproximadamente el 60 % de las personas con cáncer se someterán a algún tipo de cirugía, que incluye cirugía preventiva, diagnóstica o de estadificación, curativa y paliativa. La cirugía curativa es un tratamiento para el cáncer que se puede usar junto con otras terapias, como el tratamiento de la presente invención, quimioterapia, radioterapia, terapia hormonal, terapia génica, inmunoterapia y/o terapias alternativas. La cirugía curativa incluye la resección en la que todo o parte del tejido canceroso se extirpa físicamente, se escinde y/o se destruye. La

resección del tumor se refiere a la extirpación física de al menos parte de un tumor. Además de la resección del tumor, el tratamiento quirúrgico incluye cirugía con láser, criocirugía, electrocirugía y cirugía controlada microscópicamente (cirugía de Mohs). Se contempla además que la presente invención puede usarse junto con la extirpación de cánceres superficiales, precancerosos o cantidades incidentales de tejido normal.

5 Ejemplos

Ejemplo 1

Síntesis del ácido S-dimetilarsino-tiosuccínico (MER1), ácido S-dimetilarsinosalicílico (SAL1), y S-(dimetilarsino)glutatin (SGLU1)

Ejemplo de referencia

10 MER-1: Se colocó ácido mercaptosuccínico, 4,5 g, en 100 ml de glima (1,2-dimetoxietano) en un matraz de fondo redondo de 250 ml. Se añadieron gota a gota cuatro ml de dimetilcloroarsina (0,03 moles), seguido de 4 ml de dietilamina (0,04 moles), nuevamente gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante 20 h a temperatura ambiente. Se formó un precipitado blanco de clorhidrato de dietilamina y se separó por filtración. La solución de
15 MER1 en la glima se redujo enormemente en volumen por evaporación a presión reducida. Los cristales blancos de MER1 se separaron por filtración y se lavaron con agua destilada fría. El producto cristalino incoloro se recristalizó luego en etanol-agua hasta un punto de fusión constante de 150 °C.

Ejemplo de referencia

SAL-1: En un matraz de 100 ml, se colocaron 5 g de ácido 2-mercapto benzoico (ácido tiosalicílico), 75 ml de glima, 5 ml de dimetilcloroarsina y 5 ml de dietilamina. La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora en una atmósfera de
20 nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El precipitado de hidrocloreuro de dietilamina se separó por filtración. El filtrado se evaporó lentamente a presión reducida hasta que se separaron los cristales del producto. La solución evaporada que contenía el producto se enfrió en hielo y la solución fría se filtró. Los cristales del producto se recristalizaron en etanol a un punto de fusión constante de 97 °C.

SGLU-1: Se agitó glutatión (14,0 g, 45,6 mmol) rápidamente en glima a la vez que se añadía dimetilcloroarsina (6,5
25 g, 45,6 mmol) gota a gota. Luego se añadió piridina (6,9 g, 91,2 mmol) a la suspensión y la mezcla se calentó posteriormente a reflujo. El calor se retiró inmediatamente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. El aislamiento del sólido insoluble resultante y la recristalización desde etanol proporcionaron 4 como el complejo de hidrocloreuro de piridina (rendimiento del 75 %): punto de fusión 115-118 °C; RMN (D₂O) δ 1,35 (s, 6H), 1,9-4,1 (m's, 10H), 7,8-9,0 (m, 5H); Espectro de masas (m/e) 140, 125, 110, 105, 79, 52, 45, 36. Este material no se usa para los
30 ejemplos descritos aquí, pero se ha usado en ensayos biológicos como se describe en Banks, CH, et al. (J. Med. Chem. (1979) 22: 572-575).

Ejemplo 2

Síntesis alternativa de S-dimetilarsinoglutatión

El siguiente procedimiento describe la forma de preparación de S-dimetilarsinoglutatión. Las cantidades utilizadas se
35 pueden multiplicar o dividir con igual éxito si se mantienen las relaciones respectivas.

Dimetilcloroarsina.

El ácido dimetilarsínico, (CH₃)₂As(O)OH fue suministrado por Luxembourg Chemical Co., Tel Aviv, Israel. El producto fue acompañado por una declaración de su pureza y se suministró con una pureza del 99,7 %. El ácido
40 dimetilarsínico se disolvió en agua, ácido clorhídrico a pH 3. Se pasó una corriente de dióxido de azufre a través de esta solución durante aproximadamente una hora. La dimetilcloroarsina se separa como un aceite pesado e incoloro. Las dos fases líquidas, agua/(CH₃)₂AsCl se separaron utilizando un embudo de separación. La clorodimetilarsina se extrajo en éter dietílico y la solución de éter se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La solución seca se transfirió a un matraz de destilación que se calentó lentamente para evaporar el éter. El líquido restante, dimetilcloroarsina, se purificó por destilación. Se recogió la fracción en ebullición a 106-109 °C. El producto, un aceite incoloro, muestra
45 una resonancia de ¹H RMN sencilla a 1,65 ppm.

S-Dimetilarsinoglutatión.

En un matraz de 500 ml, se usaron 7 g de glutatión como se recibió de Aldrich Chemical Co., pureza del 98 % y se disolvió en 250 ml de 1,2-dimetoxietano. A esta solución se le agregaron 3,3 g de dimetilcloroarsina. Esta fue
50 seguida por la adición de 3,5 g de piridina (redestilada después de secar sobre gránulos de NaOH). La solución se sometió a reflujo durante una hora, después de lo cual se agitó a temperatura ambiente durante tres horas.

El producto deseado, S-dimetilarsinoglutatión se separó como el complejo de clorhidrato de piridina. El sólido se eliminó por filtración y se lavó a fondo con 1,2-dimetoxietano. Posteriormente se secó sobre cloruro de calcio anhidro a vacío. El rendimiento del clorhidrato de S-dimetilarsinoglutatión piridina fue de 10,3 g y el punto de fusión fue de 135-140 °C. Este material se usó en los ensayos biológicos descritos anteriormente en los ejemplos 2 a 12.

5 Ejemplo 3

Síntesis de S-dimetilarinoglutatión (GLU) libre de hidrocloreuro de piridina

El dimetilarsinoglutatión se fabrica utilizando una adaptación de Chen (Chen, G. C., et al. Carbohydrate Res. (1976) 50: 53-62) cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad. En resumen, se disuelve ditiobis(dimetilarsinoglutamina) en diclorometano bajo nitrógeno. Se agrega tetrametildarsina gota a gota a la solución y la reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente bajo nitrógeno y luego se expone al aire durante 1 h. La mezcla se evapora luego a sequedad y el residuo se lava con agua y se seca para obtener un sólido bruto que se recristaliza en metanol para dar S-dimetilarsinoglutatión.

Ejemplo 4

Tercera síntesis de S-dimetilarsinoglutatión (GLU) libre de hidrocloreuro de piridina

15 Se produce S-dimetilarsinoglutatión mediante el procedimiento de Cullen et al. (J. Inorg. Biochem. (1984) 21: 179-194) cuyos contenidos se incorporan aquí como referencia en su totalidad. En resumen, el ácido dimetilarsínico y el glutatión se disuelven en agua bajo una atmósfera de nitrógeno y se agitan. La solución resultante se agita durante 12 h y luego se evapora a sequedad a presión reducida sin calentar para dar un sólido que se extrae con metanol frío. La solución de metanol se evapora luego a sequedad a presión reducida y el sólido resultante se recristaliza en metanol/agua, se recoge y se seca para dar S-dimetilarsinoglutatión.

Ejemplo 5

Preparación de dimetilcloroarsina

Se equipó un matraz de fondo redondo de 3 l, de 3 bocas, equipado con un conjunto de agitador mecánico, un embudo de adición, un termómetro, una entrada de nitrógeno, y un tubo de secado se colocó en un baño. El matraz se cargó con ácido cacodílico (250 g) y HCl concentrado (825 ml) y se agitó para disolver. Después de que el ácido cacodílico se disolviera completamente, la solución se calentó a 40 °C. A la solución en agitación, se añadió gota a gota ácido hipofosforoso (H₃PO₂) (solución al 50 %, 250 g), manteniendo la temperatura de reacción entre 40 y 50 °C. Después de agregar aproximadamente 50 ml de H₃PO₂, la solución se volvió turbia y la temperatura de la reacción aumentó rápidamente, momento en el cual se usó un baño de enfriamiento externo para mantener la temperatura de reacción entre 40 y 50 °C. Se continuó con la adición del H₃PO₂, manteniendo la temperatura de reacción en el intervalo deseado. Después de que se completó la adición de H₃PO₂, la reacción se mantuvo entre 40 y 45 °C durante 15 minutos mientras se agitaba. Se retiró el baño externo y se continuó la agitación. La reacción se dejó agitar y enfriar hasta a <30 °C. Después de que la temperatura de la mezcla de reacción descendiera a 30 °C o menos, se añadió cloruro de metileno (300 ml) y la mezcla resultante se agitó para extraer el producto en el cloruro de metileno. Se interrumpió la agitación y se dejó que las capas se separaran durante ½ hora. Las capas se separaron y la capa de cloruro de metileno se secó sobre sulfato de sodio anhidro con agitación durante un mínimo de 1 hora. La mezcla puede dejarse en una atmósfera de nitrógeno durante un máximo de 72 horas. La mezcla orgánica se filtró para eliminar el sulfato de sodio y el cloruro de metileno se eliminó por destilación atmosférica. El producto residual crudo se destiló bajo una atmósfera de nitrógeno, a través de un Vigreux de 8" o una columna empaquetada. Se recogió la fracción del producto con punto de ebullición de 104-106 °C a presión atmosférica.

Preparación de S-dimetilarsinoglutatión

Se equipó un matraz de fondo redondo de tres bocas de 5 L con un conjunto de agitador mecánico, termómetro, embudo de adición, entrada de nitrógeno y se colocó un tubo de secado en un baño de enfriamiento. Una cápsula de polietileno se cargó con glutatión reducido (200 g) y agua desionizada (2 l) y se agitó en una atmósfera de nitrógeno para disolver todos los sólidos. La mezcla se filtró para eliminar cualquier material insoluble y el filtrado se transfirió al matraz de 5 L. Mientras se agitaba, se añadió etanol, prueba de 200 (2 l), y la solución transparente se enfrió a 0-5 °C usando un baño de hielo/metanol. Se añadió piridina (120 g) seguida de una adición gota a gota de Me₂AsCl (120 g) durante un mínimo de 1 hora. La mezcla de reacción se agitó a 0-5 °C durante un mínimo de 2 horas antes de retirar el baño de enfriamiento y dejar que la mezcla se calentara a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno con agitación. La mezcla de reacción se agitó durante la noche (>15 h) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno, momento en el que puede precipitar un sólido blanco. La mezcla de reacción se concentró hasta obtener una suspensión (líquido y sólido) a 35-45 °C utilizando vacío de bomba de aceite para proporcionar un residuo sólido blanco. Se elimina la mayor cantidad de agua posible, seguida de dos

coevaporaciones con etanol para formar un azeótropo con las últimas trazas de agua. El residuo sólido blanco se suspendió en etanol, prueba de 200 (5 l), bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche. El sólido blanco se filtró y se lavó con etanol, prueba de 200 (2 x 500 ml), seguido de acetona, ACS (2 x 500 ml). El sólido resultante se transfirió a bandejas de secado y se secó en un horno de vacío durante la noche a 25-35 °C usando una bomba de aceite al vacío para proporcionar S-dimetilarsinoglutatión libre de hidrocloreuro de piridinio como un sólido blanco con un punto de fusión de 189-190 °C.

Preparación de la forma de dosificación de S-dimetilarsinoglutatión

Una solución de S-dimetilarsinoglutatión en agua para inyección (WFI) se ajustó a pH 5,0 a 5,5 con NaOH o HCl. La solución resultante se filtró luego a través de un filtro Sartopore 2 de 0,2 micrómetros y se usó una unidad de llenado Flexicon para administrar 150 mg por vial de vidrio de borosilicato tipo 1 (Wheaton). Los viales llenos se liofilizaron luego en una unidad de liofilizador Hull 48 cargando primero los viales en el estante y elevando la temperatura a -40 °C a una velocidad de enfriamiento de 0,5 °C por minuto. La temperatura del estante se mantuvo a -40 °C durante 300 minutos. Luego se aplicó un vacío a 75 micrómetros y la temperatura del estante se elevó hasta 5 °C a una velocidad de 0,1 °C por minuto. La temperatura del estante se mantuvo a 5 °C durante 1000 minutos antes de aplicar el vacío a 50 micrómetros. La temperatura del estante se elevó luego a 25 °C a una velocidad de 0,1 °C por minuto y la temperatura se mantuvo a 25 °C durante 720 minutos. La temperatura del estante se redujo luego a 5 °C y se mantuvo hasta la etapa final de taponamiento, momento en el cual la cámara se retornó a 640000 mm Torr con nitrógeno y los viales se taparon con tapones de liofilización de butilo gris y finalmente se pinzaron con sellos de aluminio para proporcionar S-dimetilarsinoglutatión como una torta blanca a blanquecina con un contenido de humedad del 1,8 %. El tiempo total para el procedimiento de liofilización fue de 47 horas. El S-dimetilarsinoglutatión liofilizado se reconstituyó luego con 2,0 ml de agua estéril para proporcionar una solución transparente e incolora con una concentración final de $75 \pm 7,5$ mg de S-dimetilarsinoglutatión por ml y un pH de 4,5 a 6,0.

Ejemplo 6

Preparación de Dimetilcloroarsina (DMCA)

Un matraz de fondo redondo de 3 bocas (500 ml) equipado con agitador mecánico, entrada para nitrógeno, termómetro y baño de hielo se cargó con ácido cacodílico (33 g, 0,23 mol) y ácido clorhídrico concentrado (67 ml). En un matraz separado, se preparó una solución de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (54 g, 0,239 mol) en ácido clorhídrico concentrado (10 ml). La solución de $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se agregó al ácido cacodílico en solución de HCl bajo nitrógeno mientras se mantenía la temperatura entre 5 °C y 10 °C. Una vez completada la adición, se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y se recogió la capa superior (orgánica). La capa inferior se extrajo con diclorometano (DCM) (2 x 25 ml). El extracto orgánico combinado se lavó con HCl 1N (2 x 10 ml) y agua (2 x 20 ml). El extracto orgánico se secó sobre MgSO_4 y el DCM se eliminó mediante evaporación rotatoria (temperatura del baño 80 °C, bajo nitrógeno, presión atmosférica). El residuo se destiló adicionalmente bajo nitrógeno. Se recogieron dos fracciones de DMCA. La primera fracción contenía algo de DCM y la segunda fracción era de calidad adecuada (8,5 g, 26 % de rendimiento). El análisis GC confirmó la identidad y pureza del producto.

Preparación de S-dimetilarsinoglutatión (SGLU-1)

Una suspensión de glutatión (18 g, 59 mmol) en una mezcla de agua/etanol 1:1 v/v (180 ml) se enfrió por debajo de 5 °C y bajo una atmósfera inerte fue tratada con trietilamina (10 ml, 74 mmol) en una porción. La mezcla se enfrió a 0-5 °C y se añadió gota a gota DMCA (11 g, 78,6 mmol) durante un período de 10 minutos, mientras se mantenía la temperatura por debajo de 5 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0-5 °C durante 4 h, y los sólidos resultantes se aislaron por filtración. El producto se lavó con etanol (2 x 50 ml) y acetona (2 x 50 ml) y se secó a vacío a temperatura ambiente durante la noche, para dar 11 g (46 %) de SGLU-1. La pureza de HPLC fue de 97,6 % por área (promedio de 3 inyecciones), Análisis. Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{AsN}_3\text{O}_6\text{S}$: C, 35,04; H, 5,39; N, 10,12, S, 7,8. Encontrado: C, 34,92; H, 5,31; N, 10,27, S, 7,68. Los ^1H y ^{13}C -RMN fueron consistentes con la estructura. El filtrado se diluyó con acetona (150 ml) y se colocó en un refrigerador durante 2 días. Se aislaron 5,1 g adicionales (21 %) de SGLU-1 como segundo cultivo, la pureza por HPLC fue del 97,7 % por área (promedio de 3 inyecciones).

Preparación de S-dimetilarsinoglutatión (SGLU-1)

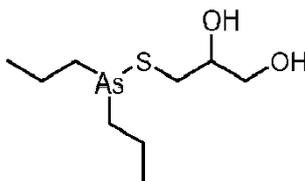
En un matraz de tres bocas de 3 L equipado con un agitador mecánico, embudo de goteo y termómetro bajo una atmósfera inerte, se preparó una suspensión de glutatión (114,5 g, 0,37 mol) en una mezcla 1:1 (v/v) de agua/etanol. (1140 ml) y se enfrió por debajo de 5 °C. La mezcla se trató lentamente (durante 15 min) con trietilamina (63,6 ml, 0,46 mol) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 20 °C. La mezcla se enfrió a 4 °C y se agitó durante 15 minutos y luego se eliminaron por filtración los restos de material no disuelto. El filtrado se transfirió a un matraz de tres bocas limpio de 3 L equipado con un agitador mecánico, embudo de goteo, entrada de nitrógeno y termómetro,

5 y se agregó DMCA (70 g, 0,49 mol) (lote # 543-07-01-44) manteniendo la temperatura a 3-4 °C. La mezcla de reacción se agitó a 1-4 °C durante 4 h, y se añadió acetona (1.2 l) durante un período de 1 h. La mezcla se agitó durante 90 min entre 2 y 3 °C y el sólido resultante se aisló por filtración. El producto se lavó con etanol (2 x 250 ml) y acetona (2 x 250 ml) y los sólidos húmedos se suspendieron en etanol prueba de 200 (2000 ml). El producto se aisló por filtración, se lavó con etanol (2 x 250 ml) y acetona (2 x 250 ml) y se secó al vacío durante 2 días a temperatura ambiente para dar 115 g (75 %) de SGLU-1, HPLC de pureza >99,5 % (en pruebas de proceso).

Ejemplo 7

Evaluación *in vitro* de la actividad anticancerígena de GMZ27

El compuesto de referencia GMZ27, una arsina orgánica que tiene la siguiente estructura



10 se probó en ensayos MTS de 72 horas frente a diferentes líneas celulares de leucemia mielocítica aguda (LMA) humana y se encontró que la IC₅₀ era de 0,56 a 0,86 μM. Esta actividad fue mayor que la actividad del trióxido de arsénico contra estas líneas celulares (Figura 27A). La actividad antileucémica de GMZ27 se evaluó luego en un ensayo de formación de colonias a largo plazo (7 días), donde las células se cultivan en medio semisólido. El GMZ27 tuvo una actividad significativamente más alta que el trióxido de arsénico contra las líneas celulares de leucemia humana y las células leucémicas obtenidas de pacientes con leucemia aguda o crónica (Figura 27B).

20 Luego se compararon los mecanismos de actividad anticancerígena de GMZ27 y trióxido de arsénico. El trióxido de arsénico (ATO) ejerció su actividad antileucémica en otras células distintas de la APL a través de varios mecanismos, incluida la inducción de apoptosis, la alteración en la producción de ROS intracelular que resulta en la modulación del sistema redox celular GSH, la diferenciación/maduración celular y el posible efecto sobre la regulación del ciclo celular.

25 GMZ27 fue más potente en la inducción de la apoptosis que el ATO. Los resultados muestran que activó la vía apoptótica mitocondrial, ya que alteró el potencial de membrana mitocondrial y dividió la caspasa 9, pero también por vía alternativa, extrínseca, ya que escindió la caspasa 8. Esto dio lugar a la inducción de la actividad de la caspasa 3, la escisión de la PARP y la unión de anexina V a las células (Figuras 28 y 29).

El tratamiento previo de las células leucémicas con butionina sulfoximina (BSO) las hace más sensibles a GMZ27; mientras que el tratamiento previo con ditiotreitól (DTT) o N-acetilcisteína (NAC), que puede aumentar el GSH intracelular, hace que las células sean menos sensibles (Figura 30). Esto sugirió que GMZ27, como el ATO, modula el sistema redox GSH en células leucémicas, sin embargo, lo hizo antes y en mayor medida que ATO (Figura 31).

30 Se encontró que GMZ27, a dosis bajas, inducía parcialmente la diferenciación/maduración celular según se juzga por la inducción del marcador de maduración CD11b en la superficie de las células. Este efecto fue marginal en comparación con el de ATO (Figura 32). GMZ27 no tuvo ningún efecto sobre la progresión del ciclo celular (Figura 33).

35 La toxicidad de GMZ7 contra células mononucleares de sangre periférica de donantes sanos se ha evaluado en un ensayo de formación de colonias a largo plazo. GMZ27 fue menos tóxico para las células normales que el ATO (Figura 34).

40 Los estudios para determinar la toxicidad de una inyección de una sola dosis de GMZ27 se realizaron en ratones Swiss-Webster normales. La toxicidad se midió sobre la base de la mortalidad. Se encontró que la concentración de GMZ27 que mata al 50 % de los ratones (LD₅₀) era de 100 mg/kg. En contraste, el LD₅₀ para ATO fue mucho menor, con solo 10 mg/kg.

(Referencia) Ejemplo 8

Preparación de N-(2-S-dimetilarsinotiopropionil)glicina

45 Se colocó N-(2-mercaptopropionil)glicina (0,02 mol, 3,264 g) en 1,2-dimetoxietano (50 ml) y se añadió gota a gota dimetilcloroarsina (0,025 mol, 3,52 g). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a temperatura ambiente. Luego se separó por filtración un precipitado blanco de sal de clorhidrato de trietilamina y se redujo el volumen por

evaporación a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna para proporcionar el producto deseado (3,5 g).

(Referencia) Ejemplo 9

Preparación de ácido 2-(S-dimetilarsino)tionicotínico

5 Se colocó ácido 2-mercaptionicotínico (0,02 mol, 3 g) en diclorometano (50 ml) y se añadió gota a gota dimetilcloroarsina (0,025 mol, 3,52 g). La reacción se agitó a reflujo durante 4 h. El diclorometano se eliminó por destilación y el residuo se disolvió en éter dietílico (50 ml) y se lavó con agua (3x). La solución se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el producto deseado se obtuvo en forma de un sólido amarillo pálido después de la concentración a presión reducida.

10 **(Referencia) Ejemplo 10**

Ácido L-(+)- 2-amino-3-(dimetilarsino)tio-3-metilbutanoico

15 Se añadió ácido L-(+)-2-amino-3-mercapto-3-metilbutanoico (0,01 mol, 1,55 g) en diclorometano (50 ml) y se añadió dimetilcloroarsina (0,015 mol, 2,1 g) en diclorometano (5 ml) gota a gota seguido de la adición gota a gota de trietilamina (1,6 g). La mezcla se agitó durante 4 h y el producto deseado apareció como un sólido cristalino blanco flotante después de la filtración de la mezcla de reacción. El sólido cristalino se lavó con diclorometano, acetato de etilo y acetona secuencialmente para proporcionar el producto deseado (1,6 g; punto de fusión 107-109 °C).

Ejemplo 11

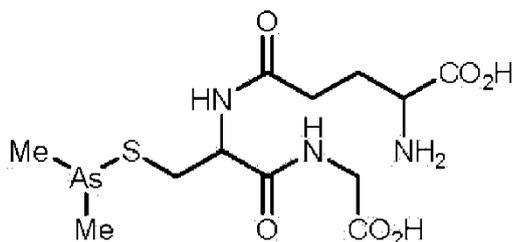
20 Se realizó un ensayo multicéntrico de Fase II de SGLU-1 (darinaparsina) en pacientes diagnosticados con linfomas avanzados. Los pacientes elegibles requirieron terapia y recibieron al menos 1 terapia previa. Los pacientes recibieron 300 mg/m² de darinaparsina por vía intravenosa durante 5 días consecutivos cada 28 días (1 ciclo) y luego se evaluaron su eficacia y seguridad según los criterios estándar. El tratamiento continuó hasta toxicidad o progresión. Hasta la fecha, el estudio ha acumulado 22 pacientes (15 no Hodgkin [NHL], 7 Hodgkin); 12 son hombres y 10 son mujeres. La mediana de edad al inicio del estudio fue de 60,5 años (intervalo: 28-80), el estado de rendimiento del ECOG fue ≤2 y el número medio de terapias anteriores fue 3 (intervalo: 1-6). Trece sujetos han recibido al menos 2 ciclos de SGLU-1 y son evaluables con respecto a su eficacia. De estos, 1 (diagnosticado con linfoma periférico de células T (PTCL)) logró una respuesta completa (CR), 3 (diagnosticado con células difusas de células B grandes, zona marginal y esclerosis nodular de Hodgkin, respectivamente) lograron respuestas parciales (RP), y 2 pacientes con LNH han alcanzado una enfermedad estable (SD). En el paciente con linfoma de zona marginal que alcanzó PR, no hubo evidencia de enfermedad macroscópica, pero se detectó enfermedad microscópica en biopsias aleatorias de mucosa gástrica de apariencia normal. Todas las personas que respondieron habían sido fuertemente pretratadas (PTCL:CHOP (ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona) x 6, ICE (ifosfamida, carboplatino y etopósido) x 1, y EPOCH (etopósido, vincristina, doxorubicina, ciclofosfamida y prednisona) x 2; células B difusas: RCHOP (rituximab, ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina y prednisolona) x 5, RICE (rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido) x 3, y radioterapia; zona marginal: rituximab x 8, RCVP (rituximab, ciclofosfamida, vincristina y prednisolona) x 1, y gemcitabina x 1, y Hodgkin: ICE x 1, CBV (ciclofosfamida, carmustina y etopósido) x 1, gemcitabina + MDX-060 (Medarex) x 6). Se han administrado un total de 49 ciclos de SGLU-1. El único evento adverso de Grado 3 (AE) considerado como relacionado con el fármaco fue sibilancia. Un total de 12 sujetos informaron de 37 eventos adversos graves (SAE) durante el estudio. De estos, solo 2 tenían SAE que se consideraron relacionados con el fármaco (fiebre neutropénica, caída). En conclusión, el SLGU-1 ha sido muy bien tolerado y ha demostrado una actividad prometedora en pacientes con un tratamiento previo con diagnóstico de linfoma avanzado. Se han observado respuestas iniciales (1 CR, 3 RP, 2 SD) entre 13 pacientes evaluables.

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene una estructura de



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

- 5 para su uso en el tratamiento de un linfoma seleccionado de linfoma difuso de células B grandes, linfoma de zona marginal y esclerosis nodular de Hodgkin en un sujeto previamente tratado por linfoma.
2. Un compuesto para el uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto es para administración intravenosa.
3. Un compuesto para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que una dosis del compuesto es 200-420 mg/m².
- 10 4. Un compuesto para el uso de la reivindicación 3, en el que una dosis del compuesto es de 300 mg/m².
5. Un compuesto para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto es para administración diaria durante cinco días cada cuatro semanas.
6. Un compuesto para el uso de la reivindicación 5, en el que el compuesto es para administración diaria durante cinco días consecutivos cada cuatro semanas.
- 15 7. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para tratar un linfoma seleccionado de linfoma difuso de células B grandes, linfoma de zona marginal y esclerosis nodular de Hodgkin en un sujeto previamente tratado por linfoma.
8. Uso de la reivindicación 7, en el que el medicamento es para administración intravenosa.
9. Uso de la reivindicación 7 u 8, en el que una dosis del compuesto es 200-420 mg/m², y en particular en el que una
- 20 dosis del compuesto es 300 mg/m².
10. Uso de una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que el medicamento es para administración diaria durante cinco días, y en particular durante cinco días consecutivos, cada cuatro semanas.