

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 713 699**

51 Int. Cl.:

C07J 5/00 (2006.01)

A61K 31/573 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.10.2015 PCT/EP2015/073172**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16055533**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2015 E 15778634 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 3204400**

54 Título: **17 α ,21-Diésteres de cortexolona para el uso en el tratamiento de tumores**

30 Prioridad:

08.10.2014 EP 14188063

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

23.05.2019

73 Titular/es:

**COSMO TECHNOLOGIES LTD (100.0%)
Riverside II, Sir John Rogerson's Quay
Dublin 2, IE**

72 Inventor/es:

GERLONI, MARA

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 713 699 T3

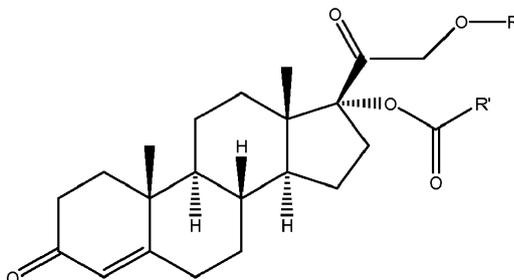
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

17 α ,21-Diésteres de cortexolona para el uso en el tratamiento de tumores

Resumen de la invención

La presente invención proporciona ciertos derivados de cortexolona de fórmula (I):



5

(I)

según se define en la reivindicación 1, y los mismos para el uso como ingredientes activos antitumorales para el tratamiento curativo o adyuvante o neoadyuvante o paliativo de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis.

10 Otro aspecto de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un derivado de cortexolona de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 como ingrediente activo con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable y a las mismas composiciones farmacéuticas para el uso como productos medicinales antitumorales para el tratamiento curativo o adyuvante o neoadyuvante o paliativo de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis.

Antecedentes de la invención

15 Un tumor, o neoplasma, se define como una masa de nuevo tejido que persiste y crece independientemente de sus estructuras circundantes, y que no tiene uso fisiológico (Doreland's Medical Dictionary, 23 ED. 1960).

Están disponibles varias clasificaciones para los tumores: para la explotación de esta solicitud de patente, los más importantes son los tumores epiteliales.

20 Los tumores epiteliales son neoplasmas derivados de células epiteliales, el tipo de células que revisten órganos internos huecos y superficies corporales; este grupo incluye muchos de los cánceres más comunes, e incluye la mayoría de los que se desarrollan en la mama, la próstata, el pulmón, el páncreas y el tracto gastrointestinal.

En algunos casos, los tumores epiteliales también se pueden caracterizar por la presencia de receptores de hormonas específicos en las células tumorales, lo que da al tumor una sensibilidad a hormonas. Los carcinomas, que son tumores malignos derivados de células epiteliales, constituyen aproximadamente 85 de cada 100 cánceres (85%).

25 Un ejemplo de carcinoma epitelial es el carcinoma pancreático (también denominado cáncer pancreático).

El cáncer pancreático es una de las formas más mortales de carcinoma. Las células exocrinas y endocrinas del páncreas forman tipos de tumores completamente diferentes. Los tumores pancreáticos exocrinos constituyen el tipo de cáncer pancreático más común (más de 95%). Aunque se pueden desarrollar en el páncreas quistes benignos (no cancerosos) y tumores benignos (adenomas), la mayoría de los tumores pancreáticos exocrinos son malignos.

30 El carcinoma de páncreas, particularmente el carcinoma de páncreas exocrino y mucho más particularmente el más frecuente, que es el adenocarcinoma ductal, se encuentra entre las cinco causas de muerte más frecuentes en varones, y es la cuarta causa de muerte en mujeres. Es uno de los tumores de pronóstico más desfavorable, con una supervivencia de solo 5% en varones y 6% en las mujeres 5 años después del diagnóstico. La incidencia más alta se produce entre los 60-70 años de edad (AIOM. Linea Guía Carcinoma del Páncreas Esocrino, ed. 2013). La etiología del carcinoma de páncreas exocrino es desconocida. Existe una predisposición genética reconocida (familiaridad) y algunos factores de riesgo tales como el tabaco, una dieta grasa, la diabetes mellitus tipo 2, la pancreatitis crónica, factores ambientales tales como disolventes o plaguicidas.

35 El carcinoma del páncreas exocrino es, en su estadio inicial, asintomático, y esto explica el retraso en el diagnóstico, que habitualmente se realiza cuando la enfermedad está en un estadio avanzado, con la excepción de la detección accidental durante procedimientos de diagnóstico para otras enfermedades abdominales.

40 Los pacientes diagnosticados con cáncer pancreático tienen un mal pronóstico: considerando el retraso descrito anteriormente en el diagnóstico, solo aproximadamente 15% de los casos muestran el tumor limitado al páncreas,

mientras que, en los casos restantes, la difusión de los nódulos linfáticos locorreccionales se detecta en aproximadamente 25% de los pacientes, y la presencia de metástasis se detecta en 60% de los casos.

La supervivencia media desde el diagnóstico del cáncer es de aproximadamente tres a seis meses, mientras que una supervivencia de cinco años es significativamente menor del 5%.

- 5 La terapia del carcinoma del páncreas es la cirugía, cuando sea posible, también con propósitos paliativos.

La pancreaticoduodenectomía radical es la única posibilidad de curación, especialmente para una enfermedad mínima.

- 10 La terapia médica, también asociada con la radioterapia, se limita a los casos inextirpables, o cuando están presentes metástasis, o como tratamiento adyuvante después de la cirugía. Aunque existen informes ocasionales de pacientes individuales que responden a la gemcitabina o el fluorouracilo, o regímenes combinados con doxorubicina, metotrexato, cisplatino, oxaliplatino, irinotecano, erlotinib, etc., los resultados de la quimioterapia son generalmente insatisfactorios y a menudo no mejores que la ausencia total de tratamiento (Martindale, 31 ed., página 530).

- 15 Theve *et al*, en 1983, revisaron los posibles efectos de las hormonas sexuales sobre el páncreas, basándose en informes sobre proteínas receptoras esteroideas en tejido pancreático, la alta capacidad de proteína que se une a estrógeno en el páncreas humano y la capacidad del tejido pancreático humano de convertir el principal estrógeno periférico, el sulfato de estrona, en el estradiol- 17 beta biológicamente activo terminal.

Con estos antecedentes, probaron el tamoxifeno (un antagonista del receptor estrogénico) en pacientes con adenocarcinoma de páncreas inextirpable con algunos resultados preliminares similares a los de Wong *et al*, en 1993.

- 20 La práctica clínica en los años posteriores no dio los resultados esperados, pero la conclusión fue que aunque los antiestrógenos no constituyeran la forma óptima de terapia, se deberían de probar otros tipos de manipulación hormonal en el cáncer pancreático.

En vista de lo anterior, existe una necesidad importante de nuevos enfoques de tratamiento de tumores y, en particular, para el tratamiento de carcinomas, y todavía más especialmente para el tratamiento de tumores epiteliales, especialmente carcinoma prostático o carcinoma de páncreas (preferiblemente carcinoma de páncreas exocrino).

- 25 Se conoce en la técnica un número de compuestos denominados 17 α -monoésteres, 21-monoésteres y 17 α ,21-diésteres de cortexolona y procedimientos para su fabricación. El documento WO03/014141 describe que los compuestos pertenecientes a la familia de esteroides estructuralmente relacionados con cortexolona (también conocida como 11-desoxicortisona) tienen principalmente actividad antiandrogénica. Estos compuestos, tales como 17 α -propionato de cortexolona, actúan al interferir con la acción directa de las hormonas androgénicas sobre el receptor androgénico (AR) en los tejidos.

- 30 El documento WO2007/031349 divulga 17 α -ésteres C₃-C₁₀ de 9,11-deshidrocortexolona, un derivado relacionado estructuralmente con la cortexolona, como agente antigonaotrófico, que pueden ser útiles para el tratamiento de trastornos estrechamente relacionados con el exceso de producción de gonadotropina. El documento WO2009/019138 divulga un procedimiento enzimático para la obtención de 17 α -monoésteres de cortexolona y de 9,11-deshidrocortexolona; por otra parte, también se divulga la existencia de varias formas cristalinas de 17 α -propionato de cortexolona, a saber la forma cristalina I, la forma II, la forma III y la forma de hidrato IV, y ciertos procedimientos para obtenerlas. El acetato de ciproterona (abreviado como CPA) es un esteroide sintético, que se consideraba la terapia estándar para el tratamiento de tumores sensibles a andrógenos, especialmente el cáncer de próstata. La terapia estándar con acetato de ciproterona resultaba bastante ineficaz en los tumores con expresión reducida, o ausente, de receptor androgénico (Br. J. Cancer (1989), 60, 789-792).

- 40 Se sabe en la técnica que la presencia de 17 α -esterificación confiere a los 17 α -ésteres de cortexolona diferentes actividades antiandrogénicas, demostradas en animales (Celasco et al., *Arzneim-Forsch* 2005; 5: 581-7).

Se ha encontrado ahora sorprendentemente que los 17 α (alfa),21-diésteres de cortexolona tienen efectos antitumorales inesperados, tanto en líneas celulares aisladas *in vitro* como en el modelo de cáncer de próstata y pancreático xenoinjertado *in vivo* en los animales.

- 45 El efecto antitumoral de la invención según se define en las reivindicaciones era evidente tanto en células de carcinoma que alojan receptor androgénico (AR⁺), tal como en el caso de células de cáncer de próstata LNCaP o un grupo de células de cáncer pancreático como, muy sorprendentemente, también en células con expresión ausente, o reducida, del receptor androgénico (AR⁻), como células de cáncer de próstata PC3, o células de cáncer pancreático MiaPaca. El efecto antitumoral de la invención según se define en la reivindicación 1 también era evidente en carcinomas mamarios (AR⁻) y carcinomas del tracto gastrointestinal (AR⁻).

Breve descripción de las figuras

Figura 1 (Figura comparativa): Cambio medio en número de veces en el volumen del tumor pancreático, medido con relación al inicio del tratamiento subcutáneo (SC), en el modelo en animales xenoinjertados de ratones lampiños (línea de células pancreáticas MiaPaca) con 17 α -benzoato de cortexolona (en la figura indicado como "06" y como "CB-03-

06") a dosis baja (230 μM) y a dosis alta (1150 μM). La referencia a "Vehículo" es un grupo tratado con control con 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal. Los ratones se trataron con el compuesto y vehículo SC diariamente durante 28 días consecutivos. La flecha de final del tratamiento se refiere al día en el que se terminaba el tratamiento.

5 Figura 2: Cambio medio en número de veces en el volumen del tumor pancreático, medido con relación al inicio del tratamiento SC, en el modelo en animales xenoinjertados de ratones lampiños (línea de células pancreáticas MiaPaca) con 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (en la figura indicado como "10" y como "CB-03-10") a dosis baja (230 μM) y a dosis alta (1150 μM). La referencia a "Vehículo" es un grupo tratado con control con 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal. Los ratones se trataron con el compuesto y vehículo SC diariamente durante 28 días consecutivos. La flecha de final del tratamiento se refiere al día en el que se terminaba el tratamiento.

15 Figura 3: Cambio medio en número de veces en el volumen del tumor pancreático con relación al inicio del tratamiento SC en el modelo en animales de ratones lampiños (línea de células pancreáticas MiaPaca) tratados con acetato de ciproterona (en la figura indicado como CPA), 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (en la figura indicado como "10") y 17 α -benzoato de cortexolona (en la figura indicado como "06") (cada compuesto en dosis baja y en dosis alta) y con grupo de control tratado con vehículo (es decir, 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal). Todos los ratones se trataron con el compuesto y vehículo SC diariamente durante 28 días consecutivos (días de tratamiento). La flecha de final del tratamiento se refiere al día en el que se terminaba el tratamiento.

20 Figura 4: Gráfica que muestra valores de P frente al grupo tratado con vehículo (es decir 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal) de las mejores dosis procedentes de la Figura 3. Todos los ratones se trataron con el compuesto y vehículo SC diariamente durante 28 días consecutivos (días de tratamiento). La flecha de final del tratamiento se refiere al día en el que se terminaba el tratamiento.

25 Figura 5: Valoración de dosis de citotoxicidad de compuestos derivados de cortexolona en líneas celulares de cáncer de próstata (a) y pancreático (b) humanos.

Figura 6: Niveles de expresión del receptor androgénico en líneas celulares de cáncer.

Figura 7: Actividad antagonista para glucocorticoides de CB-03-10 y CB-03-05. Se usa mifepristona como control positivo (potente antagonista glucocorticoides)

30 Figura 8: Actividad antagonista para glucocorticoides de CB-03-10 y CB-03-05, se usa dexametasona (Dex) como control positivo (potente antagonista glucocorticoides)

Figura 9: Inducción por CB-03-10 de la apoptosis en células MiaPaca2.

Figura 10: Inducción de la interrupción del ciclo celular por diferentes concentraciones de CB-03-10 en células MiaPaca2.

35 Figura 11: Transcurso del tiempo de la activación de caspasas en células MiaPaca2 (8-24-48 horas). 20 μM (barras rayadas) o 50 μM (barras sólidas) indican las concentraciones de compuestos. La gemcitabina es un potente fármaco citotóxico antipancreático usado y control positivo.

Figura 12: Activación de caspasa sobre líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP.

Figura 13: metabolismo *in vitro* de CB-03-10 y CB-03-05 en plasma humano (A) y de rata (B).

40 Figura 14: Farmacocinéticas de CB-03-10 y CB-03-05 evaluadas *in vivo* en plasma de ratones después de la administración subcutánea y oral.

Figura 15: Actividad antitumoral *in vivo* de CB-03-10 en el modelo de xenoinjerto en ratones de cáncer pancreático cuando se administra subcutáneamente.

45 Figura 16: Actividad antitumoral *in vivo* de CB-03-10 en un modelo de xenoinjerto en ratones de cáncer de próstata cuando se administra mediante sonda oral. La enzalutamida (Enza), un potente fármaco citotóxico antiprostático, se usa como control positivo. Los presentes resultados muestran que el CB-03-10 frente a vehículo es significativamente diferente estadísticamente del día 7 hasta el día 60. En contraste, enzalutamida frente a vehículo es estadísticamente significativo sólo los días 14 y 25. Esta comparación muestra que CB-03-10 alcanza una alta significación estadística frente al vehículo mientras que la enzalutamida no alcanza significación estadística frente al vehículo.

50 Figura 17: Inhibición por CB-03-10 y CB-03-05 de la secreción de PSA de referencia *in vitro* desde líneas celulares cancerosas LNCaP.

Figura 18: Expresión de receptores androgénico y glucocorticoideo en diferentes líneas celulares de cáncer.

Según se usan en la presente, los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" se refieren a tratamiento terapéutico incluyendo la reducción o mejora de la progresión, la gravedad y/o la duración de una enfermedad, un trastorno o una afección, o la mejora de uno o más síntomas (específicamente, uno o más síntomas discernibles) de una enfermedad, un trastorno o una afección, resultantes de la administración de una o más terapias (p. ej., uno o más agentes terapéuticos tales como un compuesto o una composición de la invención). En realizaciones específicas, el tratamiento terapéutico incluye la mejora de al menos un parámetro físico medible de una enfermedad, un trastorno o una afección. En otras realizaciones, el tratamiento terapéutico incluye la inhibición de la progresión de una afección, bien físicamente mediante, p. ej., la estabilización de un síntoma discernible, bien fisiológicamente mediante, p. ej., la estabilización de un parámetro físico, o bien ambos. En otras realizaciones, el tratamiento terapéutico incluye la reducción o la estabilización de una enfermedad, un trastorno o una afección. El término "tratamiento curativo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un tratamiento que tiene por objeto curar una enfermedad o mejorar síntomas asociados con una enfermedad.

El término "tratamiento paliativo", según se usa en la presente memoria, se refiere a un tratamiento o una terapia que no tenga por objeto curar una enfermedad sino en cambio proporcionar alivio.

El término "tratamiento adyuvante", según se usa en la presente memoria, se refiere a un tratamiento que se da además del tratamiento primario, principal o inicial.

El término "tratamiento neoadyuvante", según se usa en la presente memoria, se refiere a un tratamiento que se da antes de un tratamiento principal, con objeto de reducir el tamaño o la extensión de un tumor, reduciendo así las consecuencias de una técnica de tratamiento más extensiva que se requeriría si el tumor no se hubiera reducido en tamaño o extensión.

Según se describe en las reivindicaciones, los compuestos de la invención cuando esté indicado están opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como los ilustrados generalmente más adelante, o según se ejemplifica por especies particulares de la invención. Se apreciará que la expresión "opcionalmente sustituido" se usa intercambiamente con la expresión "sustituido o no sustituido". En general, el término "sustituido", esté o no precedido por el término "opcionalmente", se refiere a la sustitución de uno o más radicales hidrógeno en una estructura dada por el radical de un sustituyente especificado. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo. Cuando más de una posición en una estructura dada pueda estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser bien el mismo o bien diferente en cada posición. Cuando el término "opcionalmente sustituido" sigue a una lista, dicho término se refiere a todos los grupos sustituibles anteriores de esa lista. Si un radical o una estructura sustituyente no se identifica o define como "opcionalmente sustituido", el radical o la estructura sustituyente no está sustituido.

La selección de sustituyentes y combinaciones de sustituyentes prevista por esta invención es la que da como resultado la formación de compuestos estables o químicamente viables. El término "estable", según se usa en la presente memoria, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones para permitir su producción, detección y, específicamente, su recuperación, purificación y uso con uno o más de los propósitos divulgados en la presente memoria. En algunas realizaciones, un compuesto estable o un compuesto químicamente viable es uno que no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana. Solo se contemplan las posibilidades y combinaciones de sustituyentes que den como resultado una estructura estable. Estas posibilidades y combinaciones serán evidentes para los expertos en la técnica y se pueden determinar sin experimentación excesiva.

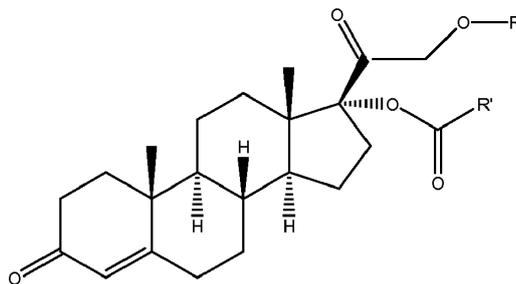
El término "administración simultánea, separada o secuencial" se refiere en la presente memoria a la administración del primer y el segundo compuesto al mismo tiempo o de tal modo que los dos compuestos actúen en el cuerpo del paciente al mismo tiempo o la administración de un compuesto después del otro compuesto de tal modo que se proporcione un efecto terapéutico. En algunas realizaciones, los compuestos se toman con una comida. En otras realizaciones, los compuestos se toman después de una comida, tal como 30 minutos o 60 minutos después de una comida. En algunas realizaciones, un compuesto se administra a un paciente durante un período de tiempo seguido por la administración del otro compuesto.

Según se usan en la presente memoria, los términos "sujeto" y "paciente" se usan intercambiamente. Los términos "sujeto" y "paciente" se refieren a un animal (p. ej., un ave tal como un pollo, una codorniz o un pavo, o un mamífero), específicamente un "mamífero" incluyendo un animal distinto de un primate (p. ej., una vaca, un cerdo, un caballo, una oveja, un conejo, una cobaya, una rata, un gato, un perro y un ratón) y un primate (p. ej., un mono, un chimpancé y un ser humano), y más específicamente un ser humano. En una realización, el sujeto es un ser humano.

55 Descripción detallada de la invención

Se ha descubierto ahora sorprendentemente que algunos derivados de cortexolona tienen propiedades antitumorales terapéuticamente interesante, contra tumores, preferiblemente tumores epiteliales y/o dependientes de hormonas.

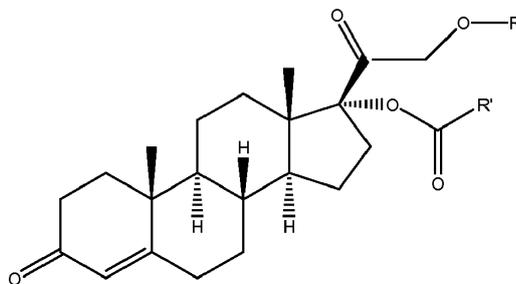
Según el concepto general, se divulgan compuestos de fórmula (I)



(I)

- 5 en donde R es hidrógeno o C(O)-R₁, en donde R₁ es una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido. Se divulgan en la presente memoria compuestos de fórmula (I) en donde R es hidrógeno o C(O)-R₁, en donde R₁ CH₂CH₃ y en donde R' es -(CH₂)₃-CH₃ o fenilo.

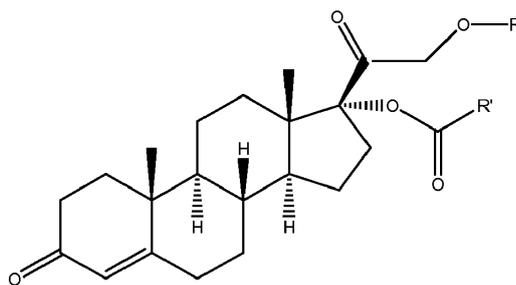
Un objetivo de la presente invención está representado por los compuestos de fórmula I



(I)

- 10 en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R₁ y R' no son iguales.

Un objetivo de la presente invención está representado por los compuestos de fórmula I

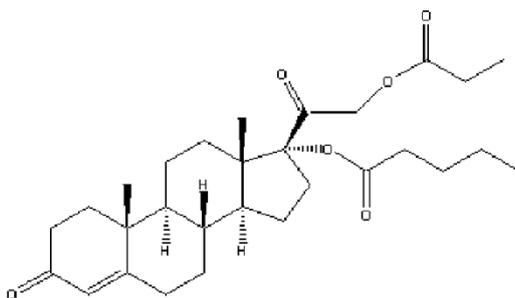


(I)

- 15 en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R₁ y R' no son iguales.

Compuestos preferidos de fórmula (I) son aquellos en los que R es C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o CH₂CH₃ y en los que R' es -(CH₂)₃-CH₃ o fenilo, en los que R₁ y R' no son iguales.

- 20 Compuestos preferidos de fórmula (I) son aquellos en los que R es C(O)-R₁, en donde R₁ es CH₂CH₃ y en los que R' es -(CH₂)₃-CH₃ o fenilo, en los que R₁ y R' no son iguales. El compuesto más preferido de fórmula (I) es el compuesto en el que R es C(O)-R₁, en donde R₁ es CH₂CH₃ y en donde R' es -(CH₂)₃-CH₃, que es 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (también denominado en la presente memoria "10" o "CB-03-10"), cuya fórmula se muestra en la presente memoria a continuación:

17 α -valerato-21-propionato de cortexolona(17 α -Valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10))

5 A menos que se indique otra cosa, se entiende además que las estructuras representadas en la presente memoria incluyen todas las formas isómeras (p. ej., enantiómeras, diastereoisómeras, cis-trans, conformacionales y rotacionales) de la estructura. Por ejemplo, se incluyen en esta invención las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace (Z) y (E) e isómeros conformacionales (Z) y (E), a menos que solo se dibuje específicamente uno solo de los isómeros. Como se entenderá por un experto en la técnica, un sustituyente puede girar libremente alrededor de cualesquiera enlaces rotatorios. Por lo tanto, están dentro del alcance de la invención

10 isómeros estereoquímicos individuales así como mezclas enantiómeras, diastereoisómeras, cis/trans, conformacionales y rotacionales de los presentes compuestos.

A menos que se indique otra cosa, todas las formas tautómeras de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

15 Adicionalmente, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas en la presente memoria también están destinadas a incluir compuestos que difieran solamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C están dentro del alcance de esta invención. Estos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos. Estos compuestos, especialmente los análogos deuterados, también pueden ser terapéuticamente útiles.

20 Los compuestos de la invención se definen en la presente memoria por sus estructuras químicas y/o nombres químicos. Cuando un compuesto se mencione tanto por su estructura química como por un nombre químico, y la estructura química y el nombre químico entren en conflicto, la estructura química es determinante de la identidad del compuesto.

Sales farmacéuticamente aceptables y clatratos

25 Los compuestos descritos en la presente memoria pueden existir en forma libre o, cuando sea apropiado, como sales. Las sales que son farmacéuticamente aceptables son de particular interés ya que son útiles para administrar los compuestos descritos posteriormente con propósitos médicos. Sales que no son farmacéuticamente aceptables son útiles en procedimientos de fabricación, con propósitos de aislamiento y purificación y, en algunos casos, para el uso en la separación de formas estereoisómeras de los compuestos de la invención o productos intermedios de los mismos.

30

Según se usa en la presente memoria, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de un compuesto que son, dentro del alcance del juicio médico razonable, adecuadas para el uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin efectos secundarios excesivos, tales como toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y están de acuerdo con una relación beneficio/riesgo razonable.

35 Sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge *et al.*, describen con detalle sales farmacéuticamente aceptables en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. Sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente memoria incluyen las derivadas de ácidos y bases inorgánicas y orgánicas adecuadas. Estas sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos.

40 Se debe entender que esta invención incluye mezclas/combinaciones de diferentes sales farmacéuticamente aceptables y también mezclas/combinaciones de compuestos en forma libre y sales farmacéuticamente aceptables.

Además de los compuestos descritos en la presente memoria, solvatos (p. ej., hidratos) y clatratos farmacéuticamente aceptables de estos compuestos también se pueden emplear en composiciones para tratar o prevenir los trastornos identificados en la presente memoria.

Según se usa en la presente memoria, el término "solvato farmacéuticamente aceptable" es un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptable con uno de los compuestos descritos en la presente memoria. El término solvato incluye hidratos (p. ej., hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato y similares).

- 5 Según se usa en la presente memoria, el término "hidrato" significa un compuesto descrito en la presente memoria o una sal del mismo que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes.

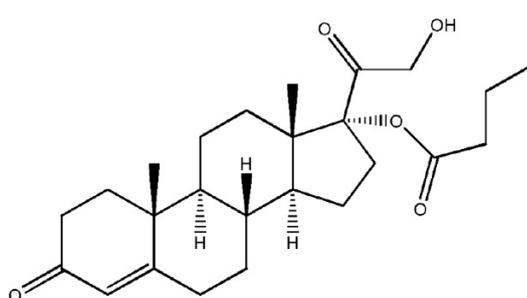
- 10 Según se usa en la presente memoria, el término "clatrato" significa un compuesto descrito en la presente memoria o una sal del mismo en la forma de una red cristalina que contienen espacios (p. ej., canales) que tienen una molécula huésped (p. ej., un disolvente o agua) atrapada dentro.

Además de los compuestos descritos en la presente memoria, también se pueden emplear derivados o profármacos de estos compuestos en composiciones para tratar o prevenir los trastornos identificados en la presente memoria .

Usos médicos

- 15 Otro objetivo de la presente invención está representado por los compuestos de fórmula (I) que se definen en la reivindicación 1 para el uso como un medicamento.

También se divulga en la presente memoria el 17 α -valerato de cortexolona (también denominado en la presente memoria "05" o "CB-03-05"), representado por:



(CB-03-05 (17 α -valerato de cortexolona))

- 20 para el uso como un medicamento.

Se divulgan en la presente memoria compuestos para el uso como un medicamento, tales como 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05).

En otra realización, la presente invención son composiciones y composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I) como los definidos en la reivindicación 1 para el uso como un medicamento.

- 25 Se divulgan en la presente memoria composiciones y composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05) para el uso como un medicamento.

- 30 Se describen en la presente compuestos de fórmula (I), incluyendo 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05) para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo.

- 35 En otra realización, la presente invención son composiciones y composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I) según se definen en la reivindicación 1 para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo. Se divulgan en la presente memoria composiciones y composiciones farmacéuticas que comprenden 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05) para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo.

- 40 En otro aspecto más, la invención se refiere a dichos compuestos de fórmula (I) que se definen en la reivindicación 1 para el uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediados por glucocorticoide. Se divulgan en la presente memoria los compuestos para el uso en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno mediados por glucocorticoide 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05).

También se divulgan en la presente memoria compuestos de fórmula (I), incluyendo 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05), para el uso en el tratamiento de lesiones

precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo.

5 Idealmente, los compuestos de fórmula (I), incluyendo 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05), son para el uso como un agente antitumoral. En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata, carcinoma pancreático (preferiblemente carcinoma pancreático exocrino), carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon) y carcinoma mamario (preferiblemente cáncer de mama triple negativo).

10 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, el cáncer de próstata es un adenocarcinoma. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con expresión de AR ausente o reducida. En otra realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados.

15 Idealmente, los compuestos de fórmula (I), incluyendo 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05), son para el uso como un agente antitumoral donde las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. Un uso particularmente ventajoso de los compuestos de fórmula (I), incluyendo 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05), es para el uso en el tratamiento de cánceres de próstata que son o se hacen resistentes a tratamiento antiandrogénico, tal como enzalutamida. Esta es una realización particularmente ventajosa de la invención ya que se ha encontrado recientemente que después de 6 meses de tratamiento 30% de los cánceres de próstata se hacen resistentes a enzalutamida debido a que el AR ha mutado o cambiado. De forma interesante, estas células cancerosas resistentes regulan al alza el GR. Los compuestos de fórmula (I), incluyendo 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05), se pueden usar para tratar estos cánceres de modo que la actividad también esté mediada a través del GR.

20 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, el carcinoma pancreático exocrino es un adenocarcinoma. En una realización preferida, el cáncer pancreático exocrino tiene expresión ausente o reducida del AR.

25 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dicho tumor epitelial es carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon).

30 En una realización preferida más de la invención divulgada en la presente memoria, dicho tumor epitelial es carcinoma mamario (preferiblemente cáncer de mama triple negativo). Opcionalmente, el sujeto o paciente que se trata es uno que no responde al tratamiento o uno que recae del tratamiento convencional.

35 En una realización preferida, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula (I), en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo. Idealmente, el compuesto es para el uso como un agente antitumoral.

40 En una realización preferida, la presente invención proporciona los compuestos de fórmula (I), en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo. Idealmente, el compuesto es para el uso como un agente antitumoral.

45 En otra realización, la presente invención proporciona el compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ CH₂CH₃, y en donde R' es -(CH₂)₃-CH₃, que es 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (en la presente memoria también denominado "10" o "CB-03-10"), para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo. Idealmente, el compuesto es para el uso como un agente antitumoral.

50 En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares.

En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata, carcinoma pancreático (preferiblemente carcinoma pancreático exocrino), carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon) y carcinoma mamario (preferiblemente cáncer de mama triple negativo).

5 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, el cáncer de próstata es un adenocarcinoma. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con expresión mutada, ausente o reducida del AR.

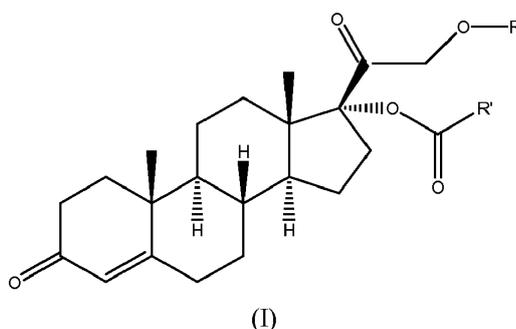
10 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, el carcinoma pancreático exocrino es un adenocarcinoma. En una realización preferida, el cáncer pancreático exocrino tiene expresión ausente o reducida del AR.

Otro objetivo de la presente invención está representado por los compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1, para el uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo. También se divulgan en la presente memoria compuestos para el uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis, que son 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05). Idealmente, los compuestos de fórmula (I) son para el uso en la fabricación de un agente antitumoral. Se divulgan en la presente memoria compuestos para el uso en la fabricación de agentes antitumorales, que son 17α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α -valerato de cortexolona (CB-03-05).

25 En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares.

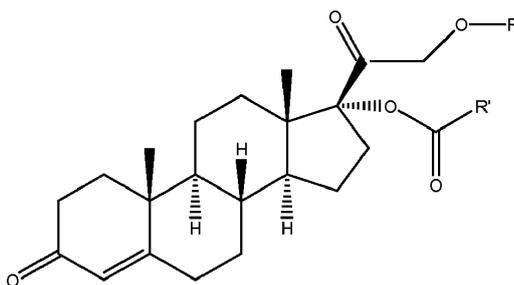
En otro aspecto, la invención se refiere a dichos compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1, para el uso en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o un trastorno mediados por glucocorticoide.

30 En un aspecto, la invención divulgada en la presente memoria proporciona los compuestos de fórmula (I) para el uso en un método para tratar lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I):



35 en donde R es $C(O)-R_1$, en donde R_1 es hidrógeno o una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R_1 y R' no son iguales, a un sujeto que lo necesite. Preferiblemente, dicho sujeto es un mamífero. Preferiblemente, dicho mamífero es un ser humano.

40 En un aspecto, la invención divulgada en la presente memoria proporciona los compuestos de fórmula (I) para el uso en un método para tratar lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I):



(I)

- 5 en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R₁ y R' no son iguales, a un sujeto que lo necesite. Preferiblemente, dicho sujeto es un mamífero. Preferiblemente, dicho mamífero es un ser humano.
- En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, particularmente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma uterino, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo y carcinoma suprarrenal y similares.
- 10 En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, particularmente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma uterino, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares.
- En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata o carcinoma pancreático, más preferiblemente carcinoma pancreático exocrino o carcinoma mamario, tal como cáncer de mama triple negativo. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con expresión de AR ausente o reducida. En otra realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. De este modo, el cáncer de próstata que se puede tratar según la invención puede ser o volverse resistente a una terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida.
- 15 20 Según una realización preferida, dicho método comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales, a un mamífero que lo necesite.
- Según una realización preferida, dicho método comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales, a un mamífero que lo necesite. En la realización más preferida, dicho método comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, R₁ es CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃, que es 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10).
- 25 30 En un aspecto, se divulga en la presente memoria un método para tratar lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz de 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05), a un sujeto que lo necesite. Preferiblemente, dicho sujeto es un mamífero. Preferiblemente, dicho mamífero es un ser humano.
- En una realización, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, particularmente tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo, carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma uterino, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo y carcinoma suprarrenal y similares.
- 35 40 En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata o carcinoma pancreático, más preferiblemente carcinoma pancreático exocrino o carcinoma mamario, tal como cáncer de mama triple negativo. Los compuestos de la presente invención se pueden usar en diferentes aplicaciones terapéuticas, especialmente aplicaciones oncológicas. Con más detalles, los compuestos según la invención divulgada en la presente memoria se han encontrado particularmente eficaces para el tratamiento curativo o adyuvante o neoadyuvante o paliativo de carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino, y carcinoma prostático. Una ilustración de las propiedades farmacológicas de los compuestos de la invención se encontrará posteriormente en la sección experimental.
- 45 Los compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 se pueden preparar según cualquier método convencional, por ejemplo mediante los procedimientos divulgados en el documento WO03/014141 y en el documento WO2009/019138. Según una realización de la invención, el 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) se

puede preparar según el método divulgado en el ejemplo 11. Por otra parte, el ejemplo 11 también divulga la producción del compuesto 17.alfa.-valerato de cortexolona (CB-03-05), que no forma parte de la presente invención.

Composiciones farmacéuticas

5 Los compuestos descritos en la presente se pueden formular en composiciones farmacéuticas que comprenden además un portador, diluyente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención descrita en la presente memoria y un portador, diluyente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización, la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador, diluyente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticos seleccionados adecuadamente con respecto a la forma de administración pretendida, y de acuerdo con prácticas farmacéuticas convencionales.

15 Otro objetivo de la presente invención está representado por una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, al menos un compuesto de fórmula (I), en donde R es -C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R₁ y R' no son iguales, en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable. Otro objetivo de la presente invención está representado por una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, al menos un compuesto de fórmula (I), en donde R es -C(O)-R₁, en donde R₁ es una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido, en donde R₁ y R' no son iguales, en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable. Según una realización preferida de la invención, dicha composición farmacéutica comprende, como ingrediente activo, al menos un compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es hidrógeno o -CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales.

25 Según una realización preferida de la invención, dicha composición farmacéutica comprende, como ingrediente activo, al menos un compuesto de fórmula (I) en donde R es C(O)-R₁, en donde R₁ es CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o un grupo fenilo, en donde R₁ y R' no son iguales. Según la realización más preferida, dicha composición farmacéutica comprende, como ingrediente activo, 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10), en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable. También se divulga en la presente memoria una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, 17α-valerato de cortexolona (CB-03-05) en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable.

35 En un objetivo adicional, los compuestos y las composiciones farmacéuticas de la invención son para el uso como un medicamento, preferiblemente en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis; según otro aspecto, este tratamiento puede ser curativo, adyuvante, neoadyuvante o paliativo. De este modo, se usan como agentes antitumorales. Preferiblemente, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos. Más preferiblemente, dichos tumores sólidos son tumores epiteliales, tales como, a modo de ejemplo carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares. En una realización preferida de la invención divulgada en la presente memoria, dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata y carcinoma pancreático, más preferiblemente carcinoma pancreático exocrino o carcinoma mamario, tal como cáncer de mama triple negativo. En otra realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. Idealmente, las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I), incluyendo 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α-valerato de cortexolona (CB-03-05), son para el uso como un agente antitumoral donde las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. De este modo, el cáncer de próstata que se puede tratar según la invención puede ser o volverse resistente a una terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida.

50 Se divulgan en la presente memoria composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de fórmula (I), que incluyen 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y 17α-valerato de cortexolona (CB-03-05), para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo.

55 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en forma aislada, tal como, a modo de ejemplo, polvos, polvos criosecados, gránulos, pellas, comprimidos o cápsulas. Si se desea, también se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes. Los compuestos de la invención también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes. Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y envueltas tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos muy conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Excipientes apropiados para composiciones farmacéuticas sólidas se pueden seleccionar, sin ninguna limitación, entre categorías conocidas para un experto en la técnica tales como adsorbentes, cargas, tensioactivos, adyuvantes de compresión, aglutinantes, lubricantes, desintegrantes, diluyentes, disgregantes, agentes promotores del flujo, agentes de criosecado, deslizantes,

60

adyuvantes de liofilización, agentes pelliculígenos, tintes, antioxidantes y similares. A modo de ejemplo, excipientes adecuados para composiciones farmacéuticas sólidas se pueden seleccionar, de un modo no limitativo, de fosfato cálcico, estearato magnésico, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa y derivados de la misma, polivinilpirrolidona, agentes de revestimiento, tintes y cera. Cualquier mezcla de estos excipientes se puede usar apropiadamente según la invención.

Según la invención, composiciones farmacéuticas sólidas tales como comprimidos, gránulos, pellas, cápsulas y similares se pueden formular como formas de liberación inmediata o como formas de liberación retardada o como formas de liberación controlada o como formas de liberación extendida o como formas de liberación prolongada, y son adecuadas para la vía de administración oral o sublingual o como un implante.

La composición controlada, extendida y/o prolongada se puede preparar según cualquier método o sistema convencional, por ejemplo según el documento WO00/76478.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma líquida, por ejemplo, soluciones, emulsiones, suspensiones o jarabes. Formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen, pero no se limitan a, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también incluyen adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, saborizantes y perfumantes. Excipientes apropiados para una composición farmacéutica líquida se pueden seleccionar, sin ninguna limitación, entre las categorías bien conocidas para un experto en la técnica, tales como disolventes, codisolventes, vehículos oleaginosos, agentes tamponadores, tensioactivos, agentes emulsionantes, agentes mejoradores de la solubilidad, agentes de suspensión, agentes solubilizadores, agentes quelantes, agentes acidificantes, agentes alcalinizantes, antioxidantes, conservantes, agentes osmóticos, agentes de tonicidad, agentes de control de la viscosidad y similares. A modo de ejemplo, excipientes farmacéuticos adecuados para una preparación líquida se pueden seleccionar de agua para inyecciones, disolventes o codisolventes orgánicos tales como etanol, glicoles y glicerol y mezclas de los mismos, aceites naturales tales como aceite de soja, triglicéridos de cadena media, 15-hidroxistearato de polioxilo, polisorbato 80, polioxil-35-aceite de ricino, cloruro sódico, fosfato sódico, fosfato potásico, y similares. Según la invención, dichas composiciones farmacéuticas líquidas pueden ser estériles o no estériles. En una realización, las composiciones farmacéuticas líquidas se esterilizan terminalmente por medio de una técnica muy conocida para un experto en la especialidad, tal como esterilización con calor seco, esterilización con calor húmedo, radiación gamma, esterilización con rayos e y similares. En otra realización, las composiciones farmacéuticas líquidas se esterilizan mediante filtración estéril y se cargan asépticamente en los recipientes de envasado principales finales. Las composiciones farmacéuticas líquidas según la invención divulgada en la presente memoria se pueden usar como inyecciones, infusiones o perfusiones tales como administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea o intratumoral.

Métodos de administración

Los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria se pueden administrar oralmente, parenteralmente, mediante un aerosol de inhalación, tópicamente, rectalmente, nasalmente, bucalmente, vaginalmente o a través de un depósito implantado. El término "parenteral", según se usa en la presente memoria, incluye, pero no se limita a, técnicas de inyección o infusión subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intrahepáticas, intralesionales e intracraneales. Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, se pueden formular según la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable. Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención bacteriana, o al incorporar agentes esterilizantes en la forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes del uso.

Formas inyectables estériles de los compuestos y las composiciones descritos en la presente memoria pueden ser una suspensión acuosa u oleaginosa. Las suspensiones se pueden formular según técnicas conocidas en la especialidad usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable.

Los compuestos para el uso en la invención se pueden formular en forma de dosificación unitaria. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas como dosificación unitaria para sujetos sometidos a tratamiento, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, opcionalmente en asociación con un portador farmacéutico adecuado. La forma de dosificación unitaria puede ser para una sola dosis diaria o una de múltiples dosis diarias (p. ej., de aproximadamente 1 a 4 o más veces al día). Cuando se usan múltiples dosis diarias, la forma de dosificación unitaria puede ser igual o diferente para cada dosis.

Según la invención, los compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 o las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos se administran preferiblemente mediante inyección intravenosa, más preferiblemente a través de una bolsa de infusión o una jeringa o un catéter de bomba, o mediante inyección intramuscular, o mediante inyección subcutánea, o por vía oral (por boca) en formas de comprimidos o cápsulas.

- 5 Según una realización, dicha composición farmacéutica está en forma líquida y es adecuada para inyección, y comprende un compuesto derivado de cortexolona de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 en una cantidad que varía de 0,1% a 50,0% por ciento en volumen (p/v), preferiblemente de 0,25% a 25% p/v, más preferiblemente de 0,5% a 10% p/v, mucho más preferiblemente de 1% a 5% p/v.

- 10 Según otra realización, dicha composición farmacéutica está en forma sólida y comprende un compuesto derivado de cortexolona de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 en una cantidad que varía de 0,1% a 50% de peso en peso (p/p), preferiblemente de 0,5% a 40% p/p, más preferiblemente de 1% a 30% p/p.

- 15 La cantidad del al menos un compuesto de fórmula (I) en dicha composición farmacéutica es tal que se puede obtener un nivel de dosificación eficaz al administrar a un mamífero que sufre lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis. Los compuestos de fórmula (I) y la composición farmacéutica que comprende los mismos como ingredientes activos antitumorales para el uso en el tratamiento curativo o adyuvante o neoadyuvante o paliativo de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo neoplasias malignas y metástasis, se administran preferiblemente a un mamífero, siendo dicho mamífero un ser humano o un animal, preferiblemente un ser humano.

Terapia de combinación

- 20 Según otra realización, los compuestos, las composiciones y las composiciones farmacéuticas pueden contener al menos otro ingrediente activo, preferiblemente un ingrediente activo quimioterapéutico, como una combinación para administración simultánea, separada o secuencial.

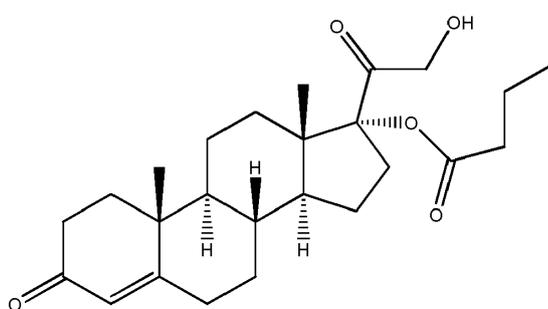
- 25 En ciertas realizaciones, los compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 y la composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable según la invención se pueden usar en una terapia de combinación con al menos otro fármaco, especialmente un fármaco quimioterapéutico.

- 30 En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden administrar paralelamente con la administración de otro fármaco, especialmente un fármaco quimioterapéutico. En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención se pueden administrar antes de o posteriormente a la administración de otro fármaco, especialmente un fármaco quimioterapéutico. Dicho al menos otro fármaco, especialmente un fármaco quimioterapéutico, puede ser eficaz para tratar una enfermedad, un trastorno o una afección igual o diferente.

- 35 Métodos de administración pueden incluir uno o más compuestos de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 o composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de fórmula (I) según se define en la reivindicación 1 de la presente invención y al menos otro fármaco, preferiblemente un fármaco quimioterapéutico, con la condición de que la administración combinada no inhiba la eficacia terapéutica del uno o más compuestos de la presente invención y/o no produzca efectos adversos inaceptables de la combinación.

17 α -Valerato de cortexolona (también denominado en la presente memoria "05" o "CB-03-05")

Según se describe anteriormente, también se divulga en la presente memoria 17 α -valerato de cortexolona (también denominado en la presente memoria "05" o "CB-03-05"), representado por:



40

CB-03-05 (17 α -valerato de cortexolona)

para el uso como un medicamento.

Idealmente, el 17 α -valerato de cortexolona es para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo opcionalmente neoplasias malignas y metástasis. Preferiblemente,

el 17 α -valerato de cortexolona es para el uso como un agente antitumoral. Preferiblemente, las enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales. Los tumores epiteliales se pueden seleccionar de carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático (preferiblemente cáncer pancreático exocrino); carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; y carcinoma suprarrenal.

Según una realización, el tumor epitelial es un carcinoma de próstata. En otra realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. De este modo, el cáncer de próstata que se puede tratar con un medicamento según la invención puede ser o haberse vuelto resistente a terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida.

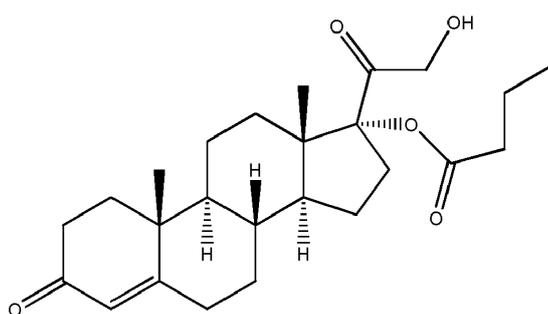
Según otra realización, los tumores epiteliales son carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino.

Según una realización, los tumores epiteliales son carcinoma mamario, preferiblemente cáncer de mama triple negativo (TNBC). En una realización, el carcinoma mamario es cáncer de mama triple negativo y el sujeto es uno que ha recaído o uno que responde mal al tratamiento con terapia convencional.

Según otra realización, los tumores epiteliales son carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon.

Según otra realización, el 17 α -valerato de cortexolona es para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo.

Según se divulga en la presente memoria, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la siguiente fórmula estructural:



y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable para el uso como un medicamento, preferiblemente en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo opcionalmente neoplasias malignas y metástasis. Preferiblemente, dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático; carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; carcinoma suprarrenal.

Según otra realización, dicho tumor epitelial es carcinoma de próstata. En otra realización preferida de la invención, las enfermedades tumorales son cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. De este modo, el cáncer de próstata que se puede tratar según la invención puede ser o volverse resistente a una terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida.

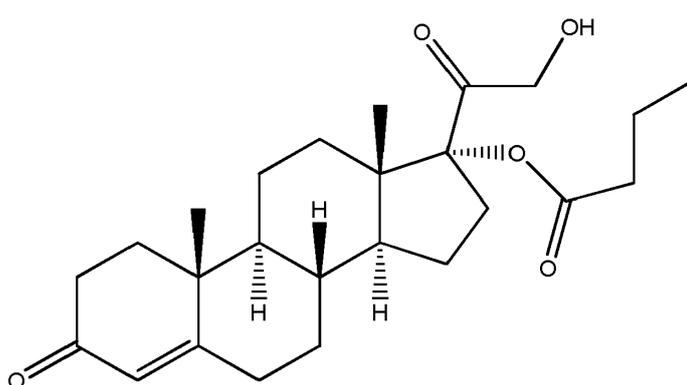
Según otra realización, los tumores epiteliales son carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino.

Según otra realización, los tumores epiteliales son carcinoma mamario, preferiblemente cáncer de mama triple negativo (TNBC). En una realización, el carcinoma mamario es cáncer de mama triple negativo y el sujeto es uno que ha recaído o uno que responde mal al tratamiento con terapia convencional.

Según otra realización, los tumores epiteliales son carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon.

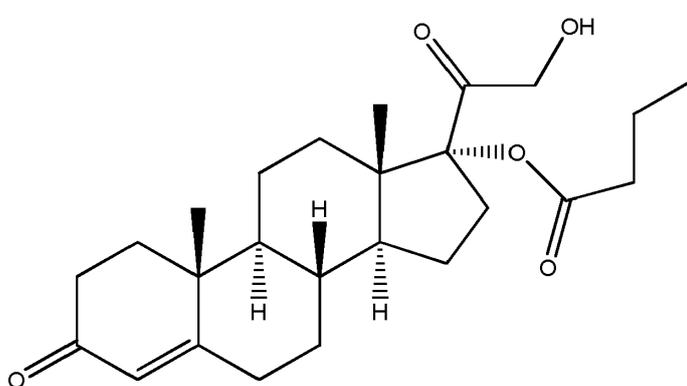
La composición farmacéutica también puede comprender al menos otro ingrediente activo, preferiblemente un ingrediente activo quimioterapéutico, para la administración simultánea, separada o secuencial.

Según se divulga en la presente memoria, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la siguiente fórmula estructural:



y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente un antagonista glucocorticoideo.

- 5 Según se divulga en la presente memoria, se proporciona un método para tratar lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la siguiente fórmula estructural:



o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a dicho sujeto.

Las enfermedades tumorales pueden ser neoplasias malignas o metástasis.

- 10 Preferiblemente, el sujeto es un mamífero. Idealmente, el mamífero es un ser humano.

Las enfermedades tumorales pueden ser tumores sólidos. Opcionalmente, los tumores sólidos son tumores epiteliales. Los tumores epiteliales se pueden seleccionar de carcinoma de próstata, carcinoma mamario, carcinoma uterino, carcinoma pancreático, carcinoma pulmonar, carcinoma del tracto gastrointestinal (preferiblemente carcinoma de colon), cáncer renal, carcinoma tiroideo, carcinoma uterino y carcinoma suprarrenal y similares.

- 15 Los tumores epiteliales pueden ser carcinoma de próstata, carcinoma pancreático, carcinoma pancreático exocrino o carcinoma mamario.

Dicho tumor epitelial puede ser carcinoma de próstata. Las enfermedades tumorales pueden ser cáncer de próstata con receptores androgénicos mutados o truncados. De este modo, el cáncer de próstata que se puede tratar con compuestos de la invención puede ser o volverse resistente a terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida.

- 20 Los tumores epiteliales pueden ser carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino.

El carcinoma mamario puede ser cáncer de mama triple negativo. El carcinoma mamario puede ser cáncer de mama triple negativo y el sujeto es uno que ha recaído o que no responde a terapia convencional.

- 25 Los tumores epiteliales pueden ser carcinoma de tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon. Se divulga en la presente memoria un método para tratar una enfermedad o un trastorno mediados por glucocorticoide, en un sujeto que lo necesite, comprendiendo el método administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de 17α-valerato de cortisone o una composición farmacéutica que comprende 17α-valerato de cortisone.

Ejemplos

Ejemplo 1: actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona (CB-03-06) sobre líneas celulares de cáncer de próstata (Ejemplo comparativo)

5 El experimento se realizó para probar y para definir la actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona sobre LNCaP (AR⁺) y PC3 (AR⁻), representativas de líneas celulares de cáncer de próstata con expresión positiva o negativa de receptor androgénico (AR), respectivamente. El método experimental consistía en:

1. Se sembraron 3000 células cancerosas en placas de fondo plano de 96 pocillos en medio completo que contenía 2% de suero bovino tratado con carbón vegetal.
- 10 2. Después de 24 horas, se añadió a los cultivos DHT (dihidrotestosterona) 10 nM con o sin compuestos antiandrogénicos, o vehículo de DMSO (control negativo).
3. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de proliferación dependiente de ATP.

El objetivo de la prueba era determinar la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) en vista de una aplicación potencial del compuesto en una prueba *in vivo* en animales.

15 Los datos procedentes del Experimento 1 se ajustaron a través de curvas de respuesta a las dosis sigmoideas y se analizaron usando el software de análisis estadístico Prism. Los datos procedentes del Experimento 2 se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software análisis estadístico Prism.

20 El valor de IC₅₀ encontrado para cada línea se presenta en la siguiente tabla, en comparación con comparadores muy conocidos, el esteroide antiandrogénico más potente, CPA, y enzalutamida, un inhibidor del receptor androgénico oral capaz de prolongar la supervivencia en hombres con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración actualmente usado para tratar el cáncer de próstata. Siguen los resultados procedentes de 2 grupos de experimentos.

Experimento 1

Los resultados se ajustaron a través de curvas de respuesta a las dosis sigmoideas en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas celulares tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-06 [17 α -benzoato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|----------------------------|---|--|--|
| LNCaP | 12 | 29 | 40 |
| PC 3 | 29 | 98 | 208 |

25 Los valores de IC₅₀ muestran que la actividad antitumoral del 17 α -benzoato de cortexolona, incluso con una tendencia de correlación débil, se podría considerar no estrictamente dependiente de la expresión de receptor androgénico, de forma diferente a los comparadores.

Experimento 2

30 Los resultados posteriores incluyen experimentos adicionales a los del Experimento 1. Los resultados se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-06 [17 α -benzoato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|---|--|--|
| LNCaP | 12 | 22 | 38 |
| PC3 | 28 | 90 | 180 |

Ejemplo 2: actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) sobre líneas celulares de cáncer de próstata

El experimento se realizó para probar y para definir la actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) sobre LNCaP (AR⁺) y PC3 (AR⁻), representativas de líneas celulares de cáncer prostático con expresión positiva o negativa de AR, respectivamente. El método experimental consistía en:

- 5 1. Se sembraron 3000 células cancerosas en placas de fondo plano de 96 pocillos en medio completo que contenía 2% de suero bovino tratado con carbón vegetal.
2. Después de 24 horas, se añadió a los cultivos DHT (dihidrotestosterona) 10 nM con o sin compuestos antiandrogénicos, o vehículo de DMSO (control negativo).
- 10 3. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de proliferación dependiente de ATP.

El objetivo de la prueba era determinar la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) en vista de una aplicación potencial del compuesto en una prueba *in vivo* en animales.

- 15 Los datos procedentes del Experimento 1 se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis y se analizaron usando el software de análisis estadístico Prism. Los datos procedentes del Experimento 2 se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

El valor de IC₅₀ encontrado para cada línea se presenta en la siguiente tabla, en comparación con comparadores bien conocidos: el esteroide antiandrogénico más potente, CPA, y enzalutamida, un antagonista de AR oral capaz de prolongar la supervivencia en hombres con cáncer de próstata metastásico resistente a la castración.

20 Experimento 1

Los resultados se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-10 [17 α -valerato-21-propionato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|---|--|--|
| LNCaP | 13 | 29 | 40 |
| PC 3 | 55 | 98 | 208 |

Experimento 2

- 25 Los resultados posteriores incluyen experimentos adicionales a los del Experimento 1. Los resultados se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-10 [17 α -valerato-21-propionato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|---|--|--|
| LNCaP | 10 | 22 | 38 |
| PC 3 | 50 | 90 | 180 |

Los valores de IC₅₀ muestran que la actividad antitumoral de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) se podría correlacionar con la expresión de receptor androgénico en las líneas celulares.

- 30 Ejemplo 3: Actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona (CB-03-06) sobre líneas celulares de cáncer pancreático (Ejemplo comparativo)

El experimento se realizó para probar y para definir la actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona sobre dos líneas celulares de tumor pancreático, Panc1 (AR⁺) y MiaPaca2 (AR bajo), representativas de líneas celulares de cáncer pancreático.

Las líneas también se clasificaron como positivas (AR⁺) o negativas/bajas (AR^{+/-}) a la presencia y la expresión del receptor androgénico.

El método experimental consistía en:

- 5 1. Se sembraron 3000 células cancerosas en placas de fondo plano de 96 pocillos en medio completo que contenía 2% de suero bovino tratado con carbón vegetal
2. Después de 24 horas, se añadió a los cultivos DHT (dihidrotestosterona) 10 nM con o sin compuestos antiandrogénicos, o vehículo de DMSO (control negativo).
3. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de proliferación dependiente de ATP.

- 10 El objetivo de la prueba era determinar la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) en vista de una aplicación potencial del compuesto en una prueba *in vivo* en animales.

Los datos procedentes del Experimento 1 se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis y se analizaron usando el software de análisis estadístico Prism. Los datos procedentes del Experimento 2 se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

- 15 El valor de IC₅₀ encontrado para cada línea se presenta en la siguiente tabla, en comparación con los comparadores bien conocidos el esteroide antiandrogénico más potente, CPA, y enzalutamida, un potente antagonista oral de AR

Experimento 1

Los resultados se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-06 [17α-benzoato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|--|--|--|
| Panc1 | 30 | 54 | 156 |
| MiaPaca2 | 23 | 46 | 77 |

20

Experimento 2

Los resultados posteriores incluyen experimentos adicionales a los del Experimento 1. Los resultados se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-06 [17α-benzoato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|--|--|--|
| Panc1 | 28 | 46 | 111 |
| MiaPaca2 | 20 | 39 | 65 |

- 25 Los valores de IC₅₀ muestran que la actividad antitumoral de 17α-benzoato de cortexolona es al menos dos veces superior que la actividad de los comparadores (CPA y enzalutamida). Puesto que MiaPaca2 se caracterizan por una expresión de AR baja/nula, la actividad anticancerosa del compuesto no se correlaciona directamente con la expresión de receptor androgénico en las líneas celulares cancerosas.

- 30 Ejemplo 4: actividad antitumoral *in vitro* de 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) sobre líneas celulares de cáncer pancreático

El experimento se realizó para probar y para definir la actividad antitumoral *in vitro* de 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) sobre líneas celulares representativas de tumores pancreáticos, a saber Panc1 (AR⁺) y MiaPaca2 (AR bajo), representativas de líneas celulares de cáncer pancreático.

Las líneas también se clasificaron como positivas (AR⁺) o negativas/bajas (AR^{+/-}) a la presencia y la expresión del receptor androgénico.

El método experimental consistía en:

- 5 1. Se sembraron 3000 células cancerosas en placas de fondo plano de 96 pocillos en medio completo que contenía 2% de suero bovino tratado con carbón vegetal
2. Después de 24 horas, se añadió a los cultivos DHT (dihidrotestosterona) 10 nM con o sin compuestos antiandrogénicos, o vehículo de DMSO (control negativo).
3. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de proliferación dependiente de ATP.

- 10 El objetivo de la prueba era determinar la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) en vista de una aplicación potencial del compuesto en una prueba *in vivo* en animales.

Los datos procedentes del Experimento 1 se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis y se analizaron usando el software de análisis estadístico Prism. Los datos procedentes del Experimento 2 se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

- 15 El valor de IC₅₀ encontrado para cada línea se presenta en la siguiente tabla, en comparación con comparadores bien conocidos: el esteroide antiandrogénico más potente, CPA, y enzalutamida, un antagonista oral de AR.

Experimento 1

Los resultados se ajustaron a través de curvas sigmoideas de respuesta a la dosis en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-10 [17α-valerato-21-propionato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|--|--|--|
| Panc1 | 66 | 54 | 156 |
| MiaPaca2 | 43 | 46 | 77 |

20

Experimento 2

Los resultados posteriores incluyen experimentos adicionales a los del Experimento 1. Los resultados se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

| Líneas de células tumorales | IC ₅₀ (microM) CB-03-10 [17α-valerato-21-propionato de cortexolona] | IC ₅₀ (microM) Acetato de ciproterona | IC ₅₀ (microM) Enzalutamida |
|-----------------------------|--|--|--|
| Panc1 | 60 | 46 | 111 |
| MiaPaca2 | 37 | 39 | 65 |

- 25 Los valores de IC₅₀ muestran que la actividad antitumoral de 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) no se correlacionan con la expresión del receptor androgénico sobre las líneas celulares de cáncer pancreático.

Ejemplo 5: Xenoinjerto de tumor pancreático humano *in vivo* en ratones (Ejemplo comparativo)

- 30 La actividad de 17α-benzoato de cortexolona (CB-03-06) sobre el crecimiento de un tumor pancreático xenoinjertado en ratones lampiños macho se ha evaluado en comparación con el esteroide antiandrogénico más potente, acetato de ciproterona (CPA).

Se diluyeron separadamente 17α-benzoato de cortexolona y acetato de ciproterona en DMSO/2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (vehículo).

5 La prueba se llevó a cabo comparando la actividad antitumoral de 17 α -benzoato de cortexolona en dos dosificaciones diferentes (8,0 mg/kg, correspondiendo aproximadamente a 230 μ M, y 40 mg/kg, correspondiendo aproximadamente a 1150 μ M), frente al vehículo (es decir 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal) y frente al comparador acetato de ciproterona a dos dosificaciones diferentes (7,4 mg/kg y 37 mg/kg). 1x10⁶ células MiaPaca-2 suspendidas en Matrigel se inyectaron subcutáneamente en ratones lampiños atímicos de 6 semanas de edad.

10 El tratamiento con los compuestos probados, con el vehículo y con el compuesto comparativo se inició después de que el volumen tumoral hubiera alcanzado 50 mm³ después del trasplante. Todos los compuestos se inyectaron en 100 μ l/ratón subcutáneamente de solución de dosis baja (aproximadamente 230 μ M) o 100 μ l/ratón de solución de dosis alta (aproximadamente 1150 μ M) de 17 α -benzoato de cortexolona, vehículo y acetato de ciproterona, respectivamente. Los compuestos y los controles se administraron subcutáneamente diariamente durante 28 días.

Los tumores se midieron cada 4 días con un calibre digital.

Los resultados se representan en la Figura 1 como un cambio medio en el volumen del tumor con relación al inicio del tratamiento. El volumen del tumor se calculó según la fórmula $0,5236(r_1)^2(r_2)$ donde $r_1 < r_2$.

15 Las barras de error son la SEM para de 7 a 10 ratones por grupo de tratamiento. Los valores de P se calcularon según la prueba de la t de Student.

20 La dosis alta de 17 α -benzoato de cortexolona mantenía el incremento del tamaño del tumor pancreático de menos de 5 veces el tamaño del tumor cuando se iniciaba el tratamiento. En contraste, el tumor medio en el vehículo y en los grupos de tratamiento con acetato de ciproterona se incrementaba 12 veces en tamaño. A partir de estos datos, es evidente la actividad antitumoral del compuesto de la presente invención, 17 α -benzoato de cortexolona.

Ejemplo 6 - Xenoinjerto de tumor pancreático humano *in vivo* en ratones

La actividad de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) en el modelo de xenoinjerto de tumor pancreático en ratones lampiños macho se ha evaluado en comparación con el esteroide antiandrogénico acetato de ciproterona (CPA).

25 Se diluyeron separadamente 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) y acetato de ciproterona en DMSO/2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (vehículo).

30 La prueba se llevó a cabo comparando la actividad antitumoral de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) a dos dosificaciones diferentes (aproximadamente 8,6 mg/kg y 43 mg/kg) frente al vehículo (es decir 0,4% (v/v) de Tween 80 y 0,5% (p/v) de carboximetilcelulosa en solución salina normal) y frente al comparador acetato de ciproterona en dos dosificaciones diferentes (7,4 mg/kg y 37 mg/kg).

1x10⁶ células MiaPaca-2 suspendidas en Matrigel se inyectaron subcutáneamente en ratones atímicos de 6 semanas de edad.

35 El tratamiento con el compuesto probado, con el vehículo y con el compuesto comparativo se inició después de que el tumor hubiera alcanzado un volumen de 50 mm³ después del implante, inyectando subcutáneamente 100 μ l/ratón de solución de dosis baja (aproximadamente 230 μ M) o 100 μ l/ratón de solución de dosis alta (aproximadamente 1150 μ M) de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10), vehículo y acetato de ciproterona, respectivamente. Los compuestos y los controles se administraron subcutáneamente diariamente durante 28 días.

Los tumores se midieron cada 4 días con un calibre digital.

40 Los resultados se representan en la Figura 2 como un cambio medio en el volumen del tumor con relación al inicio del tratamiento. El volumen del tumor se calculó según la fórmula $0,5236(r_1)^2(r_2)$ donde $r_1 < r_2$.

Las barras de error son la SEM para de 7 a 10 ratones por grupo de tratamiento. Los valores de P se calcularon según la prueba de la t de Student.

45 La dosis alta de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) mantenía el incremento del tamaño del tumor pancreático hasta menos de 5 veces el tamaño del tumor inicial durante el tiempo de tratamiento. Por otra parte, cuando se detenía el tratamiento, el tamaño del tumor tendía a incrementarse de nuevo, pero con una velocidad y un grado inferiores. En contraste, el tumor medio en el vehículo y en los grupos de acetato de ciproterona se incrementaba en tamaño hasta 12 veces y más, llevando a la necesidad de suprimir algún animal de estos grupos por razones éticas. A partir de estos datos, es evidente la actividad antitumoral del compuesto de la presente invención, 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10).

50 A partir de los datos de los ejemplos 5 y 6, se confirmó la actividad antitumoral *in vivo* de 17 α -benzoato de cortexolona y 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) *in vivo* contra el tumor pancreático, y ambos compuestos tenían una actividad antitumoral superior que el acetato de ciproterona en el mismo modelo en animales (véase la Figura 3).

Ejemplo 7: Índice terapéutico *in vitro* sobre líneas celulares de cáncer pancreático

A fin de evaluar la seguridad de los compuestos que se iban a probar en los experimentos de viabilidad de las líneas celulares, se deben tener en cuenta todos los factores que tengan impacto sobre la supervivencia y la viabilidad celulares. En este sentido, es realmente importante la evaluación de la toxicidad intrínseca del compuesto y los comparadores. La relación a partir de la IC₅₀ de los compuestos sobre células mononucleares de sangre periférica (PBMC) y la IC₅₀ sobre las líneas celulares cancerosas constituyen el índice terapéutico y muestran que es el compuesto más seguro que se va a probar.

5

La IC₅₀ en PBMC se probó en 2 estados de activación diferentes:

estimulado - células que se dividen activamente

10 reposo - células inactivas que no se dividen

Los resultados se presentan en las tablas posteriores, pertinentes para, respectivamente, PBMC estimuladas y PBMC en reposo:

IC₅₀ (microM) sobre PBMC estimuladas

Experimento 1

| Líneas celulares | IC ₅₀ de Benzoato de CB-03-06 [17α-cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de acetato de ciproterona (microM) | IC ₅₀ de enzalutamida (microM) |
|------------------|---|---|---|---|
| Panc1 | 23 | 68 | 52 | 159 |
| MiaPaca2 | 17 | 34 | 39 | 79 |
| PBMC | 113 | 106 | 63 | 52 |

15

Experimento 2

| Líneas celulares | IC ₅₀ de Benzoato de CB-03-06 [17α-cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de acetato de ciproterona (microM) | IC ₅₀ de enzalutamida (microM) |
|------------------|---|---|---|---|
| Panc1 | 28 | 60 | 46 | 110 |
| MiaPaca2 | 20 | 37 | 39 | 65 |
| PBMC | 97 | 94 | 62 | 90 |

En paralelo, los mismos experimentos se han repetido sobre PBMC en reposo obteniendo los presentes resultados siguientes.

20 IC₅₀ (microM) sobre PBMC en reposo

Experimento 1

| Líneas celulares | IC ₅₀ de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de acetato de ciproterona (microM) |
|------------------|---|---|---|
| Panc1 | 23 | 68 | 52 |
| MiaPaca2 | 17 | 34 | 39 |
| PBMC | 100 | 114 | 18 |

Experimento 2

| Líneas celulares | IC ₅₀ de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] (microM) | IC ₅₀ de acetato de ciproterona (microM) |
|------------------|---|---|---|
| Panc1 | 28 | 60 | 46 |
| MiaPaca2 | 20 | 37 | 39 |
| PBMC | 85 | 120 | 84 |

El índice terapéutico (TI) resultante calculado sobre PBMC estimuladas se presenta en las tablas posteriores:

TI en PBMC estimuladas

| Líneas celulares | TI de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] | TI de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] | TI de acetato de ciproterona | TI de enzalutamida |
|------------------|--|--|------------------------------|--------------------|
| Panc1 | 5 | 2 | 1 | 0 |
| MiaPaca2 | 7 | 3 | 2 | 1 |

5

Experimento 2

| Líneas celulares | TI de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] | TI de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] | TI de acetato de ciproterona | TI de enzalutamida |
|------------------|--|--|------------------------------|--------------------|
| Panc1 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| MiaPaca2 | 5 | 3 | 2 | 1 |

y el índice terapéutico resultante calculado sobre PBMC en reposo se presenta en las tablas posteriores:

TI en PBMC en reposo

10 Experimento 1

| Líneas celulares | TI de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] | TI de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] | TI de acetato de ciproterona |
|------------------|--|--|------------------------------|
| Panc1 | 4 | 2 | 0 |
| MiaPaca2 | 6 | 3 | 0 |

Experimento 2

| Líneas celulares | TI de CB-03-06 [17α-Benzoato de cortexolona] | TI de CB-03-10 [17α-Valerato-21-propionato de cortexolona] | TI de acetato de ciproterona |
|------------------|--|--|------------------------------|
| Panc1 | 3 | 2 | 4 |
| MiaPaca2 | 4 | 3 | 1 |

En las tablas, el valor 0 indica una toxicidad superior en PBMC que en las líneas celulares cancerosas

Ejemplo 8: Actividad antitumoral *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona y 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) sobre líneas celulares de cáncer intestinal epitelial

5 El experimento se realizó para probar y definir la actividad anticancerosa *in vitro* de 17 α -benzoato de cortexolona y 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona sobre líneas celulares representativas de tumores intestinales epiteliales, a saber HT29. El método experimental consistía en:

1. Células HT-29 en monocapa se sembraron en: placas de 96 pocillos a una densidad de 2×10^4 células/ml. Las células sembradas se mantuvieron a 37°C en CO₂ al 5% y se dejó que se unieran durante 24 h.

10 2. Posteriormente, las células se incubaron durante 72 h con los compuestos de prueba a cada una de las concentraciones de 0,16, 0,8, 4, 20, 100 y 500 mM.

3. Después de 72 h de tratamiento, se realizó el ensayo colorimétrico de MTT.

El objetivo de la prueba era determinar la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) en vista de una aplicación potencial del compuesto en una prueba en animales *in vivo*.

15 Los datos se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software de análisis estadístico Prism.

El valor de IC₅₀ encontrado para cada línea se presenta en la siguiente tabla.

Inhibición (%) a diferente concentración micromolar para los dos productos sobre HT29

| Concentraciones micromolares | CB-03-10 [17 α -Valerato-21-propionato de cortexolona] | CB-03-06 [17 α -Benzoato de cortexolona] |
|------------------------------|---|---|
| 0,8 | 0,44% | -1,55% |
| 4 | 14,23% | 20,40% |
| 20 | 25,49% | 53,60% |
| 100 | 89,77% | 92,24% |
| 500 | 92,10% | 92,31% |

20 Los valores de IC₅₀ calculados para los dos productos (presentados aquí posteriormente) muestran que ambos compuestos muestran una actividad anticancerosa evidente sobre las HT29.

IC₅₀ calculada (concentración micromolar)

| | |
|----------|-------|
| CB-03-06 | 15,97 |
| CB-03-10 | 34,16 |

Ejemplo 9: Índice terapéutico *in vitro* sobre líneas celulares de cáncer intestinal epitelial

25 A fin de evaluar la seguridad de los compuestos que se iban a probar en los experimentos de viabilidad de las líneas celulares, se deben tener en cuenta todos los factores que tengan impacto sobre la supervivencia y la viabilidad celulares. En este sentido, es realmente importante la evaluación de la toxicidad intrínseca del compuesto y los comparadores. La relación entre la IC₅₀ de los compuestos sobre PBMC y la IC₅₀ sobre líneas celulares cancerosas constituye el índice terapéutico, un parámetro importante para definir la eficacia del producto en condiciones seguras.

La IC₅₀ en PBMC se probó en 2 estados de activación diferentes:

30 Estimulado - células que se dividen activamente

Reposo - células inactivas que no se dividen

El índice terapéutico (TI) resultante calculado sobre PBMC estimuladas y en reposo se presenta en las tablas posteriores:

Experimento 1

| | | | |
|-------------|--|----|--|
| Producto | CB-03-06 (TI) [17 α -Benzoato de cortexolona] | de | CB-03-10 (TI) [17 α -Valerato-21-propionato de cortexolona] |
| Estimuladas | 7 | | 3 |
| Reposo | 6 | | 3 |

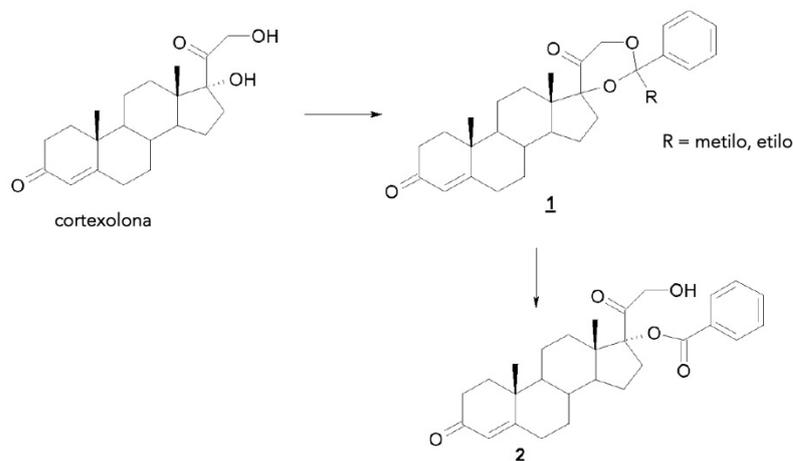
5 Experimento 2

| | | | |
|-------------|--|----|--|
| Producto | CB-03-06 (TI) [17 α -Benzoato de cortexolona] | de | CB-03-10 (TI) [17 α -Valerato-21-propionato de cortexolona] |
| Estimuladas | 6 | | 3 |
| Reposo | 5 | | 4 |

A partir de estos datos, se confirmó la actividad antitumoral y la seguridad del compuesto de la presente invención, 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona, frente a las células cancerosas intestinales epiteliales.

Ejemplo 10 - Síntesis de 17 α -benzoato de cortexolona (Ejemplo comparativo)

- 10 Se preparó 17 α -benzoato de cortexolona según un esquema de síntesis que incluye las siguientes etapas:



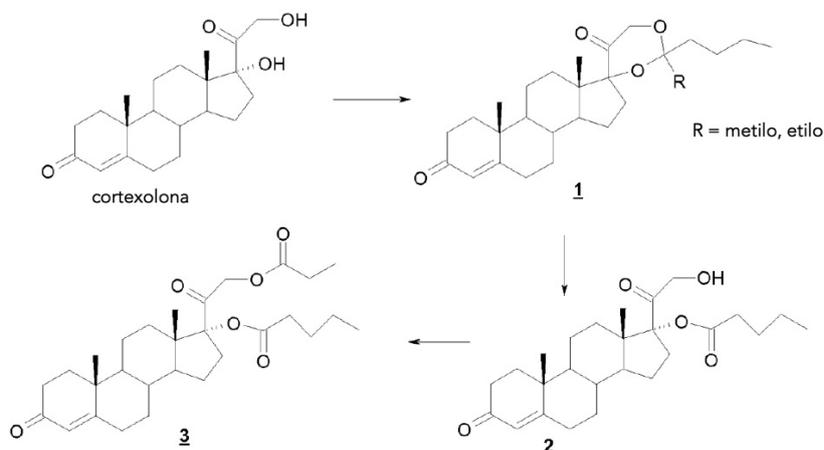
En la Etapa 1, se disolvió cortexolona en un disolvente adecuado (p. ej. acetato de etilo). Se añadió tosilato de piridinio o ácido *p*-toluenosulfónico en cantidad catalítica (1-10% en moles) seguido por ortobenzoato de trialquilo (R = metilo o R= etilo). La mezcla de reacción se calentó hasta 80°C durante de 3 a 6 horas.

- 15 Después de la retirada del disolvente y la cristalización en un disolvente alcohólico, se obtuvo ortobenzoato de cortexolona **1** como un sólido.

En la Etapa 2, se disolvió ortobenzoato de cortexolona **1** (R= metilo o R= etilo) en un disolvente alcohólico (p. ej. metanol) y se trató con tampón acético 0,1 N a reflujo. Después de la retirada del disolvente, el residuo se purificó mediante tratamiento con agua desmineralizada y se recuperó 17- α -benzoato de cortexolona como un sólido.

Ejemplo 11 - Síntesis de 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) (3) y 17 α -valerato de cortexolona (CB-03-05) (2)

Se preparó 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10) según el siguiente esquema sintético:



5 Etapa 1: Se disolvió cortexolona en un disolvente adecuado (p. ej. acetato de etilo). Se añadió tosilato de piridinio o ácido *p*-toluenosulfónico en cantidad catalítica (1-10% en moles), seguido por ortovalerato de trialquilo (R= metilo o R= etilo). La mezcla de reacción se calentó hasta 80°C durante 3-5 horas y, después de la retirada del disolvente y la cristalización en un disolvente alcohólico, se obtuvo ortovalerato de cortexolona 1.

10 En la Etapa 2, se disolvió ortovalerato de cortexolona 1 (R= metilo o R= etilo) en un disolvente alcohólico (p. ej. metanol) y se trató con tampón acético 0,1 N (pH de 3 a 3,9) a reflujo. Después de la retirada del disolvente seguida por tratamiento con agua purificada, se recuperó 17 α -valerato de cortexolona 2 como un sólido.

En la Etapa 3, se disolvió 17 α -valerato de cortexolona 2 en piridina y se añadió con 1 equivalente de cloruro de propionilo. Cuando la conversión era completa, la mezcla se diluyó con agua, y el producto 3 se recuperó como un sólido y se purificó mediante cristalización con alcoholes.

15 Ejemplo 12 - Análisis de la actividad anticancerosa *in vitro* del compuesto derivado de cortexolona CB-03-10

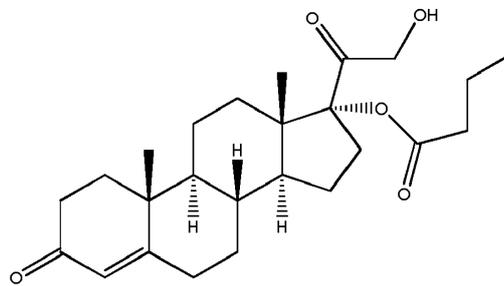
Se probó la capacidad de CB-03-10 para inhibir el crecimiento de líneas celulares cancerosas establecidas *in vitro*.

20 Las líneas celulares cancerosas se sembraron en 3000 células en placas de fondo plano de 96 pocillos en medio completo que contenía 2% de suero bovino tratado con carbón vegetal. Después de 24 horas, se añadieron los compuestos de prueba o DMSO/vehículo (concentración final 0,1% como control negativo). CPA y enzalutamida, dos potentes antiandrógenos reconocidos, se usaron como control positivo para la citotoxicidad celular. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de viabilidad celular dependiente de ATP (Promega Cell Titer Glo). En la Figura 5, se muestra una valoración de la dosis de la actividad citotóxica de compuestos derivados de cortexolona sobre líneas celulares humanas y pancreáticas.

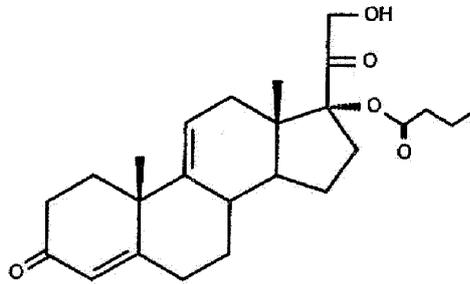
25 Se realizó la determinación de la concentración a la que cada compuesto destruye 50% de las células cancerosas (IC₅₀) para expresar la capacidad de CB-03-10 y otros compuestos para inhibir el crecimiento de células cancerosas. Cada uno de los compuestos se valoró de 3 μ M a 200 μ M. Después de 3 días, los números de células viables se cuantificaron usando un ensayo de proliferación dependiente de ATP. Los datos mostrados en la Tabla I se analizaron usando un ajuste de la curva minimocuadrático de regresión no lineal en el software estadístico Prism.

| Tipo de tejido | Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-04 9deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10C17,21 val | Enzalutamida | CPA |
|--------------------|----------------------------|-------------------|---------------------|------------------------|------------------|------------------|--------------------|--------------|-----|
| Cáncer de próstata | LNCaP | 33 | 16 | 46 | 32 | 12 | 10 | 38 | 22 |
| | PC3 | 190 | 53 | 140 | 170 | 28 | 53 | 180 | 90 |
| Cáncer pancreático | Panc1 | 490 | 70 | 340 | 74 | 28 | 60 | 110 | 46 |
| | MiaPaca2 | 110 | 30 | 160 | 59 | 20 | 37 | 65 | 39 |

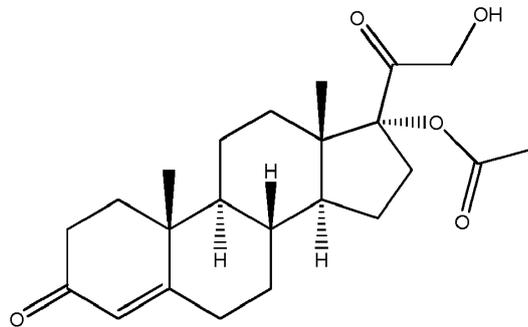
Tabla I. IC₅₀ de CB-03-10 probado *in vitro* en líneas celulares de cáncer prostático y pancreático



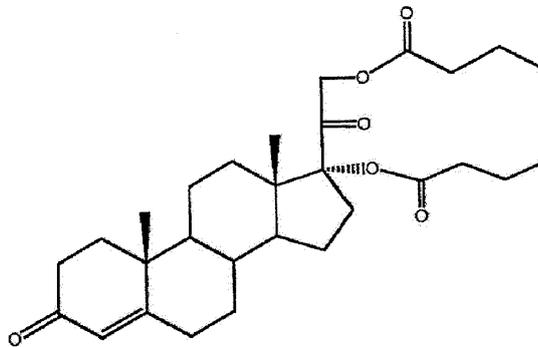
CB-03-05



CB-03-04



CB-03-01



CB-03-03

5

Está claro a partir de los datos mostrados en la Figura 5 y la Tabla I que los compuestos derivados de cortexolona destruyen células cancerosas a diversas concentraciones e IC₅₀. CB-03-10 destruye células de cáncer de próstata (grupo a) mejor que el potente antiandrógeno CPA. De forma más importante, CB-03-10 inhibía el crecimiento *in vitro*

de células de cáncer de próstata mejor que la enzalutamida, un fármaco antiandrogénico nuevo y potente usado actualmente en el entorno clínico como una primera elección para cánceres de próstata dependientes de andrógenos.

De forma interesante, CB-03-10 inhibe el crecimiento de líneas celulares pancreáticas de crecimiento rápido (grupo b) que se sabe que expresan receptor androgénico (AR) a niveles muy bajos. Estos datos sugieren un mecanismo de acción independiente relacionado con la citotoxicidad y a continuación la actividad antiandrogénica.

Ejemplo 13 - Análisis de la expresión de receptor androgénico sobre líneas celulares cancerosas probadas

Se realizó un ensayo de FACS sobre líneas celulares prostáticas y pancreáticas probadas en la Tabla I para entender mejor la relación entre la expresión de AR en líneas celulares cancerosas y la capacidad de CB-03-10 para inhibir el crecimiento de células cancerosas.

La Figura 6 muestra el nivel de expresión de AR sobre las células cancerosas probadas. Según se espera, la expresión de AR por análisis de FACS en líneas celulares prostáticas y pancreáticas está de acuerdo con los niveles de expresión publicados: LNCaP > Panc1 > PC3 = MiaPaca2.

Para clarificar mejor la correlación entre AR y IC₅₀, la Tabla I se aplicó añadiendo la expresión de AR de las líneas celulares cancerosas probadas (Tabla II).

Tabla II. Expresión de AR de líneas celulares de cáncer prostático y pancreático e IC₅₀ de compuestos derivados de cortexolona

| Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-049 deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA | Expresión de AR |
|----------------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----|-----------------|
| LNCaP | 33 | 16 | 46 | 32 | 12 | 10 | 38 | 22 | 9 |
| PC3 | 190 | 53 | 140 | 170 | 28 | 53 | 180 | 90 | 1 |
| Panc1 | 490 | 70 | 340 | 74 | 28 | 60 | 110 | 46 | 4 |
| MiaPaca2 | 110 | 30 | 160 | 59 | 20 | 37 | 65 | 39 | 1 |

Según se esperaba, la inhibición del crecimiento mostrada por los potentes antiandrógenos CPA y enzalutamida se correlaciona con la expresión de AR en células de cáncer de próstata. Las actividades inhibitoras de CB-03-10 también se correlacionan (menos estrictamente) con la expresión de AR en células de cáncer de próstata. Sin embargo, hay una correlación inversa entre la expresión de AR y las actividades inhibitoras en las células de cáncer pancreático. Todos los compuestos probados eran más activos en las MiaPaca2 de menor expresión de AR (AR+/-) en comparación con las células Panc1 (AR +). Este resultado apunta a un posible mecanismo de acción independiente de AR en el cáncer pancreático. CB-03-10 es uno de los compuestos más potentes de la serie. Notablemente, CB-03-10 es más potente que la enzalutamida en líneas celulares de cáncer de próstata.

Ejemplo 14 - Análisis de la actividad anticancerosa *in vitro* de compuestos derivados de cortexolona, en particular CB-03-10, sobre una muestra mayor de líneas celulares cancerosas derivadas de tumores sólidos

Puesto que la actividad citotóxica de CB-03-10 no parece correlacionarse con la expresión de AR, se probó una muestra mayor de tumores sólidos. MCF7, una línea celular de cáncer de mama (AR^{+/}), una línea de células pancreáticas adicional con mayor expresión de AR (BxPC3) y una línea celular de cáncer intestinal (HT29) (AR⁻) se añadieron al grupo previo. Los resultados se representan en la Tabla III.

| Proliferación in vitro IC50 (µM) | | | | | Genotipo | |
|----------------------------------|----------------------------|---------------------|------------------------|--------------|--|--|
| Tipo de tejido | Nombre de la línea celular | CB-03-05 C17 val | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | Expresión de proteína de AR con relación a PC3 | Expresión de proteína de GR con relación a LNCaP |
| Cáncer de próstata | LNCaP | 32 | 10 | 38 | 9 | 1 |
| | PC3 | 170 | 53 | 180 | 1 | 2 |
| | 22Rv1 | | 18 | | positiva basándose en la bibliografía | negativa basándose en la bibliografía |
| Cáncer pancreático | Panc1 | 74 | 60 | 110 | 4 | positiva basándose en la bibliografía |
| | MiaPaca2 | 59 | 37 | 65 | 1 | 4 |
| | BxPC3 | | 30 | 127 | 3 | positiva basándose en la bibliografía |
| Cáncer de mama | MCF7 | 50 | 28 | 129 | 1 | 2 |
| | MDA-MB-231 | inactivo | 106 | 200 | 1 | 5 |
| Cáncer de colon | HT29 | 530 | 14 | 150 | 1 | 2 |
| Linfocito sano | PBMC REPOSO | 120 | 120 | | nd | positiva basándose en la bibliografía |
| | PBMC ESTIMULADAS | 130 | 94 | 90 | nd | positiva basándose en la bibliografía |

5 CB-03-10 inhibe fuertemente la viabilidad celular de múltiples líneas celulares cancerosas de diferente origen epitelial. La actividad citotóxica de los compuestos no se correlaciona con la expresión de AR. Adicionalmente, CB-03-10 es más potente que la enzalutamida en todas las líneas celulares cancerosas probadas.

Ejemplo 15 - Índice terapéutico de compuestos derivados de cortexolona sobre diferentes líneas celulares cancerosas

10 El índice terapéutico (TI) (también denominado intervalo terapéutico o intervalo de seguridad o a veces relación terapéutica) es una comparación de la cantidad de un agente terapéutico que provoca el efecto terapéutico con la cantidad que provoca toxicidad. La IC₅₀ de los compuestos se determinó sobre células recientes aisladas de sangre humana (PBMC). La toxicidad de los compuestos se determinó como sigue:

Índice terapéutico = Seguridad/Potencia = IC₅₀ PBMC estimuladas / IC₅₀ células cancerosas

Los resultados se muestran en la Tabla IV

| Proliferación in vitro IC50 (µM) | | | | | | | | | |
|--|----------------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----|
| Tipo de tejido | Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-04 9deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA |
| Cáncer de próstata | LNCaP | 32 | 16 | 46 | 32 | 12 | 10 | 38 | 22 |
| | PC3 | 190 | 53 | 140 | 170 | 28 | 53 | 180 | 90 |
| Cáncer pancreático | Panc1 | 490 | 70 | 340 | 74 | 28 | 60 | 110 | 46 |
| | MiaPaca2 | 110 | 30 | 160 | 59 | 20 | 37 | 65 | 39 |
| | BxPC3 | | | | | 28 | 30 | 127 | |
| Cáncer de mama | MCF7 | 121 | 32 | 88 | 50 | 25 | 28 | 129 | 64 |
| Cáncer de colon | HT29 | | | 51 | 30 | 10 | 14 | 150 | |
| Linfocito sano | PBMC ESTIMULADAS | 0,1 | 140 | 360 | 130 | 97 | 94 | 90 | 62 |
| Índice terapéutico = IC50 PBMC en reposo / IC50 células cancerosas | | | | | | | | | |
| Tipo de tejido | Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-04 9deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA |
| Cáncer de próstata | LNCaP | 0 | 9 | 8 | 4 | 8 | 9 | 2 | 3 |
| | PC3 | 0 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Cáncer pancreático | Panc1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| | MiaPaca2 | 0 | 5 | 2 | 2 | 5 | 3 | 1 | 2 |
| | BxPC3 | | | | | 3 | 3 | 1 | |
| Cáncer de mama | MCF7 | 0 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 |
| Cáncer de colon | HT29 | | | 7 | 4 | 6 | 3 | | |
| Linfocito sano | PBMC ESTIMULADAS | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

Tabla IV. Índice terapéutico de compuestos derivados de cortexolona sobre un grupo de líneas celulares cancerosas.

Todos los compuestos derivados de cortexolona muestran un robusto perfil de seguridad. CB-03-10 muestra un alto índice terapéutico. Esto revela que CB-03-10 tiene un perfil más seguro en comparación con CPA y enzalutamida.

Ejemplo 16 - Afinidad de unión de CB-03-10 para el receptor androgénico

Los experimentos previos demostraron una fuerte actividad citotóxica de CB-03-10 sobre líneas celulares cancerosas derivadas de tumores de diferentes orígenes. Esta actividad citotóxica no se correlacionaba completamente con la expresión contra el receptor androgénico sobre las células cancerosas probadas. Basándose en esta evidencia, se diseñaron ensayos para probar la afinidad del compuesto para el AR. Para determinar las afinidades de unión relativas de CB-03-10 al AR silvestre, se usó un ensayo competitivo usando el estuche Polar Screen de life Technologies. Brevemente, el AR se añadió a un ligando androgénico fluorescente (Fluormone™ AL Green) para formar el complejo AR-LBD. Los competidores desplazaban el ligando Fluormone™ AL Green fluorescente del AR-LBD haciendo que el ligando fluorescente caiga rápidamente durante su tiempo de fluorescencia, dando como resultado un bajo valor de polarización. Los no competidores no desplazarán el ligando fluorescente del complejo, de modo que el valor de polarización permanezca alto. El desplazamiento en el valor de polarización en presencia de compuestos de prueba se usa para determinar la afinidad relativa de los compuestos de prueba para AR-LBD.

La afinidad de CB03-10 para el receptor AR era 1,1E-06 (IC₅₀ molar); en el mismo ensayo, la afinidad de la dihidrotestosterona (un potente ligante del receptor AR) era 1,1E-08. La afinidad de unión de CB-03-10 para el receptor AR cuando se comparaba con DHT es baja y caracteriza a CB-03-10 como un ligante potencial de AR

Ejemplo 17 - Actividad de transcripción de CB-03-10 sobre el receptor glucocorticoideo

Las hormonas androgénicas y glucocorticoides provocan efectos divergentes y a menudo opuestos en células, tejidos y animales. Una amplia gama de evidencia fisiológica y de biología molecular sugiere que los receptores que median en estos efectos, los receptores de andrógeno y glucocorticoide (AR y GR, respectivamente), influyen en la actividad de transcripción mutua. Las actividades antagonista y agonista de GR CB-03-10 se probaron en un ensayo *in vitro*. Brevemente, células epiteliales de riñón humano se transfectaron con una construcción de ADN que contenía sitios de unión a GR conectados a una molécula indicadora de base luminiscente. Después de 24 horas, las células se trataron bajo modos antagonista o agonista. Después de 24 horas adicionales, se cuantificó la luminiscencia que es proporcional a la actividad de transcripción de agonistas de GR.

El ensayo antagonista se basaba en la inhibición de la luminiscencia inducida por dexametasona (Dex).

La actividad antagonista de CB-03-10 se comparó con un antagonista de GR conocido, mifepristona (también llamada RU486) mostrado en la Figura 7.

Ensayo agonista - se basaba en la inducción de luminiscencia por CB-03-10

La actividad agonista de CB-03-10 se comparó con una RU486 que se sabe que no tiene actividad agonista según se muestra en la Figura 8.

Según se muestra en la Figura 7, CB-03-10 es un potente antagonista (10 veces menos que RU486). En contraste, CB-03-10 es esencialmente ineficaz como agonista de GR ya que se requieren concentraciones muy altas para inducir una actividad que sea 20% de la de Dex. 50 nM.

Ejemplo 18 - Inducción por CB-03-10 de la apoptosis y la interrupción del ciclo celular

Se ha mostrado que la mayoría de los fármacos anticancerosos citotóxicos usados actualmente inducen apoptosis en células sensibles. El hecho de que agentes dispares, que interactúan con diferentes dianas, induzcan la muerte celular con algunas características comunes sugiere que la citotoxicidad está determinada por la capacidad de la célula para participar en esta llamada muerte celular 'programada'. CB-03-10 se evaluó para determinar si el mecanismo de la citotoxicidad sobre líneas celulares cancerosas estaba mediado por apoptosis e interrupción del ciclo celular. Las líneas celulares cancerosas se sembraron en placas de fondo plano de 6 pocillos. Después de 24 horas, se añadieron compuestos de prueba o vehículo de DMSO (control negativo). Después de 24 horas adicionales, las células se rasparon y se tiñeron con anexina V y yoduro de propidio conjugados a fluoresceína y se analizaron mediante citometría de flujo.

La Figura 9 muestra claramente cómo CB-03-10 es capaz de inducir apoptosis en líneas celulares de cáncer pancreático. CB-03-10 induce apoptosis en un total de 28% de células (apoptosis temprana y tardía) frente a solamente 11% por el control.

La apoptosis se puede producir en la transición G1/S o G2/M del ciclo celular. Las células se trataron con CB-03-10 durante 24 horas y a continuación se fijaron con paraformaldehído y se tiñeron con yoduro de propidio. Los datos de la Figura 10 indican que CB-03-10 induce un bloqueo de la fase S a concentraciones inferiores y a continuación un bloqueo de G2/M a una concentración superior. La falta de bloqueo de G1 indica ausencia de efecto sobre p53. Los bloqueos de S y G2/M pueden indicar actividad sobre moléculas de comprobación del ciclo celular. Para la fase S, una posible diana es la cinasa dependiente de ciclina 2 (CDK2). Gemzar y cisplatino son fármacos ejemplares que actúan en la fase S. Para G2, una posible diana es CDK1.

Ejemplo 19 - Análisis de la inducción de caspasas por CB-03-10

A partir de estudios previos, se determinó que CB-03-10 induce apoptosis usando tinción con anexina V en células MiaPaca2. Para analizar mejor el fenómeno, se midieron la actividad enzimática de caspasa 8 (caspasa iniciadora para la ruta extrínseca) y caspasa 9 (caspasa iniciadora para la ruta intrínseca) y de las caspasas 3 y 7 (caspasas efectoras).

Con este propósito, se sembraron células MiaPaca2 en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos. Después de 24 horas, los compuestos de prueba se añadieron a células, se usaron gemcitabina (un agente quimioterapéutico conocido para el cáncer pancreático) y DMSO como control positivo y negativo, respectivamente. Después de una incubación de 8, 24 y 48 horas con compuestos de prueba, las células se sometieron a lisis en tampón que contenía el sustrato de caspasa 3/7 u 8 o 9 y una luciferasa estable en tampones patentados. Los lisados se transfirieron a placas blancas opacas antes de medir la luminiscencia en un instrumento Tecan Safire. Se usaron placas paralelas tratadas idénticamente para determinar células viables. Todas las actividades de caspasa se corrigieron para el número de células viables. Los resultados se muestran en la Figura 11.

Las actividades de las caspasas 8 y 9 (grupos A y B) se indujeron mediante CB-03-10. Esta inducción era rápida, estaba relacionada con la dosis y era ya evidente después de 8 horas y era tan alta como 7 veces de incremento en comparación con el control.

La gemcitabina (un agente quimioterapéutico conocido usado para el tratamiento del cáncer pancreático) también inducía las actividades de caspasa 8 y 9 pero con una respuesta retardada y menos potente en comparación con CB-03-10. El incremento de 2, 3 veces en la actividad de caspasa 8 y 9 no se observa hasta la marca de 48 horas.

Las caspasas 3/7 (grupo C) se indujeron mediante CB-03-10 también en este caso ya a las 8 horas y a un nivel realmente alto después de 48 horas de incubación. De forma interesante, CB-03-05 no muestra un buen perfil para la activación de caspasas. El incremento de gemcitabina en la actividad de caspasa 3/7 no se observa hasta la marca de 48 horas.

Se repitió el mismo ensayo usando líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP (Figura 12). En este caso, el control positivo es enzalutamida, un antiandrógeno potente y nuevo usado en el entorno clínico para tratar a pacientes con cáncer de próstata. Los resultados se muestran en la Figura 12 a las 24 horas de incubación cuando las actividades de caspasa alcanzaban un máximo.

El experimento muestra claramente que CB-03-10 inducía las actividades de caspasas iniciadoras (8 y 9) y efectoras (3/7) mejor que la enzalutamida (usada como control positivo). Estos resultados mostraban una fuerte inducción por CB-03-10 de la actividad de caspasas en líneas celulares de cáncer de próstata, que afectan a las rutas tanto intrínsecas como extrínsecas, confirmando la inhibición observada sobre líneas celulares MiaPaca2.

Ejemplo 20 - Metabolismo *in vitro* de CB-03-10 en plasma de rata y ser humano

Para obtener algunas ideas sobre el metabolismo de CB-03-10 en plasma de ser humano y de rata, se diseñó un ensayo específico. Brevemente, el compuesto se incubó en un momento diferente en plasma de ser humano y rata a 37°C. Después de la incubación, las muestras se probaron con respecto a la presencia del compuesto intacto mediante cromatografía de líquidos. El transcurso del tiempo y la concentración se muestran en la Figura 13.

Los resultados muestran que CB-03-10 es degradado rápidamente hasta CB-03-05 en plasma humano y es degradado más rápidamente en plasma de rata en comparación con el humano.

Ejemplo 21 - Análisis de la farmacocinética *in vivo* de CB-03-10 en un modelo en animal (ratón)

La farmacocinética de CB-03-10 se evaluó en plasma de ratones después de la administración intravenosa (IV), subcutánea (SC) y oral (PO).

A los ratones (3 por grupo) se les administraron las siguientes dosis, la sangre se recogió en los momentos indicados. Las muestras de plasma se analizaron mediante HPLC-MS/MS.

| Grupo | Vía de dosificación | Punto temporal del recogida de muestra |
|-------|---------------------|--|
| 1 | iv (20 mg/kg) | 10 min, 1 h, 4 h |
| | | 30 min, 2 h, 8 h |
| 2 | SC (40 mg/kg) | 30 min, 2 h, 8 h |
| | | 1 h, 4 h, 24 h |
| 3 | PO (40 mg/kg) | 30 min, 2 h, 8 h |
| | | 1 h, 4 h, 24 h |

CB-03-10 era indetectable en plasma incluso después de 1 hora independientemente de la vía de administración. Sin embargo, CB-03-10 se metabolizaba hasta CB-03-05 con una exposición corporal de 189 (SC) y 47 (PO) horas/ng/ml (figura 14).

5 Ejemplo 22 - Prueba *in vivo* de CB-03-10 en un modelo de xenoinjerto de ratón de cáncer pancreático humano (línea celular MiaPaca2)

A partir de estudios previos, se observó que CB-03-10 inhibe fuertemente el crecimiento *in vitro* de líneas celulares pancreáticas MiaPaca2 (AR^{+/+}). Se realizó una investigación de si este resultado se podía traducir en un modelo de cáncer pancreático xenoinjertado *in vivo*. Se usó como control CPA, un antiandrógeno muy conocido. Brevemente, 1x10⁶ células MiaPaca2 suspendidas en Matrigel se inyectaron subcutáneamente (SC) en ratones lampiños atímicos de 6 semanas de edad. Los tumores se midieron cada 4 días con un calibre digital. El volumen del tumor se calculó según la fórmula: $0,5236(r1)^2(r2)$ donde $r1 < r2$. El tratamiento con CB-03-10 y compuestos de control se inició después de que el tumor hubiera alcanzado 50 mm³. Compuestos diluidos en DMSO/2-hidroxipropil-b-ciclodextrina (vehículo) se inyectaron subcutáneamente (SC) diariamente (100 µl/ratón) a la concentración de 40 mg/kg al día durante 28 días consecutivos. La Figura 15 muestra el incremento del tumor medio en el modelo de xenoinjerto *in vivo* después de una inyección SC de CB-03-10 cuando se compara con el vehículo.

En la Figura 15, CB-03-10 muestra una actividad contra tumores pancreáticos *in vivo* fuerte y significativa cuando se compara con los controles. También muestra una actividad antitumoral significativa ($p < 0,5$) cuando se compara con vehículo solo o CPA (no mostrado).

20 Durante el período de tratamiento, CB-03-10 mantenía el incremento de tamaño del tumor pancreático hasta menos de 5 veces con relación al tamaño inicial. En contraste, el tumor medio en los grupos de tratamiento con vehículo o CPA se incrementaba en tamaño hasta 12 veces. CB-03-10, además de inhibir el crecimiento del tumor, también mostraba un beneficio en la supervivencia de los ratones. De forma importante, 14 días después de que se detuviera el tratamiento, los ratones tratados con CB-03-10 todavía mantenían tumores significativamente menores en comparación con el grupo con vehículo solamente (6-veces frente a 14 veces, respectivamente)

La supervivencia mediana era 70 días para ratones tratados con CB-03-10 en comparación con 60 días para ratones tratados con vehículo o 40 días con CPA. Esta diferencia es significativa con un riesgo de muerte de 2 a 4 veces superior en el grupo tratado con vehículo.

30 Ejemplo 23 - Prueba *in vivo* de CB-03-10 administrado oralmente en un modelo de cáncer de próstata humano xenoinjertado en ratones (células LNCaP)

A partir de los estudios previos, se observó que CB-03-10 también era eficaz para inhibir *in vitro* el crecimiento de líneas celulares de cáncer de próstata LNCaP. Se realizó una investigación sobre si este resultado se podía traducir en un modelo de cáncer de próstata xenoinjertado *in vivo*. 3x10⁶ células LNCaP suspendidas en Matrigel se inyectaron subcutáneamente (en el costado derecho) en ratones lampiños atímicos de 6 semanas de edad. Los tumores se midieron según se describe anteriormente. El tratamiento con CB-03-10 y compuestos de control se inició después de que el tumor hubiera alcanzado 50 mm³. Las formulaciones para dosificación se prepararon en 15% de vitamina E-TPGS y 65% de una solución de CMC al 0,5% p/v en tampón de citrato 20 mM (pH 4). La dosificación oral era diaria (100 mg/kg en 200 µl/ratón) durante 28 días consecutivos. Los resultados se representaron como cambio medio en el volumen del tumor con relación al inicio del tratamiento. La Figura 16 muestra los resultados obtenidos a partir del modelo de cáncer de próstata xenoinjertado *in vivo* después de la administración oral de CB-03-10. Se usó como control enzalutamida, un antiandrógeno nuevo y potente. El CB-03-10 administrado oral mostraba una mejor actividad antitumoral que la enzalutamida durante el período de tratamiento de 28 días. El volumen del tumor se incrementaba

hasta solo 2 veces con CB-03-10 y 3 veces con enzalutamida en comparación con 10 veces en el grupo de control negativo.

5 CB-03-10 también es más eficaz que la enzalutamida para mantener un pequeño incremento de tamaño del tumor de próstata después de que se detuviera el tratamiento (cambio de 5 frente a 8 veces). Incluso 6 semanas después de que se detuviera el tratamiento, el volumen medio del tumor en el grupo de CB-03-10 era 3,6 veces menor que en el grupo de vehículo.

Ejemplo 24 - Inhibición con CB-03-10 de la secreción de antígeno específico de la próstata (PSA) *in vitro* desde células de cáncer de próstata LNCaP

10 El antígeno específico de la próstata, o PSA, es una proteína producida por células de la glándula prostática. La prueba de PSA mide el nivel del PSA en la sangre del hombre. El nivel en sangre de PSA a menudo es elevado en hombres con cáncer de próstata y se usa como un marcador sustitutivo para probar la progresión del cáncer de próstata en la población humana. Después de la observación de que CB-03-10 era capaz de inhibir *in vivo* el crecimiento del cáncer de próstata, se determinó la capacidad del compuesto para inhibir la secreción de PSA *in vitro* desde células cancerosas. Células LNCaP se sembraron en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos en medio que contenía suero tratado con carbón vegetal con o sin DHT 10 nM. Después de 24 horas, los compuestos de prueba se añaden a las células, usando el control negativo de vehículo y enzalutamida como el control positivo. Después de 48 horas de incubación con compuestos de prueba, los sobrenadantes se recogieron y se probaron con un ensayo Elisa con respecto al PSA y las mismas células se sometieron a lisis para la evaluación de la viabilidad celular.

20 Según se esperaba, el antiandrógeno enzalutamida puro es potente para inhibir la secreción de PSA con una $IC_{50} < 3 \mu M$; CB-03-10 también es un potente inhibidor de PSA ($IC_{50} 9 \mu M$). Sin embargo, la actividad de enzalutamida no se valoraba tan bien como CB-03-10. Cabe destacar que la cortexolona, el metabolito original y final de todos los compuestos probados, es esencialmente inactiva sobre la secreción de PSA (IC_{50} de $612 \mu M$). Cuando se probaba la viabilidad celular de estas células, la enzalutamida mostraba una IC_{50} de $61 \mu M$ y CB-03-10 mostraba una IC_{50} de $11 \mu M$. Esto confirma la fuerte actividad inhibidora del crecimiento de ambos compuestos. De forma importante e interesante, la cortexolona, el metabolismo original y final de todos los compuestos probados, inhibía la viabilidad de LNCaP solo a una concentración muy baja (IC_{50} de $153 \mu M$) y es esencialmente inactiva como compuesto citotóxico para líneas celulares cancerosas.

Ejemplo 25 - Análisis de la actividad anticancerosa *in vitro* de CB-03-10 sobre líneas celulares de cáncer de mama

30 El cáncer de mama triple negativo (TNBC) supone alrededor de 20% del cáncer de mama invasivo actualmente diagnosticado. Este subtipo de cáncer no está apoyado por las hormonas estrógeno y progesterona, ni por la presencia de demasiados receptores HER2, por esta razón los pacientes no responden a la terapia convencional (p. ej. tamoxifeno o herceptina). Por consiguiente, este cáncer se caracteriza por resistencia a la quimioterapia y baja supervivencia en los pacientes. Existe una correlación entre esta resistencia del cáncer y una alta expresión de GR (Cancer therapy 2013). Hay estudios clínicos que prueban un antagonista de GR (mifepristona/RU486) en combinación con quimioterapia para el tratamiento de TNBC. Sin embargo, el uso clínico de mifepristona está comprometido debido a la polifarmacología ligada al antagonismo del receptor de progesterona (PR). Para evaluar si CB-03-10 se puede usar como tratamiento potencial para el cáncer de mama, y en particular TNBC, se realizó un ensayo citotóxico usando líneas celulares de cáncer de mama caracterizadas por la expresión de diversos receptores hormonales

Las líneas celulares de cáncer de mama seleccionadas para este ensayo eran:

40 Células de cáncer de mama MCF7 (ER⁺PR⁺Her2⁺, GR^{+/-})

Células TBNC MDA-MB-231 (ER⁻PR⁻Her2⁻, GR⁺⁺)

Antes de probar la inhibición del crecimiento celular, las células de cáncer de mama se caracterizaron con respecto a la expresión de los receptores AR y GR mediante FACS según se describe previamente. Los datos mostrados en la Figura 18 confirman la expresión de receptor según se indica en la bibliografía.

45 Para el ensayo citotóxico: células sembradas en placas de cultivo de fondo plano de 96 pocillos en medio que contenía suero tratado con carbón vegetal. Después de 24 horas, se añadieron a las células compuestos de prueba. Se usó DMSO como el control negativo de vehículo y RU486 como el control positivo. Después de 72 horas de incubación, las células se recogieron, se sometieron a lisis y la viabilidad se determinó usando el ensayo Cell Titer Glow para la viabilidad.

50

La Tabla VI muestra la IC₅₀ de CB-03-10 sobre las susodichas líneas celulares de cáncer de mama

| | MCF7 (ER ⁺ PR ⁺ GR ^{+/-}) | MDA-MB-231 (ER ⁻ PR ⁻ GR ⁺⁺) |
|----------|---|--|
| RU486 | No activa | 435 |
| CB-03-10 | 28 | 106 |
| CB-03-05 | 50 | No activa |

5 CB-03-10 es activo sobre ambas líneas de cáncer de mama, pero parece más activo en células MCF7 que MDA-MB-231, apuntando quizás a que GR no es la única diana para este compuesto. RU486, mifepristona, (antagonista de GR/PR) no afecta, según lo esperado, a la viabilidad de células GR^{+/-} MCF7, mientras que inhibe, en un grado muy bajo, la viabilidad de células TNBC GR⁺MDA-MB-231 hasta un máximo de 25% a 100 µM. De forma interesante, CB-03-05 solo es activo en MCF7, no en MDA-MB-231. No está claro qué receptor es responsable de este efecto diferencial debido a que estas células son diferentes para al menos 4 receptores. Si no es GR, entonces podrían ser ER (receptor estrogénico) (ER), PR (receptor de progesterona) o Her2 los que se expresen en MCF7 pero no MDA-10 MDA-MB-231.

Conclusión general

Estos ejemplos demuestran que el 17α-valerato-21-propionato de cortexolona (CB-03-10), en particular, tiene una actividad superior más allá de otros compuestos derivados de cortexolona conocidos. Se han observado resultados incrementados tanto *in vitro* como *in vivo* en cuanto a, por ejemplo:

- 15 I) actividad antitumoral *in vitro* general;
- II) actividad antitumoral *in vitro* no correlacionada directamente con la expresión de AR;
- III) actividad antitumoral *in vitro* correlacionada directamente con la expresión de GR;
- IV) índice terapéutico (TI); y
- V) actividad antitumoral *in vivo* contra tumores pancreáticos y prostáticos;
- 20 VI) Está claro a partir de los datos mostrados en la Tabla I posterior que los compuestos derivados de cortexolona destruyen células cancerosas en diferentes concentración e IC₅₀. Sin embargo, CB-03-06 y CB-03-10 muestran la mejor IC₅₀ cuando se comparan con los otros compuestos en la serie derivada de cortexolona a través de las líneas celulares cancerosas de diferente origen. Incluso el metabolito CB-03-05 de CB-03-10 muestra buen valor de IC50 en células de cáncer de próstata LNCaP (IC50 32 microM). La IC₅₀ inferior indica una actividad antitumoral *in vitro* más fuerte.
- 25

| Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-04 9deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA |
|----------------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----|
| LNCaP | 33 | 16 | 46 | 32 | 12 | 10 | 38 | 22 |
| PC3 | 190 | 53 | 140 | 170 | 28 | 53 | 180 | 90 |
| Panc1 | 490 | 70 | 340 | 74 | 28 | 60 | 110 | 46 |
| MiaPaca2 | 110 | 30 | 160 | 59 | 20 | 37 | 65 | 39 |

Tabla I. IC₅₀ de compuestos derivados de cortexolona probados en líneas celulares de cáncer prostático y pancreático

II) La expresión de AR se probó en las líneas celulares cancerosas, véase la Tabla II

30 En líneas celulares de cáncer de próstata, según se esperaba, la inhibición del crecimiento mostrada por potentes antiandrógenos como CPA y enzalutamida se correlaciona con la expresión de Ar en células de cáncer de próstata

5 (cuanto mayor sea la expresión de AR, mejor es la actividad citotóxica, expresada como IC₅₀ inferior). Además, CB-03-04 muestra una IC₅₀ de 46 cuando se prueba sobre LNCaP (línea celular de cáncer de próstata que expresa un alto nivel de receptor androgénico) pero una IC₅₀ muy superior (135) cuando se prueba sobre PC3 que expresa poco o nada de AR. Notablemente, la actividad citotóxica de CB-03-06 y CB-03-10 no está evidentemente influenciada por la expresión de receptor androgénico en células de cáncer de próstata. CB-03-06 y CB-03-10 se caracterizan por una IC₅₀ muy buena casi independiente de la expresión de AR.

En líneas celulares pancreáticas, donde la expresión de AR era baja o casi nula, CB-03-06 y CB-03-10 muestran una potente actividad citotóxica, superior que CPA y enzalutamida. La actividad superior se puede deber a un mecanismo de acción adicional relacionado con la unión a receptores adicionales.

| Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-049 deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA | Expresión de AR |
|----------------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----|-----------------|
| LNCaP | 33 | 16 | 46 | 32 | 12 | 10 | 38 | 22 | 9 |
| PC3 | 190 | 53 | 140 | 170 | 28 | 53 | 180 | 90 | 1 |
| Panc1 | 490 | 70 | 340 | 74 | 28 | 60 | 110 | 46 | 4 |
| MiaPaca2 | 110 | 30 | 160 | 59 | 20 | 37 | 65 | 39 | 1 |

10 Tabla II. Expresión de AR de líneas celulares de cáncer prostático y pancreático e IC₅₀ de compuestos derivados de cortexolona

15 III) El índice terapéutico (TI) (también denominado intervalo terapéutico o intervalo de seguridad o relación terapéutica) es una comparación de la cantidad de un agente terapéutico que provoca el efecto terapéutico a la cantidad que provoca toxicidad. La IC₅₀ de los compuestos se determinó sobre células recientes aisladas de sangre humana (PBMC). La toxicidad del compuesto se determinó como sigue:

$$\text{Índice terapéutico} = \text{Seguridad/Potencia} = \text{IC}_{50} \text{ PBMC estimuladas} / \text{IC}_{50} \text{ células cancerosas}$$

20 Los resultados se muestran en la Tabla VII. Todos los compuestos derivados de cortexolona muestran un perfil de toxicidad robusto y seguro. Sin embargo, CB-03-06 y CB-03-10 mostraban el índice terapéutico más alto cuando se probaban a través de las 7 líneas celulares cancerosas probadas *in vitro*.

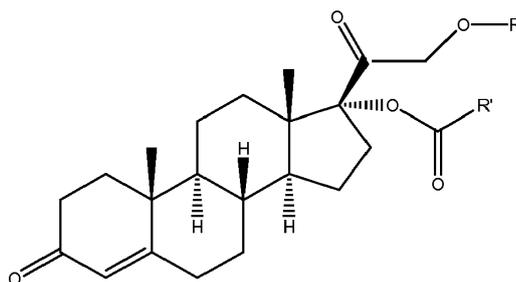
| Índice terapéutico = IC50 PBMC en reposo / IC50 células cancerosas | | | | | | | | | |
|--|----------------------------|----------------------|------------------------|---------------------------|---------------------|---------------------|------------------------|--------------|-----|
| Tipo de tejido | Nombre de la línea celular | CB-03-01 C17 prop | CB-03-03 C17,21 but | CB-03-04 9deshi 17 but | CB-03-05 C17 val | CB-03-06 C17 ben | CB-03-10 C17,21 val | Enzalutamida | CPA |
| Cáncer de próstata | LNCaP | 0 | 9 | 8 | 4 | 8 | 9 | 2 | 3 |
| | PC3 | 0 | 3 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Cáncer pancreático | Panc1 | 0 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| | MiaPaca2 | 0 | 5 | 2 | 2 | 5 | 3 | 1 | 2 |
| | BxPC3 | | | | | 3 | 3 | 1 | |
| Cáncer de mama | MCF7 | 0 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 1 | 1 |
| Cáncer de colon | HT29 | | | 7 | 4 | 6 | 3 | | |
| MEDIA | | 0 | 4 | 4 | 3 | 5 | 4 | 1 | 1 |

Tabla VII. Índice terapéutico de compuestos derivados de cortexolona en un grupo de líneas celulares cancerosas

IV) Cáncer de mama triple negativo (TNBC) según se muestra en el ejemplo 25. La actividad citotóxica mostrada por CB-03-10 es particularmente impresionante debido a que habitualmente los agentes terapéuticos convencionales no funcionan sobre líneas de cáncer de mama triple negativo (TNBC). TNBC se define como la ausencia de expresión de receptores de estrógeno y progesterona así como amplificación de ERBB2. No es sensible a terapias endocrinas o anti-ERBB2. Estudios recientes han encontrado algunas dianas terapéuticas potenciales para TNBC. Sin embargo, todavía tiene escasos resultados. Teniendo en cuenta la actividad citotóxica y el excelente perfil de seguridad de CB-03-10; CB-03-10 es un candidato nuevo y mejorado para el tratamiento clínico de este cáncer.

Se divulgan en la presente memoria las siguientes realizaciones numeradas.

- 10 1. Se divulga en la presente memoria un compuesto de fórmula (I)



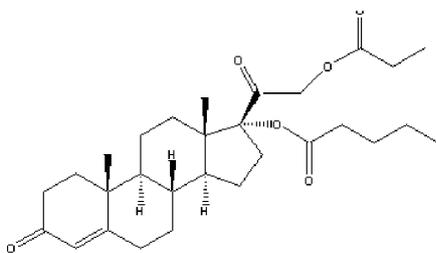
(I)

en donde R es hidrógeno o C(O)-R₁, en donde R₁ es una cadena alquílica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono, y en donde R' es una cadena alquílica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido.

- 15 2. Se divulga en la presente memoria un compuesto de fórmula (I) según el punto 1, en donde el grupo arilo opcionalmente sustituido es fenilo.

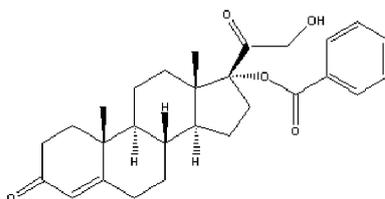
3. Se divulga en la presente memoria un compuesto de fórmula (I) según el punto 1, en donde R₁ es hidrógeno o CH₂CH₃ y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o fenilo.

4. En una realización, la invención es un compuesto según el punto 1, que tiene la fórmula:



20

5. Se divulga en la presente memoria un compuesto que tiene la fórmula:



6. En otra realización divulgada en la presente memoria, es un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 4 para el uso como un medicamento.

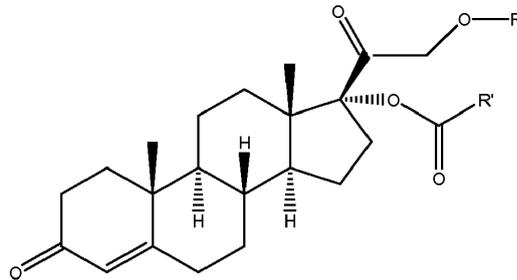
- 25 7. En otra realización, la invención es un compuesto según el punto 4, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales.

8. En otra realización, la invención es un compuesto para el uso según el punto 7, caracterizado por que dicha enfermedad tumoral incluye neoplasias malignas y metástasis.

9. En otra realización, la invención es un compuesto para el uso según el punto 8, caracterizado por que dichas enfermedades tumorales con tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático; carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; carcinoma suprarrenal.
- 5 10. En otra realización, la invención es un compuesto para el uso según el punto 9, caracterizado por que dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata o carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino.
11. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según el punto 4, en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable.
- 10 12. En otra realización, la invención son composiciones farmacéuticas según el punto 11, caracterizadas por que están en forma sólida o líquida.
13. En otra realización, la invención son composiciones farmacéuticas en forma sólida según el punto 12, caracterizadas por que son polvos, polvos criosecados, gránulos, pellas, comprimidos o cápsulas.
- 15 14. En otra realización, la invención son composiciones farmacéuticas en forma líquida según el punto 12, caracterizadas por que son soluciones, emulsiones, suspensiones o jarabes.
15. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica según cualquiera de los puntos 11 a 14, caracterizada por contener al menos otro ingrediente activo, preferiblemente un ingrediente activo quimioterapéutico, como una combinación para la administración simultánea, separada o secuencial.
- 20 16. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica según los puntos 11 a 15, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales.
17. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica para el uso según el punto 16, caracterizada por que dichas enfermedades tumorales incluyen neoplasias malignas y metástasis.
- 25 18. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica para el uso según el punto 17, caracterizada por que dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático; carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; carcinoma suprarrenal.
- 30 19. En otra realización, la invención es una composición farmacéutica para el uso según el punto 18, caracterizada por que dichos tumores epiteliales son carcinoma de próstata o carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



(I)

en donde:

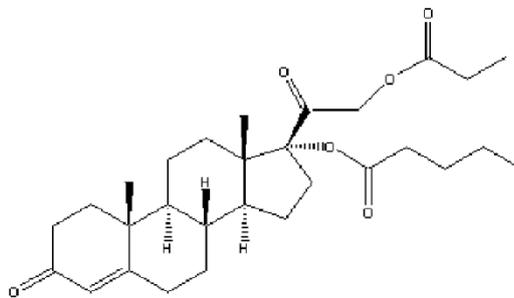
5 R es C(O)-R₁;

R₁ es un hidrógeno o una cadena alquímica lineal que contiene de 2 a 5 átomos de carbono; y

R' es una cadena alquímica lineal que contiene de 3 a 6 átomos de carbono o un grupo arilo opcionalmente sustituido o un grupo heteroarilo opcionalmente sustituido;

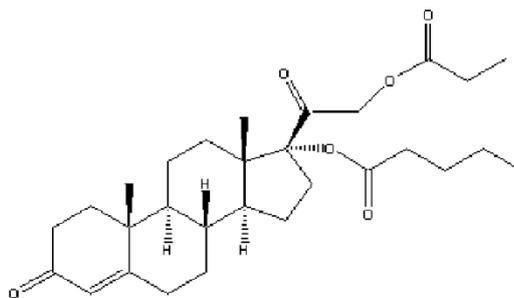
en donde R₁ y R' no son iguales.

- 10 2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que el grupo arilo opcionalmente sustituido es fenilo.
 3. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R₁ es hidrógeno o CH₂CH₃, y R' es -(CH₂)₃-CH₃ o fenilo.
 4. El compuesto según la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



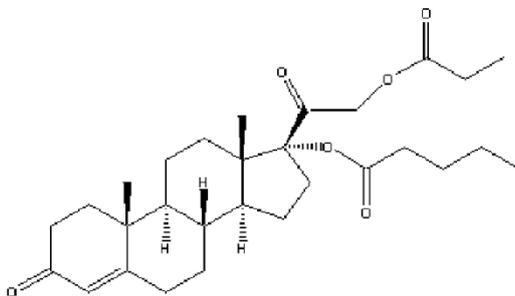
17α-Valerato-21-propionato de cortexolona

- 15 5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el uso como un medicamento.
 6. El compuesto para el uso según la reivindicación 5, que tiene la fórmula:



17α-Valerato-21-propionato de cortexolona

7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo opcionalmente neoplasias malignas y metástasis.
8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el uso como un agente antitumoral.
- 5 9. El compuesto para el uso según la reivindicación 7 u 8, en el que dicha enfermedad tumoral son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, más preferiblemente en el que los tumores epiteliales son carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático; carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; o carcinoma suprarrenal.
10. El compuesto para el uso según la reivindicación 9, en el que los tumores epiteliales son
- 10 carcinoma de próstata, preferiblemente en el que el carcinoma de próstata es o se vuelve resistente a terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida;
- carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino;
- carcinoma mamario, preferiblemente cáncer de mama triple negativo (TNBC), preferiblemente en el que el carcinoma mamario es cáncer de mama triple negativo y el sujeto es uno que ha recaído o uno que no responde a la terapia convencional; o
- 15 carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon.
11. El compuesto para el uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 a 10, en donde el compuesto es 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona.
12. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente para el uso como un antagonista glucocorticoideo.
- 20 13. El compuesto para el uso según la reivindicación 12, que tiene la fórmula:



17 α -Valerato-21-propionato de cortexolona

14. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, y al menos un excipiente fisiológicamente aceptable.
- 25 15. La composición farmacéutica según la reivindicación 14, que comprende además al menos otro ingrediente activo.
16. La composición farmacéutica según la reivindicación 14 y al menos otro ingrediente activo, preferiblemente un ingrediente activo quimioterapéutico, para la administración simultánea, separada o secuencial.
17. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16, para el uso en el tratamiento de lesiones precancerosas, displasias, metaplasias y enfermedades tumorales, incluyendo opcionalmente neoplasias malignas y metástasis.
- 30 18. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 14 - 16, para el uso como un agente antitumoral.
19. La composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 17 o 18, en la que dichas enfermedades tumorales son tumores sólidos, preferiblemente tumores epiteliales, tales como carcinoma de próstata; carcinoma mamario; carcinoma pancreático; carcinoma pulmonar; carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon; cáncer renal; carcinoma tiroideo; carcinoma uterino; carcinoma suprarrenal.
- 35 20. La composición farmacéutica para el uso según la reivindicación 19, en la que dichos tumores epiteliales son

carcinoma de próstata, preferiblemente en donde el carcinoma de próstata es o se vuelve resistente a terapia antiandrogénica dirigida, tal como enzalutamida;

carcinoma pancreático, preferiblemente carcinoma pancreático exocrino;

- 5 carcinoma mamario, preferiblemente cáncer de mama triple negativo (TNBC), preferiblemente en donde el carcinoma mamario es cáncer de mama triple negativo y el sujeto es uno que ha recaído o uno que no responde a la terapia convencional; o

carcinoma del tracto gastrointestinal, tal como carcinoma de colon.

21. La composición farmacéutica según cualquiera de la reivindicaciones 14 a 20, en la que el compuesto es 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona.

- 10 22. La composición farmacéutica según la reivindicación 14, para el uso como un modulador del receptor glucocorticoideo (GR), preferiblemente para el uso como un antagonista glucocorticoideo.

23. La composición farmacéutica según la reivindicación 22, en la que el compuesto es 17 α -valerato-21-propionato de cortexolona.

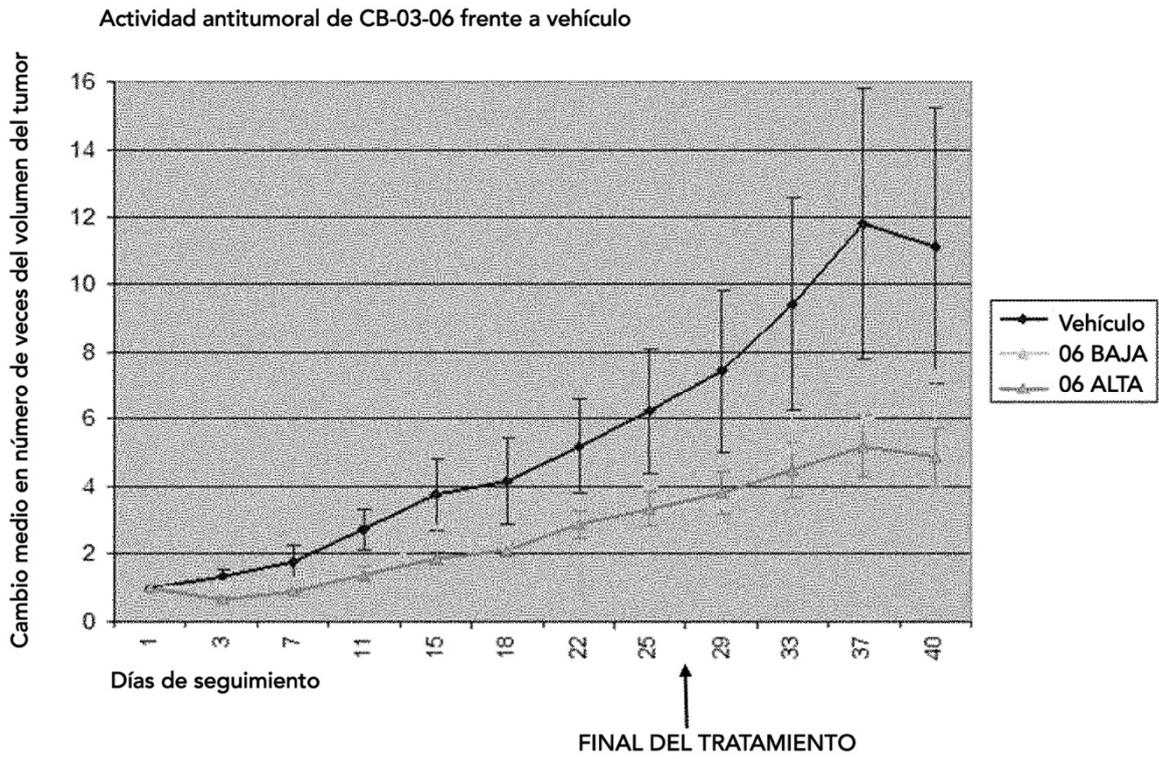


Figura 1

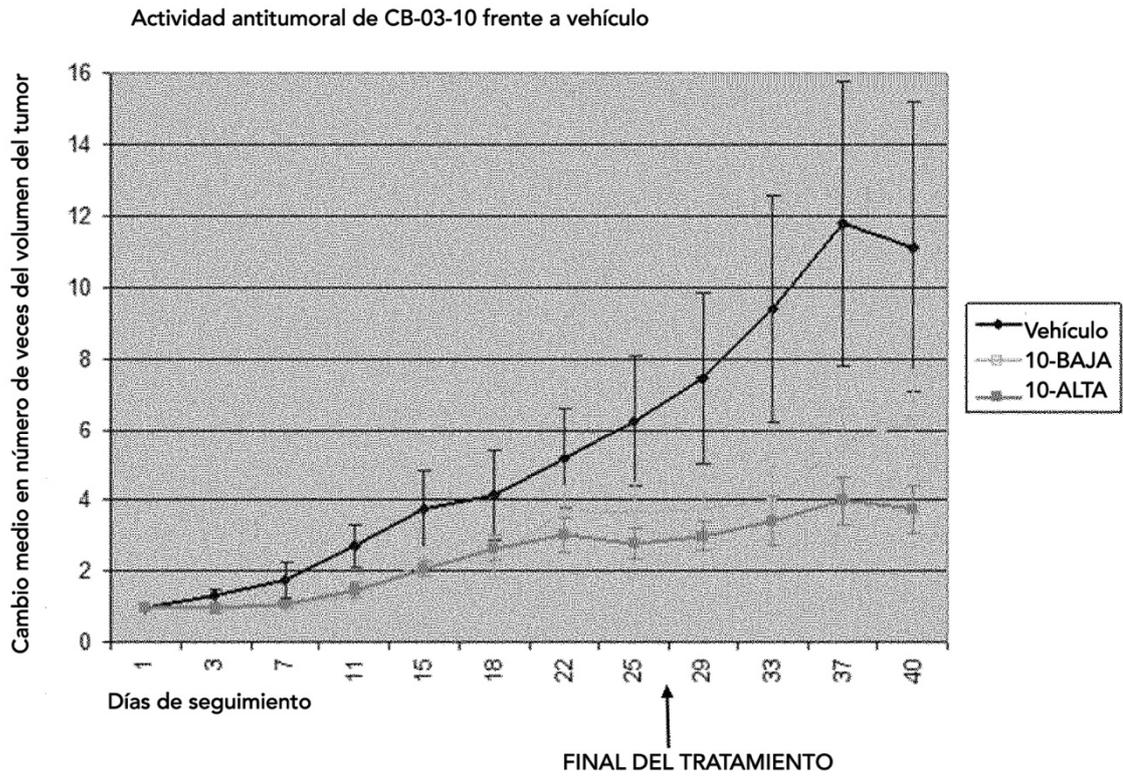


Figura 2

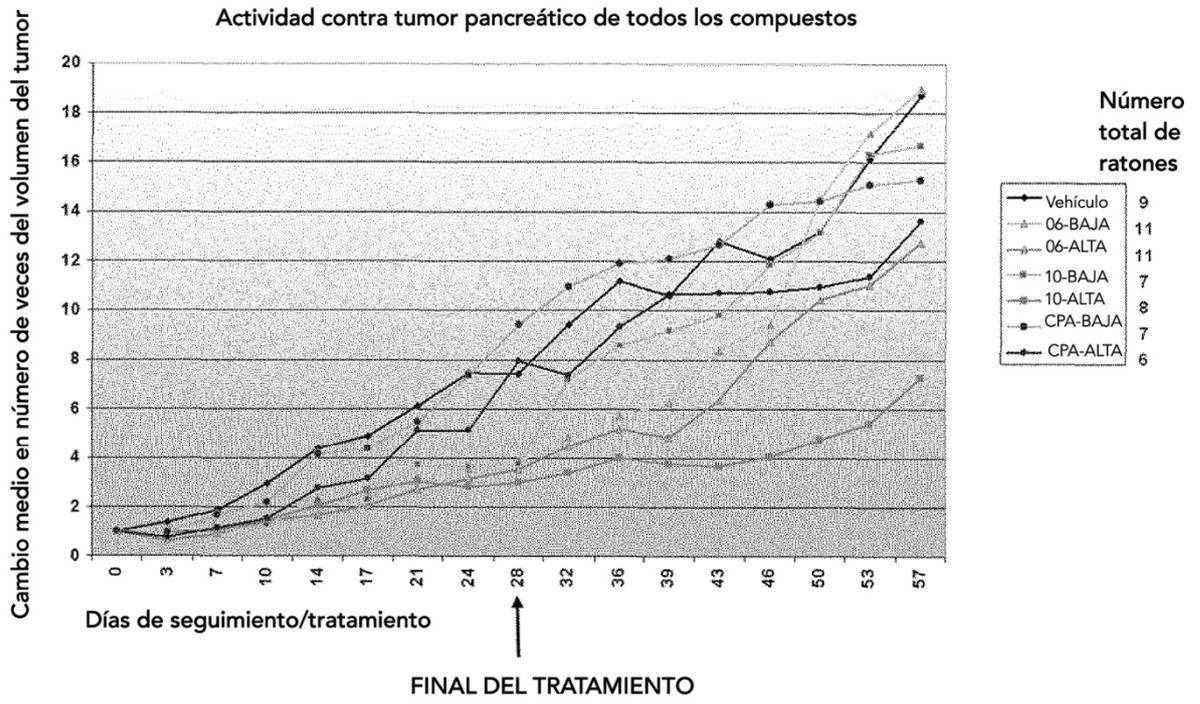


Figura 3

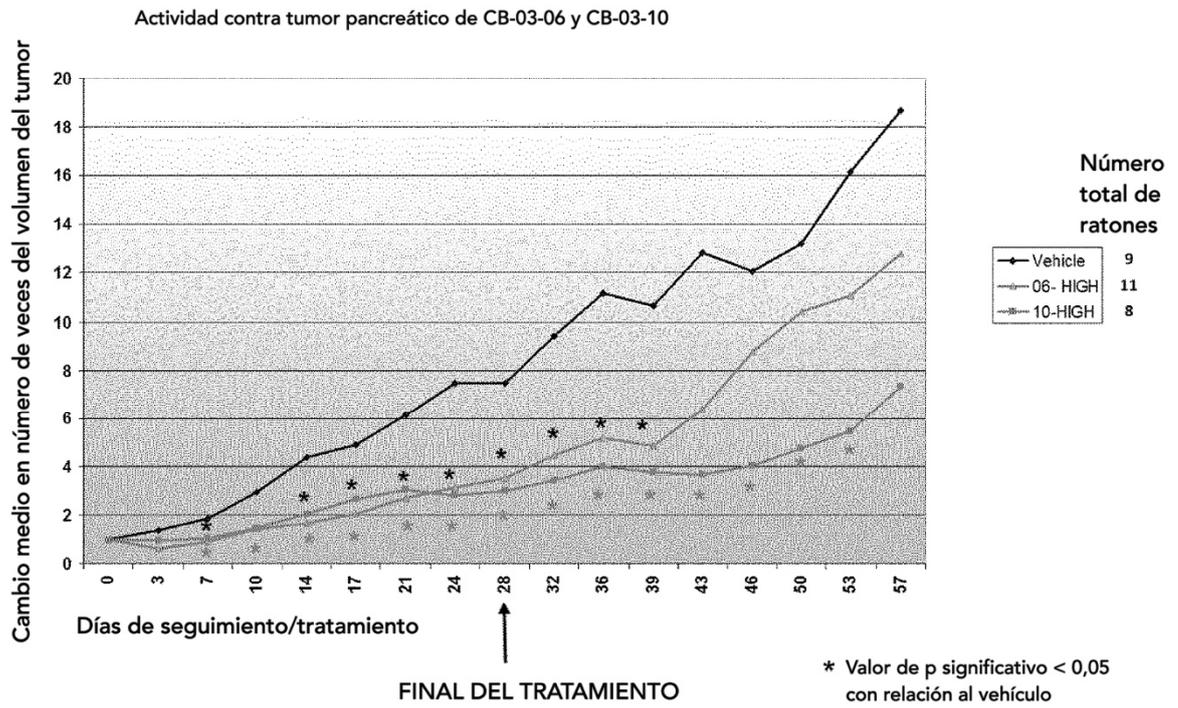
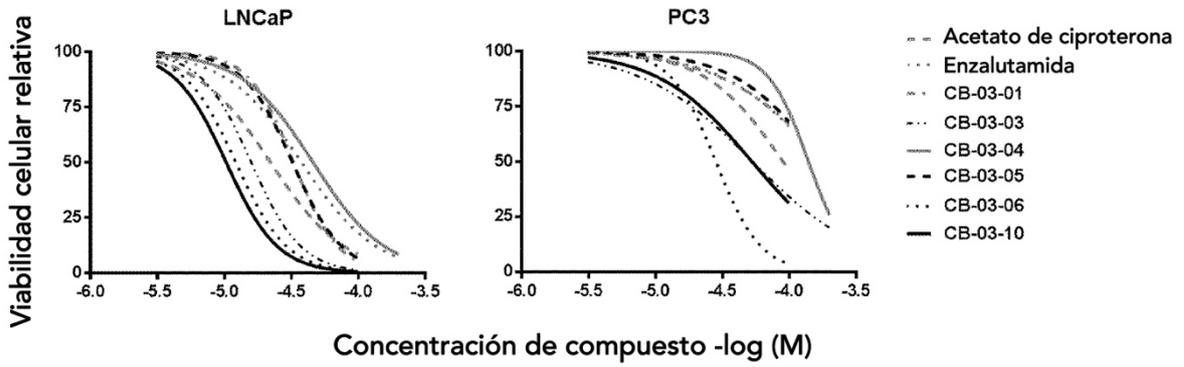


Figura 4

(a) Viabilidad celular de cáncer de próstata



(b) Viabilidad celular de cáncer pancreático

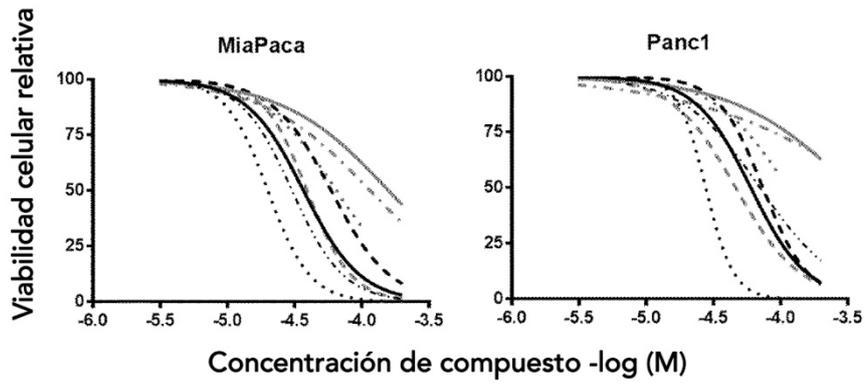
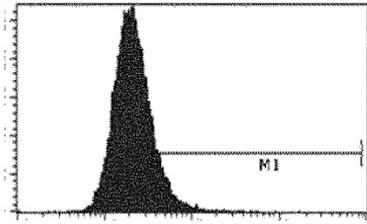
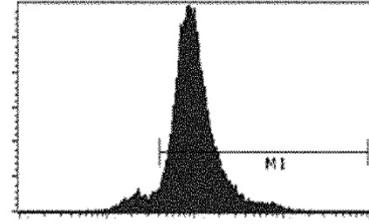


Figura 5

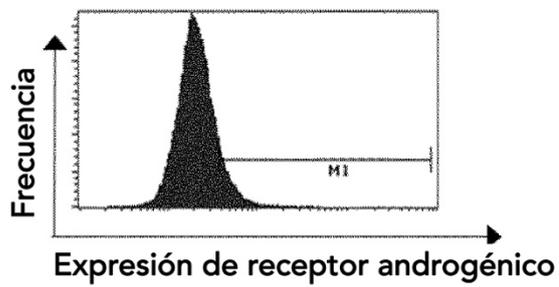
(a) PC-3 Próstata



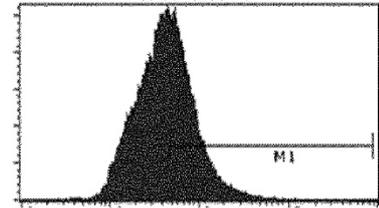
(b) LNCaP Próstata



(c) MiaPaca-2 Pancreático



(d) Panc-1 Pancreático



| Línea celular cancerosa | Expresión relativa de AR |
|-------------------------|--------------------------|
| PC-3 | 1 |
| MiaPaca-2 | 1 |
| Panc-1 | 2 |
| LNCaP | 5 |

Figura 6

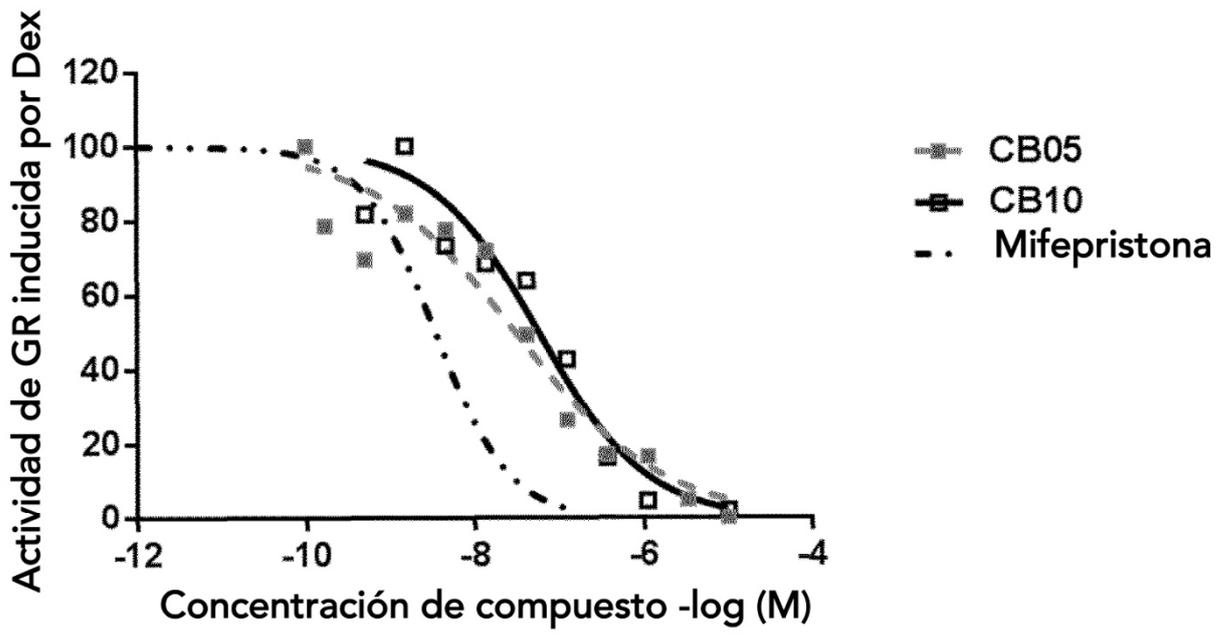


Figura 7

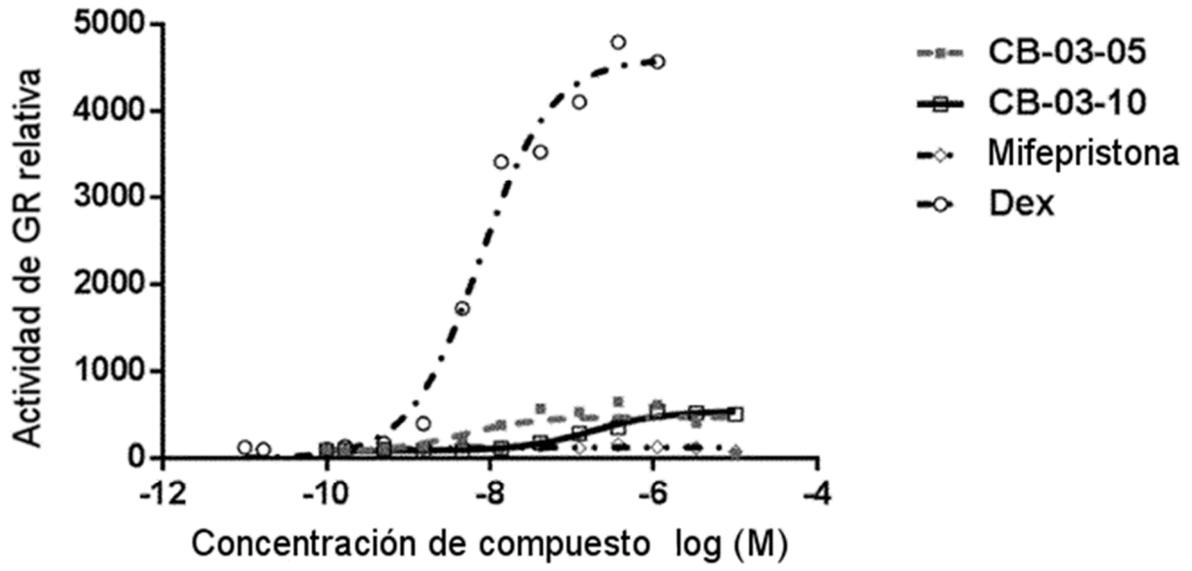
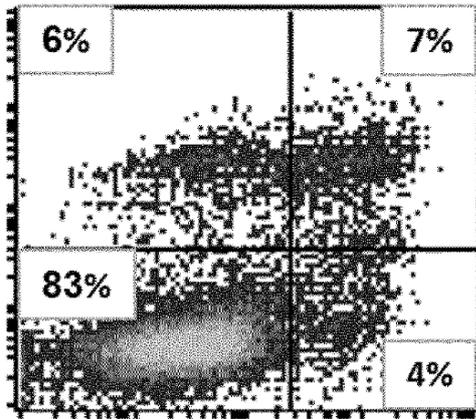
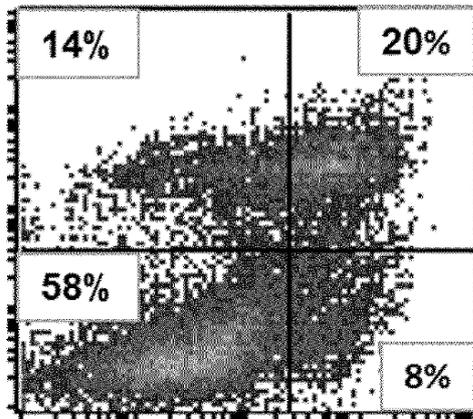


Figura 8



Control



CB-03-10

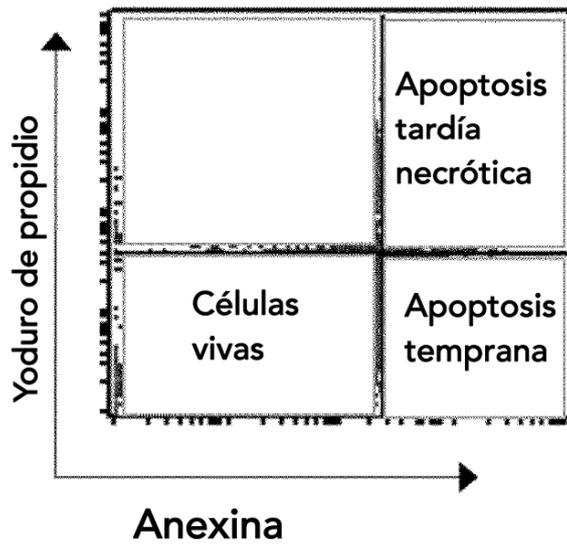


Figura 9

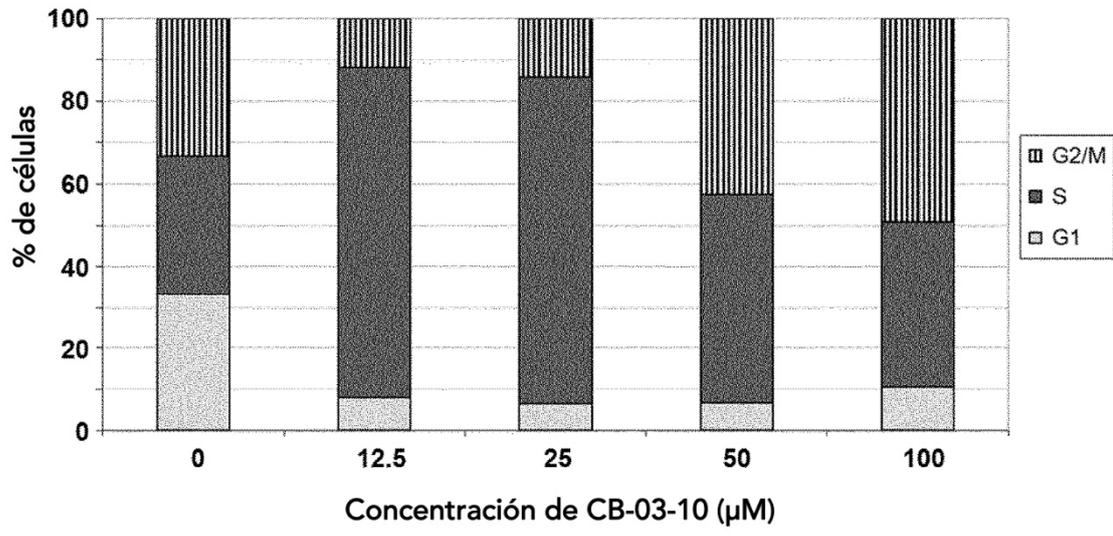


Figura 10

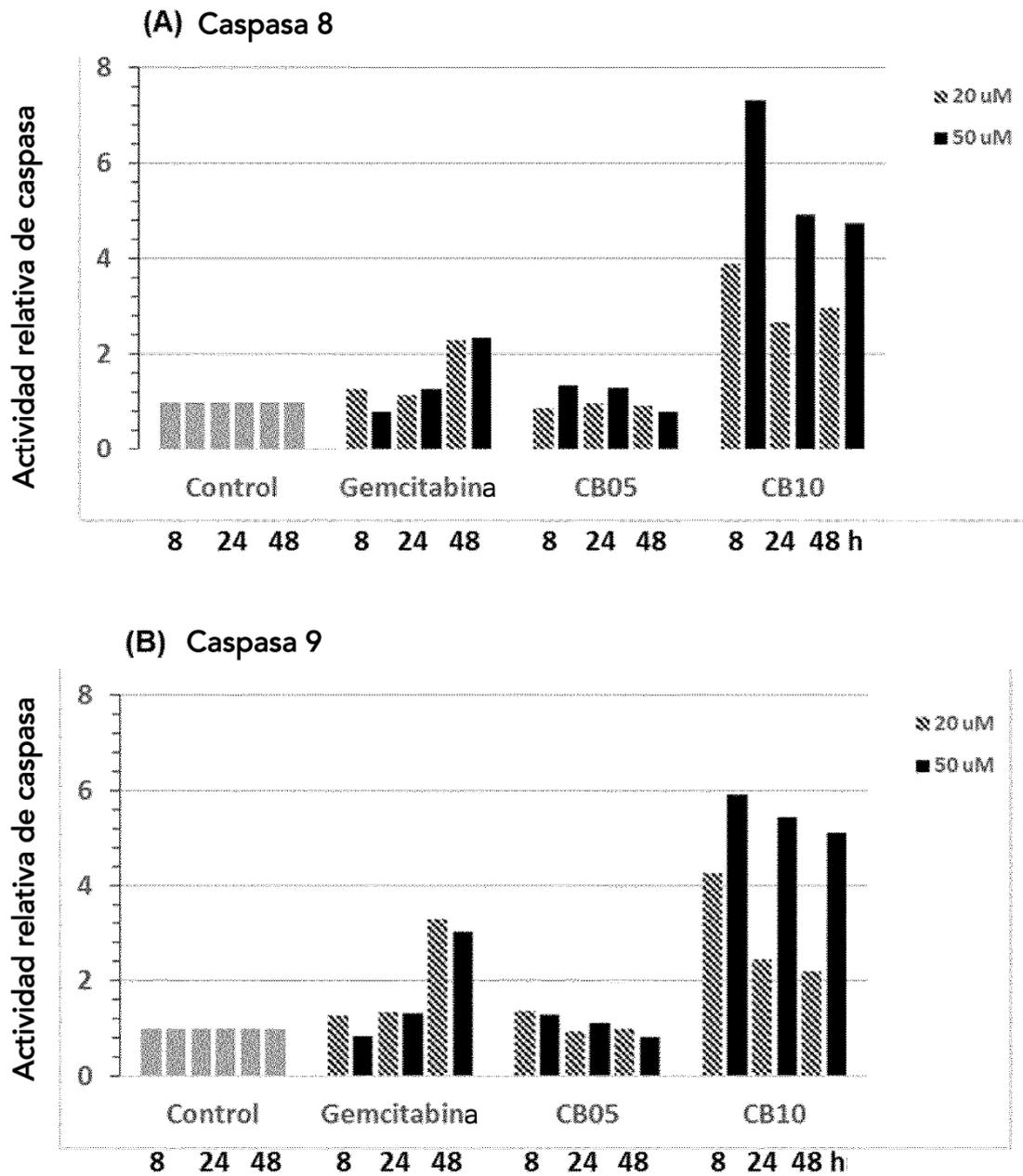


Figura 11

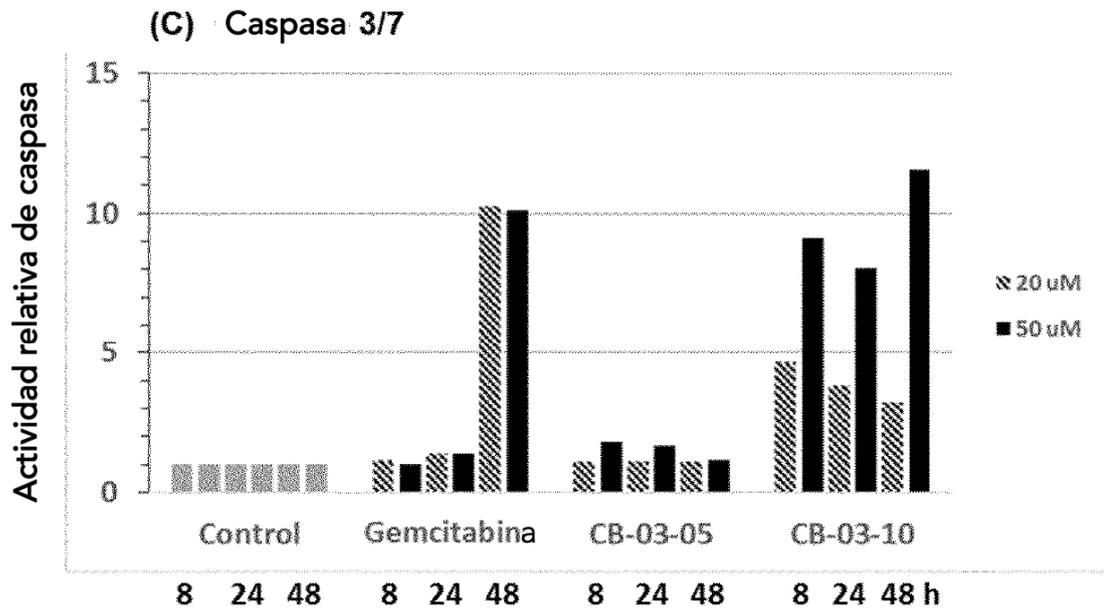
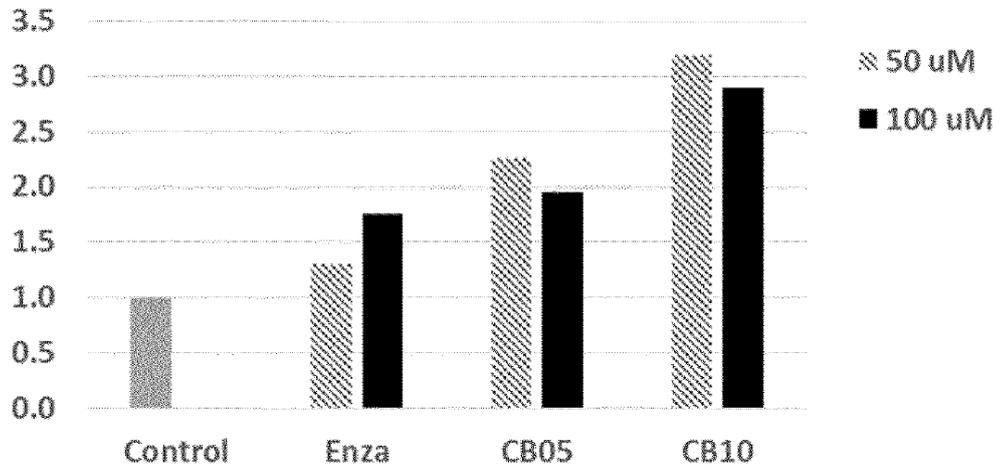


Figura 11

(A) Caspasa 8



(B) Caspasa 9

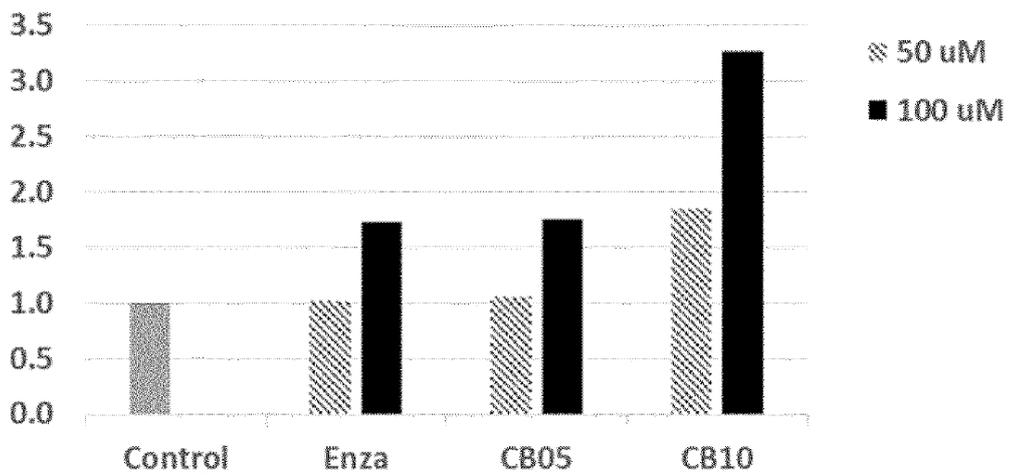


Figura 12

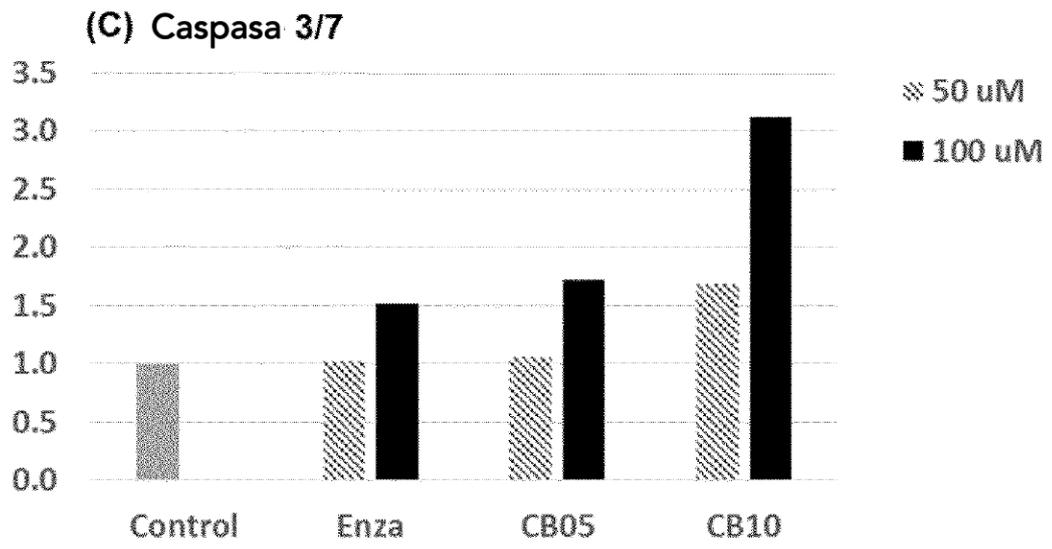
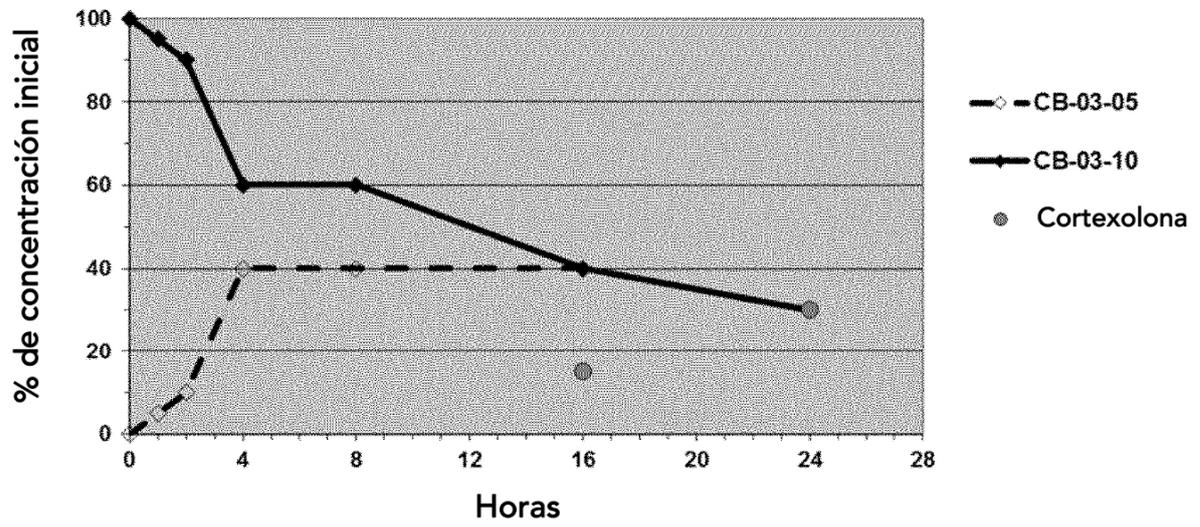


Figura 12

(A) SER HUMANO



(B) RATA

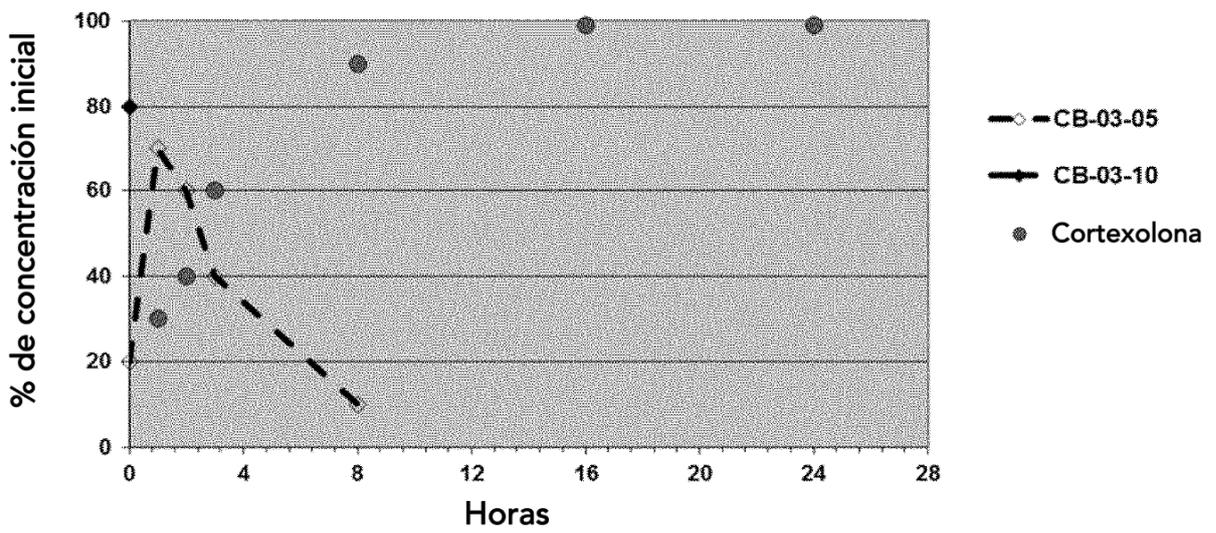
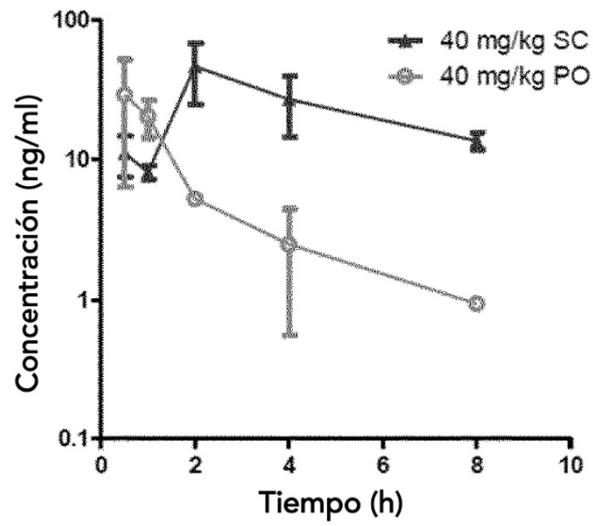


Figura 13

Farmacocinética de CB-03-05 en ratones después de la administración SC y PO de CB-03-10



| Vía | Dosificación | T_{max} | C_{max} | $T_{1/2}$ | MRT_{last} | MRT_{inf} | AUC_{last} | AUC_{inf} |
|-----|--------------|-----------|-----------|-----------|--------------|-------------|--------------|-------------|
| | | (hr) | (ng/mL) | (hr) | (hr) | (hr) | (hr*ng/mL) | (hr*ng/mL) |
| SC | 40 | 2 | 46.2 | 3.49 | 3.64 | 6.14 | 189 | 258 |
| PO | 40 | 0.5 | 29.1 | 2.47 | 1.77 | 2.42 | 47 | 50.4 |

Figura 14

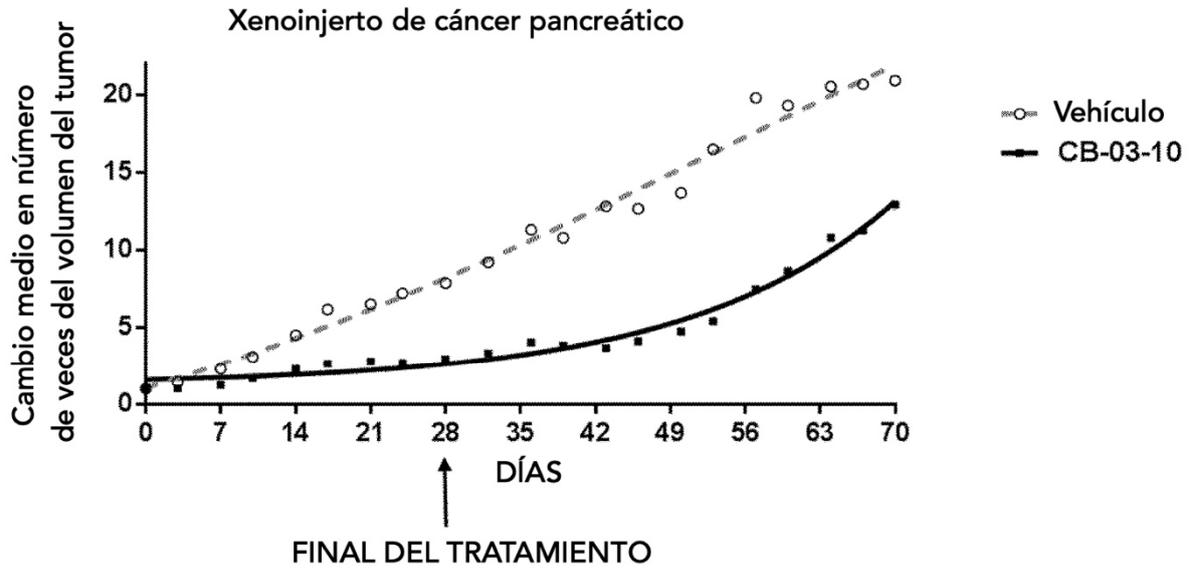


Figura 15

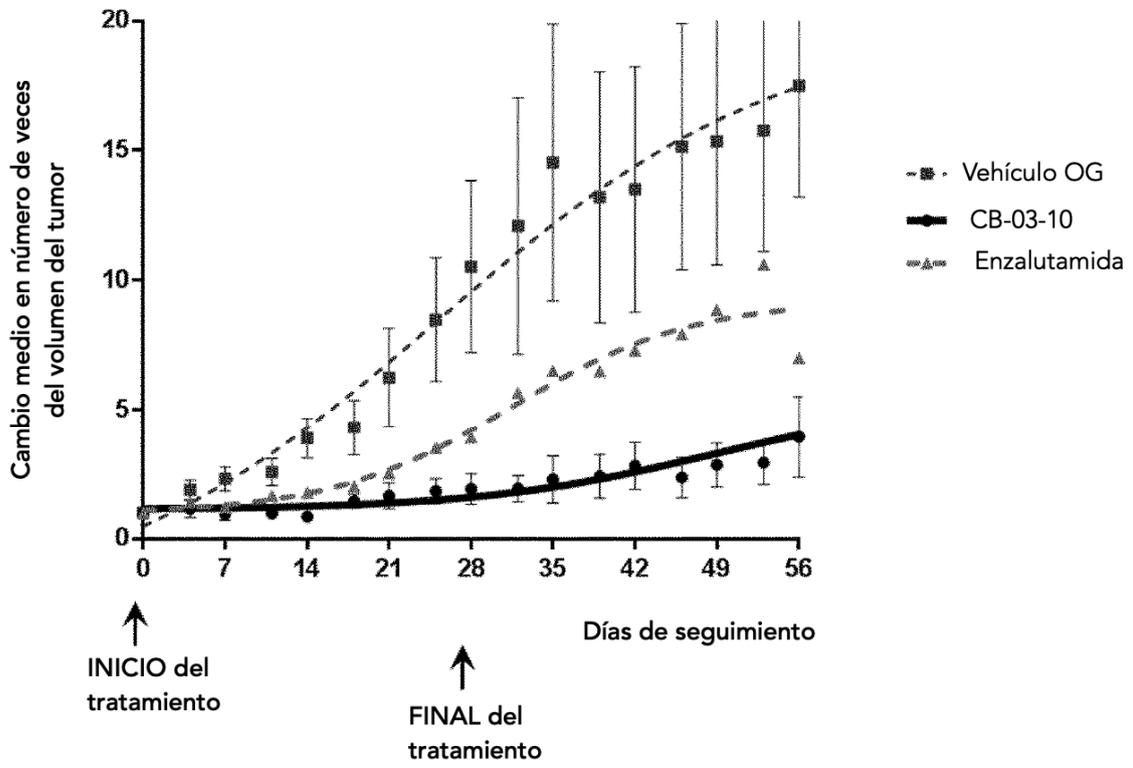


Figura 16

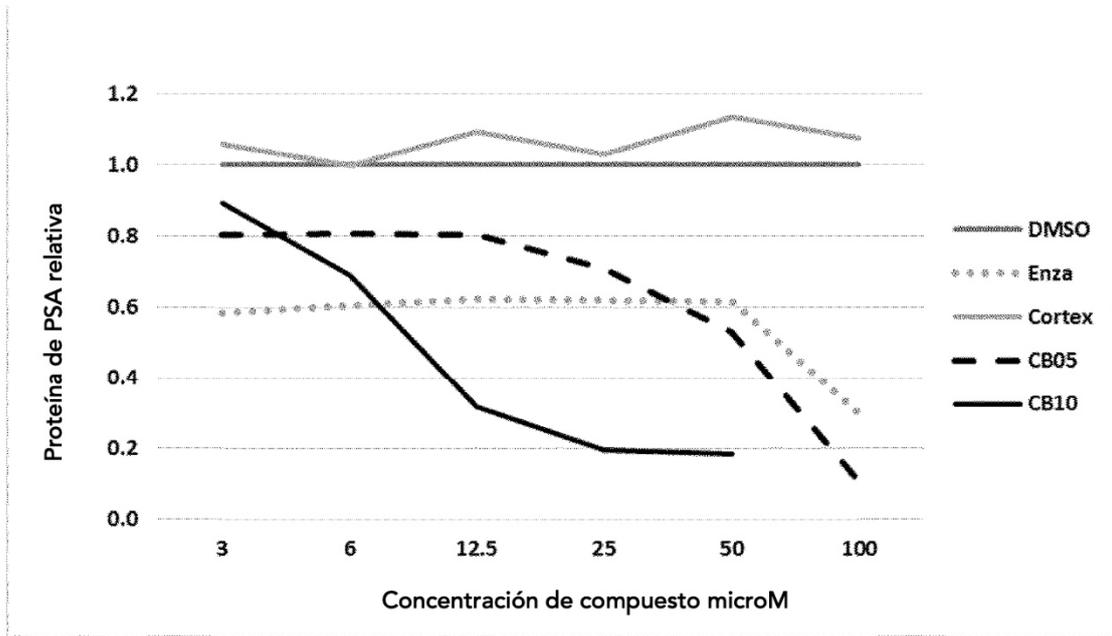


Figura 17

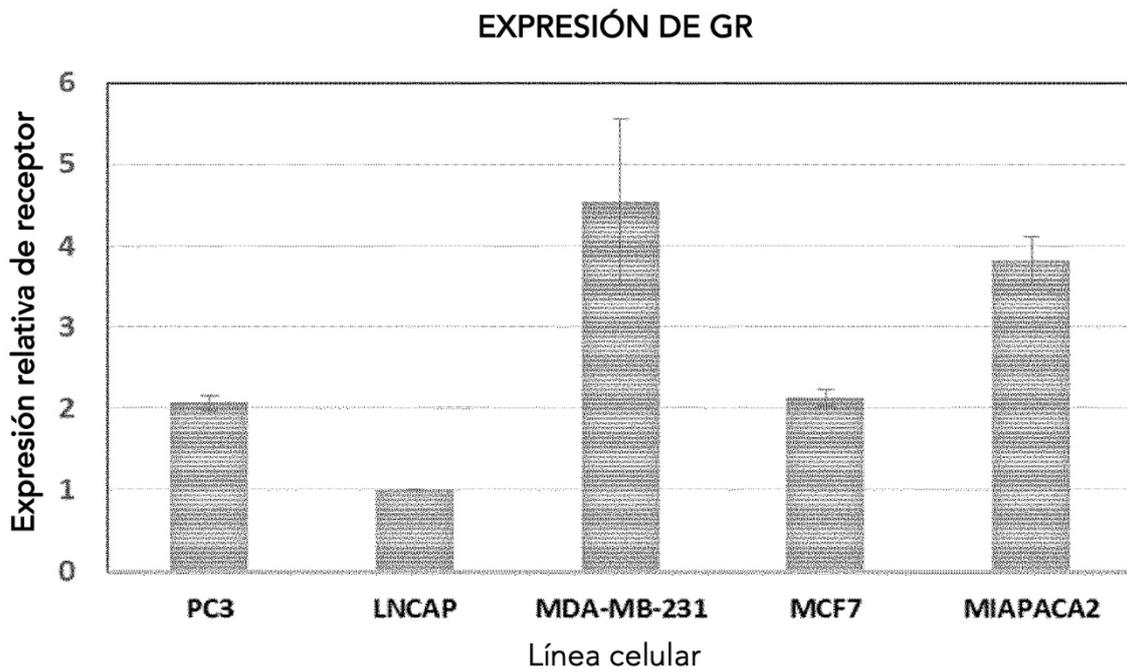
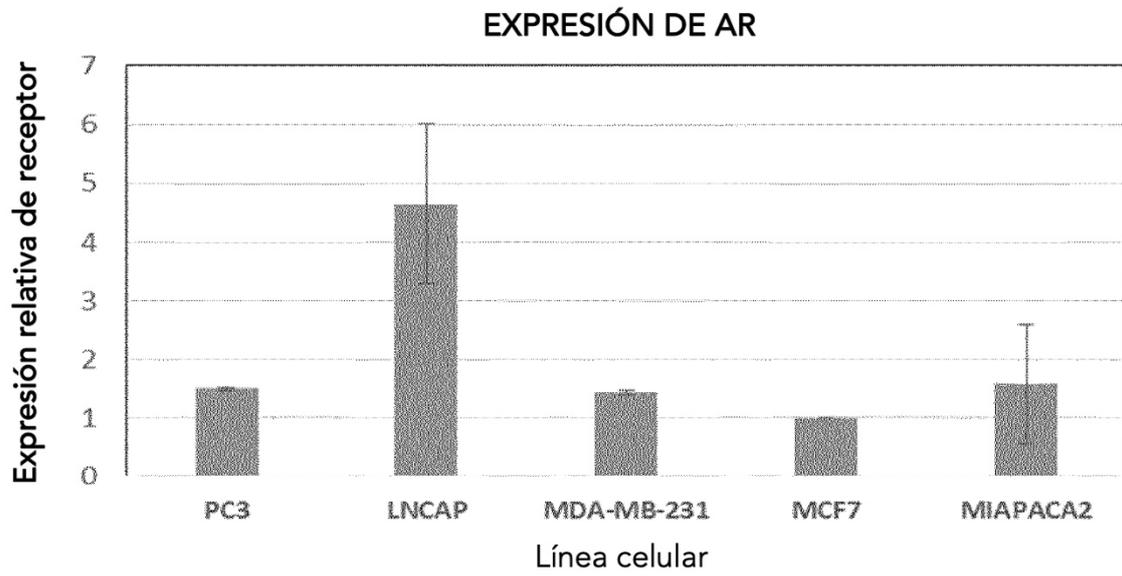


Figura 18