

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 773 753**

51 Int. Cl.:

A61K 9/08	(2006.01)
A61K 9/51	(2006.01)
A61K 31/353	(2006.01)
A61K 31/555	(2006.01)
A61K 31/337	(2006.01)
A61K 33/24	(2009.01)
A61K 47/40	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)
C07D 311/58	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2011 PCT/US2011/058815**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12061409**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2011 E 11838692 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 2635121**

54 Título: **Compuestos isoflavonoides y métodos para el tratamiento del cáncer**

30 Prioridad:

01.11.2010 US 408972 P

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

14.07.2020

73 Titular/es:

**MEI PHARMA, INC. (100.0%)
3611 Valley Centre Drive, Suite 500
San Diego, CA 92130, US**

72 Inventor/es:

**JEFFREYS, GEORGE;
JOHNSON, ALISON;
MORENO, OFIR y
HEATON, ANDREW**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 773 753 T3

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

DESCRIPCIÓN

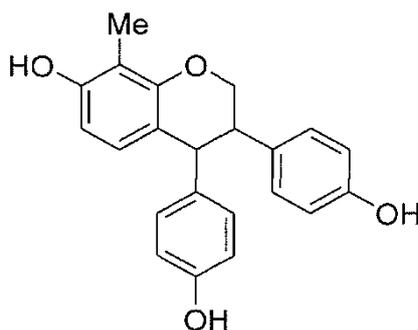
Compuestos isoflavonoides y métodos para el tratamiento del cáncer

5 **Antecedentes de la invención**

El cáncer es la causa principal de muerte en todo el mundo.

10 **Sumario de la invención**

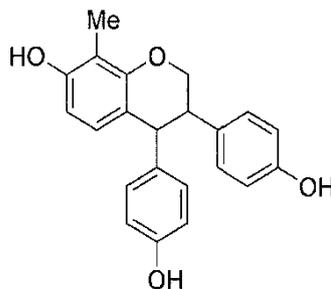
Se proporciona en el presente documento, en algunas realizaciones, una composición farmacéutica que comprende 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



15 en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis relativamente entre sí; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un agente antineoplásico seleccionado entre el grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, paclitaxel, gemcitabina, doxorubicina, epirubicina, ciclofosfamida, capecitabina, 5-fluorouracilo, vinorelbina, trastuzumab o bevacizumab. En realizaciones específicas, la composición farmacéutica comprende además carboplatino.

25 La invención también se refiere a un compuesto que es 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



30 en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis relativamente entre sí; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Se describe también en el presente documento dicho compuesto para su uso en la inducción de la apoptosis en una célula cancerosa. En algunas realizaciones, el tipo de célula cancerosa que experimenta apoptosis, o se convierte en diana de cualquier otra forma de acuerdo con cualquier método descrito en el presente documento, se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, linfoma no de Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides y cánceres del cerebro. En determinadas realizaciones, el tipo de célula cancerosa es de cáncer de mama, de próstata, de ovario, de páncreas, o de cuello de útero humanos. En determinadas realizaciones específicas, el tipo de célula cancerosa es de cáncer de mama o de cáncer de ovario humanos.

40 En algunas realizaciones, cualquier método descrito en el presente documento comprende además administrar, por ejemplo, a una célula diana, un agente quimioterápico. En realizaciones específicas, el agente quimioterapéutico se selecciona entre el grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, paclitaxel, gemcitabina o doxorubicina.

45 En determinadas realizaciones, una célula cancerosa que experimenta apoptosis, o se convierte en diana de cualquier otra forma de acuerdo con cualquier método descrito en el presente documento, está presente en un individuo. En realizaciones específicas, el individuo necesita una terapia contra el cáncer. En determinadas realizaciones específicas, la composición se administra al individuo por vía intravenosa.

Se describe también en el presente documento dicho compuesto como se ha definido en las reivindicaciones para su uso en el tratamiento del cáncer en un individuo que necesita tratamiento contra el cáncer.

5 Algunas realizaciones proporcionadas en el presente documento describen la composición como se define en las reivindicaciones para su uso en aumentar, inducir, o restaurar la sensibilidad de una célula cancerosa a un agente quimioterapéutico, agente antineoplásico o radioterapia. En algunas realizaciones, la célula cancerosa ha perdido la sensibilidad a un agente quimioterapéutico, agente antineoplásico o radioterapia.

10 En algunas realizaciones, el tipo de célula cancerosa o cáncer sensibilizado de acuerdo con un método descrito en el presente documento es cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, linfoma no de Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides o un cáncer del cerebro. En determinadas realizaciones, el tipo de célula cancerosa es de cáncer de mama, de próstata, de ovario, de páncreas, o de cuello de útero humanos. En determinadas realizaciones específicas, el tipo de célula cancerosa es de cáncer de mama o de cáncer de ovario humanos. En realizaciones más específicas, la célula cancerosa es una célula de cáncer de mama humano. En otras realizaciones específicas, la célula cancerosa es una célula de cáncer de ovario humano.

15 En determinadas realizaciones, la célula cancerosa sensibilizada de acuerdo con un método descrito en el presente documento está presente en un individuo. En realizaciones específicas, el individuo necesita una terapia contra el cáncer. En determinadas realizaciones específicas, la composición se administra al individuo por vía intravenosa. En algunas realizaciones, la célula cancerosa ha perdido la sensibilidad a un agente quimioterapéutico o a la radioterapia.

20 Algunas realizaciones proporcionadas en el presente documento describen un kit que comprende el compuesto como se define en las reivindicaciones. En algunas realizaciones, el kit proporcionado en el presente documento tiene una bolsa de infusión de plástico precintable. En algunas realizaciones, el kit comprende además una vía intravenosa. En otras realizaciones, el kit comprende además una aguja.

30 Descripción detallada de la invención

Existe una necesidad continuada de desarrollar y proporcionar terapias eficaces para el tratamiento del cáncer. Se describe en el presente documento una composición que tiene actividad antineoplásica. La composición descrita en el presente documento comprende un derivado isoflavonoide como se define en las reivindicaciones. Se proporciona también en el presente documento dicho compuesto para su uso en métodos para inducir la apoptosis en una célula cancerosa, en métodos para tratar el cáncer en individuos que necesitan terapia contra el cáncer, y métodos para aumentar la sensibilidad de una célula cancerosa a un agente quimioterapéutico y/o radioterapia (o para sensibilizar a un individuo a una quimioterapia concreta).

40 Algunas definiciones

A menos que se indique otra cosa, la terminología usada en el presente documento debe proporcionar su significado normal como entiende un experto en la materia.

45 El término "alquilo", como se usa en el presente documento, solo o en combinación, se refiere a un monorradical hidrocarburo de cadena lineal opcionalmente sustituido, o a un monorradical hidrocarburo de cadena ramificada opcionalmente sustituido que tiene de uno a aproximadamente diez átomos de carbono, más preferentemente de uno a seis átomos de carbono. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-3-butilo, 2,2-dimetil-1-propilo, 2-metil-1-pentilo, 3-metil-1-pentilo, 4-metil-1-pentilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 2,2-dimetil-1-butilo, 3,3-dimetil-1-butilo, 2-etil-1-butilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, *terc*-amilo y hexilo, y grupos alquilo más largos, tales como heptilo, octilo y similares. Cada vez que aparece en el presente documento, un intervalo numérico tal como "alquilo C₁-C₆" o "alquilo C₁₋₆", significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, 4 átomos de carbono, 5 átomos de carbono or 6 átomos de carbono, aunque la presente definición también cubre la aparición del término "alquilo" cuando no se designa ningún intervalo.

60 Los términos "-alquil C₁-C₃" y "-alquil C₁-C₆" como se usa en el presente documento se refieren a radicales hidrocarburo de cadena lineal o ramificada, derivados de un resto hidrocarburo que contiene entre uno y tres, uno y seis, y uno y doce átomos de carbono, respectivamente, mediante la eliminación de un único átomo de hidrógeno. Los ejemplos de radicales -alquilo C₁-C₃ incluyen metilo, etilo, propilo e isopropilo. Los ejemplos de radicales -alquilo C₁-C₆ incluyen, aunque no de forma limitativa, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, *terc*-butilo, neopentilo y n-hexilo.

65 El término "cicloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo monovalente derivado de un compuesto de anillo carbocíclico, monocíclico o bicíclico saturado que contiene entre tres y veinte átomos de

carbono mediante la eliminación de un único átomo de hidrógeno.

El término "cicloalquilo C₃-C₆" denota un grupo monovalente derivado de un compuesto de anillo carbocíclico, monocíclico o bicíclico saturado mediante la eliminación de un único átomo de hidrógeno. Los ejemplos incluyen

5

El grupo alquilo o el grupo cicloalquilo puede estar sustituido opcionalmente por uno o más de flúor, cloro, bromo, yodo, carboxilo, alcocarbonilo C₁₋₄, alquilaminocarbonilo C₁₋₄, di-(alquil C₁₋₄)-aminocarbonilo, hidroxilo, alcoxi C₁₋₄, formiloxi, alquilcarboniloxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆ o fenilo.

10

El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, solo o en combinación, se refiere a un radical alquil éter, -O-alquilo, incluyendo los grupos -O-alifático y -O-carbocíclico, en donde los grupos alquilo, alifático y carbocíclico pueden estar opcionalmente sustituidos, y en el que los términos alquilo, alifático y carbocíclico son como se definen en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de radicales alcoxi incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi,

15

Los términos "-alcoxi C₁-C₃", "-alcoxi C₁-C₆", como se usan en el presente documento, se refieren al grupo -alquilo C₁-C₃ y al grupo -alquilo C₁-C₆, como se ha definido anteriormente, unidos al resto molecular precursor a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos de radicales -alcoxi C₁-C₆ incluyen, aunque no de forma limitativa, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, *tert*-butoxi, neopentoxi y n-hexoxi.

20

El término "halo" y "halógeno" como se usa en el presente documento se refiere a un átomo seleccionado entre flúor, cloro, bromo y yodo.

25

El término "haloalquilo" incluye "alquilo" en el que uno o más de dichos 1, 2, 3, 4 o 5 de los hidrógenos se han sustituido por un átomo de halo. El haloalquilo puede ser una unidad de "alquilo" de cadena lineal o de cadena ramificada. Los ejemplos no limitantes incluyen -CH₂F, -CHF₂, -CF₃, -CH₂CH₂F, -CH₂CHF₂, -CH₂CF₃, -CF₂CH₂F, -CF₂CHF₂, -CF₂CF₃, -CH₂Cl, -CHCl₂, -CCl₃, -CH₂Br, -CHBr₂, y -CBr₃.

30

El término "fluoroalquilo" incluye "alquilo" en el que uno o más de dichos 1, 2, 3, 4 o 5 de los hidrógenos que se han sustituido por flúor. El fluoroalquilo puede ser una unidad de "alquilo" de cadena lineal o cadena ramificada. Los grupos fluoroalquilo preferidos incluyen trifluorometilo y pentafluoroetilo.

35

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a un material, incluyendo, aunque no de forma limitativa, a una sal, un vehículo o un diluyente, que no anulen la actividad biológica o propiedades del compuesto, y sea relativamente no tóxico, es decir, el material puede administrarse a un individuo sin provocar efectos biológicos indeseables o sin interactuar de una manera perjudicial con cualquiera de los componentes de la composición en la que está contenido.

40

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionadas con una relación beneficio/riesgo razonable. Por ejemplo, S. M. Berge, et al. describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). Las sales se preparan in situ durante el aislamiento y la purificación

45

finales de los compuestos descritos en el presente documento, o por separado haciendo reaccionar la función de base libre con un ácido orgánico adecuado. Los ejemplos de sales de adición de ácidos no tóxicas farmacéuticamente aceptables, son las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico o con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico o usando

50

otras metodologías documentadas tales como el intercambio iónico. Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de adipato, alginato, ascorbato, aspartato, benenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, p-toluenosulfonato, undecanoato, las sales de valerato y similares. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas

55

incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea adecuado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando

60

contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, alquil sulfonato y aril sulfonato inferiores.

debe entenderse que una referencia a una sal incluye las formas de adición de disolventes o las formas cristalinas de las mismas, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades tanto estequiométricas como no estequiométricas de un disolvente, y se forman a menudo durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. Se forman hidratos cuando el

65

disolvente es agua o se forman alcoholatos cuando el disolvente es alcohol. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento cristalino de la misma composición elemental de un compuesto. Normalmente, los polimorfos tienen diferentes patrones de difracción de rayos X, espectros infrarrojos, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. Diversos factores, tales como el disolvente de cristalización, la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden provocar que predomine una sola forma cristalina.

El término "ciclodextrina", como se usa en el presente documento, se refiere a hidratos de carbono cíclicos que consisten en al menos seis a ocho moléculas de azúcar en una formación de anillo. La parte exterior del anillo contiene grupos solubles en agua; el centro del anillo es una cavidad relativamente no polar capaz de acomodar moléculas pequeñas.

La expresión "cantidad eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad suficiente de un agente o un compuesto que se administra que aliviará en alguna extensión uno o más de los síntomas de la enfermedad o dolencia que se está tratando. El resultado puede ser la reducción y/o el alivio de los signos, síntomas o causas de una enfermedad, o cualquier otra alteración deseada de un sistema biológico. Una cantidad "eficaz" adecuada en cualquier caso individual puede determinarse usando técnicas, tales como el estudio de aumento de la dosis.

El término "paciente", "sujeto" o "individuo" se usa de manera indistinta. Como se usa en el presente documento, se refiere a individuos que padecen un trastorno, y similares, abarcan mamíferos y no mamíferos. Ninguno de los términos requiere que el individuo esté bajo el cuidado y/o la supervisión de un profesional médico. Los mamíferos son cualquier miembro de la clase mamífero, incluyendo, aunque no de forma limitativa los seres humanos, primates no humanos tales como chimpancés, y otros simios y especies de monos; animales de granja, tales como vacas, caballos, ovejas, cabras, cerdos; animales domésticos, tales como conejos, perros y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y cobayas, y similares. Los ejemplos de animales que no son mamíferos incluyen, aunque no de forma limitativa, aves, peces y similares. En algunas realizaciones de los métodos y composiciones proporcionados en el presente documento, el individuo es un mamífero. En realizaciones preferidas, el individuo es un ser humano.

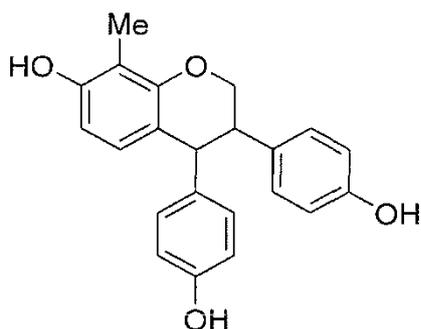
Los términos "tratar", "que trata" o "tratamiento", como se usa en el presente documento, incluyen aliviar, mitigar o mejorar una enfermedad o dolencia o uno o más síntomas de la misma, evitar síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, inhibir la enfermedad o dolencia, por ejemplo, detener el desarrollo de la enfermedad o dolencia, aliviar la enfermedad o dolencia, provocar la regresión de la enfermedad o dolencia, aliviar una dolencia producida por la enfermedad o dolencia, o detener los síntomas de la enfermedad o dolencia, y se pretende incluir la profilaxis. Los términos incluyen además conseguir un beneficio terapéutico y/o un beneficio profiláctico. Por beneficio terapéutico se entiende la erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando. También, se consigue un beneficio terapéutico con la erradicación o mejora de uno o más de los síntomas fisiológicos asociados con el trastorno subyacente de tal manera que se observe una mejora en el individuo, a pesar de que el individuo este todavía muy afectado por el trastorno subyacente. Para el beneficio profiláctico, las composiciones se administran a un individuo en riesgo de desarrollar una enfermedad concreta, o a un individuo que presenta uno o más de los síntomas fisiológicos de una enfermedad, incluso aunque no se haya realizado un diagnóstico de esta enfermedad.

Los términos "prevenir" o "prevención" se refieren a una reducción en el riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno (**es decir**, hacer que al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrolle en a sujeto que puede estar dispuesto o predispuesto a la enfermedad pero que no ha experimentado o mostrado todavía los síntomas de la enfermedad).

El término "vehículo", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos o agentes químicos relativamente no tóxicos que facilitan la incorporación de un compuesto en células o tejidos.

Compuestos

Algunas realizaciones de la presente invención describen una composición farmacéutica que comprende 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol (compuesto 5):

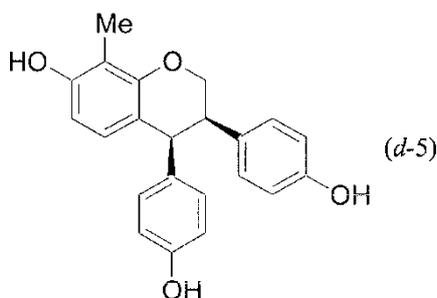


en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis relativamente entre sí; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 La presente invención incluye todos los enantiómeros así como las mezclas de los mismos con diastereómeros en cualquier proporción. Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus diastereómeros individuales basándose en sus diferencias fisicoquímicas mediante métodos tales como cromatografía y/o cristalización fraccionada. Los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica mediante reacción con un compuesto ópticamente activo adecuado (por ejemplo, alcohol),
 10 separando los diastereoisómeros y convirtiendo (por ejemplo, mediante hidrólisis) los diastereoisómeros individuales en los correspondientes enantiómeros puros.

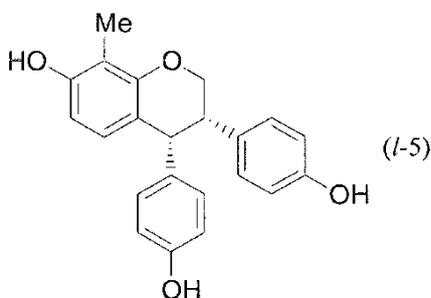
En otras realizaciones, cualquier compuesto descrito en el presente documento está en forma ópticamente pura (por ejemplo, isómeros (+) y (-), (R)- o (S)- o, *d*- e *l*-, o (D)- y (L) ópticamente activos). En determinadas realizaciones preferidas, el compuesto es el isómero *d*. Por consiguiente, se proporciona en el presente documento, en algunas realizaciones, el isómero *d* es el ópticamente activo en un exceso enantiomérico. En algunas realizaciones, el isómero *d* del compuesto se proporciona en al menos un 50%, 55%, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 95%, o 99,9% de exceso enantiomérico. En otras realizaciones, el isómero *d* del compuesto se proporciona en más del 50%, 55%, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 88 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 99,5 %, o 99,9% de exceso enantiomérico. En realizaciones específicas, el compuesto tiene más del 95% de exceso enantiomérico.

Se muestran a continuación los compuestos:



25

d-cis-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol (*d*-5)



30

l-cis-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol (*l*-5).

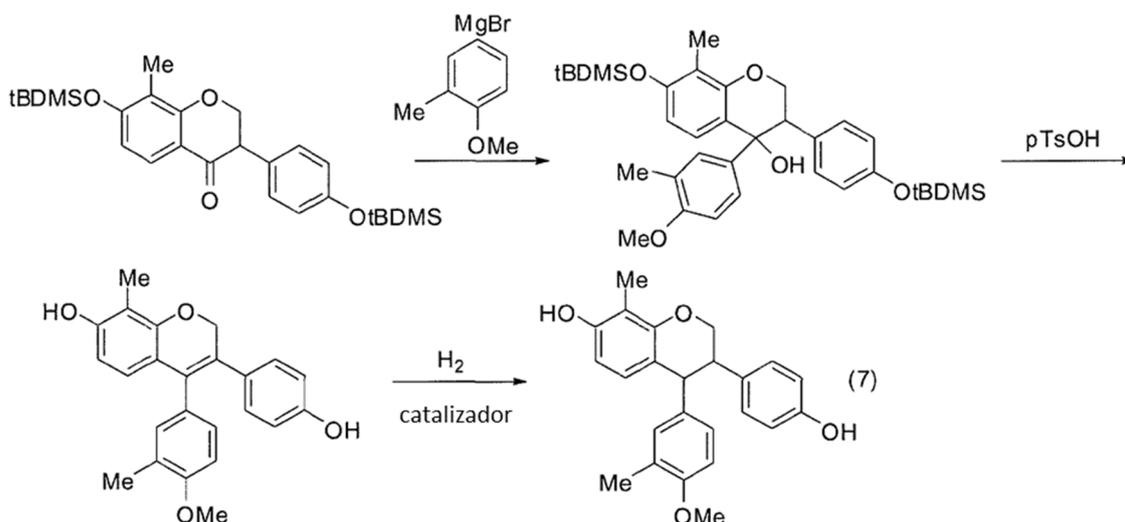
En realizaciones específicas, el compuesto tiene más del 95% de exceso enantiomérico. En realizaciones específicas, el compuesto tiene más del 98 % de exceso enantiomérico. En realizaciones específicas, el compuesto tiene más del 99 % de exceso enantiomérico. En realizaciones específicas, el compuesto tiene más del 99,9 % de exceso enantiomérico.

35

En realizaciones adicionales o posteriores, los compuestos descritos en el presente documento se metabolizan tras su administración a un organismo que lo necesita para producir un metabolito que después se usa para producir un efecto deseado, incluyendo un efecto terapéutico deseado.

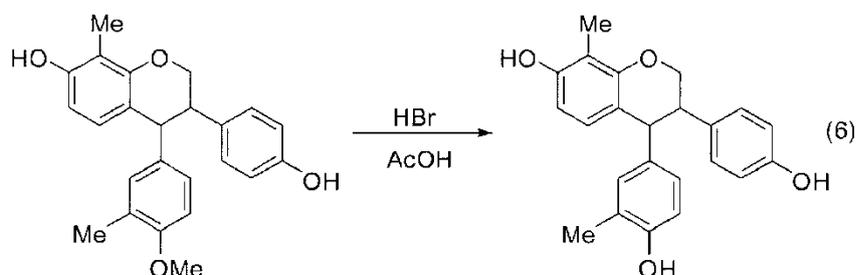
5
 10
 15
 20
 Cualquier compuesto descrito en el presente documento puede sintetizarse de acuerdo con la síntesis ilustrativa que se muestra en los Esquemas 1 y 2. Por ejemplo, los compuestos 6 y 7 se sintetizaron a partir de 4'-bis-*tert*-butildimetilsiloxi-8-metildihidrodaidzeína. 4'-bis-*tert*-butildimetilsiloxi-8-metildihidrodaidzeína se trató con bromuro de 4-metoxi-3-metilfenilmagnesio en THF anhidro. La mezcla de reacción se trató con éter húmedo (50:50 H₂O/Et₂O). La mezcla resultante se extrajo con Et₂O. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío. El residuo resultante se trató con pTsOH y etanol. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío a continuación se vertió en agua (0 °C). La mezcla se extrajo con EtOAc, a continuación, la capa orgánica se lavó con agua (3 x) y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el 3-alqueno intermedio. El intermedio se trató con catalizador de Pd y etanol. La mezcla de reacción se hidrogenó a presión baja durante 3 h. La reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró hasta un volumen de 15 ml. La solución resultante se añadió a agua. La mezcla se extrajo con Et₂O (3 x), las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua y salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo resultante se purificó mediante recristalización para proporcionar el compuesto 7.

Esquema 1



25
 30
 El compuesto 7 se transfirió a un matraz purgado con nitrógeno. Se añadió bromuro de hidrógeno en ácido acético (33 % en peso) gota a gota a la mezcla de reacción. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo a 130 °C durante 7 h. La mezcla de reacción se introdujo en un baño de hielo y el pH se ajustó a 6. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna para producir el compuesto 6.

Esquema 2



35 Métodos

Algunas realizaciones proporcionadas en el presente documento describen el compuesto de la invención para su uso en un método para inducir la apoptosis en una célula cancerosa. En realizaciones específicas, el método comprende poner en contacto la célula cancerosa con una composición como se define en las reivindicaciones.

Como también se describe en el presente documento, en otras realizaciones, el compuesto es para su uso en un método para tratar el cáncer en un individuo que necesita terapia contra el cáncer. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar al individuo la composición que comprende un compuesto como se define en las reivindicaciones. En determinadas realizaciones, el cáncer o la célula cancerosa está presente en un individuo. En realizaciones específicas, el individuo necesita una terapia contra el cáncer.

En otras realizaciones, Se proporciona en el presente documento el compuesto para su uso en un método para aumentar, inducir, o restaurar la sensibilidad de una célula cancerosa a un agente quimioterapéutico, agente antineoplásico o radioterapia. En determinadas realizaciones, el método comprende poner en contacto dicha célula con una composición que comprende un compuesto como se define en las reivindicaciones. En otras realizaciones, Se proporciona en el presente documento el compuesto para su uso en un método para aumentar, inducir, o restaurar la sensibilidad a una terapia contra el cáncer en un individuo. En determinadas realizaciones, el método comprende administrar al individuo una composición que comprende un compuesto como se define en las reivindicaciones.

En algunas realizaciones, el cáncer o la célula cancerosa ha perdido la sensibilidad a un agente quimioterapéutico, agente antineoplásico o radioterapia. En otras realizaciones, la combinación de una composición que comprende un compuesto como se define en las reivindicaciones y un agente quimioterapéutico, un agente antineoplásico o la radioterapia tiene un efecto potenciado. En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento quimiosensibilizan las células cancerosas, en el que los compuestos minimizan la cantidad de agente antineoplásico que se requiere para destruir la célula cancerosa. En otras realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento quimiosensibilizan las células cancerosas, en el que los compuestos convierten las células cancerosas desde un estado quimiorresistente a un estado quimiosensible. En realizaciones alternativas o adicionales, los compuestos descritos en el presente documento radiosensibilizan las células cancerosas, en el que los compuestos minimizan la cantidad de irradiación gamma que se requiere para destruir la célula cancerosa. En otras realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento radiosensibilizan las células cancerosas, en el que los compuestos convierten las células cancerosas desde un estado radiorresistente a un estado radiosensible.

Se proporciona en el presente documento en algunas realizaciones, un compuesto para su uso en un método para tratar el cáncer en un individuo, que comprende administrar al individuo una composición que comprende un compuesto (es decir, un derivado isoflavonoide) como se define en las reivindicaciones, en el que los efectos secundarios asociados con la quimioterapia, radioterapia, o terapia contra el cáncer se reducen o minimizan. En algunos casos, los compuestos descritos en el presente documento proporcionan propiedades quimioprotectoras y/o radioprotectoras a las células no cancerosas. En otras realizaciones, el uso del isómero de los compuestos descritos en el presente documento disminuye la cantidad de compuesto que se requiere para destruir la célula cancerosa o tratar el cáncer. En realizaciones alternativas o adicionales, la cantidad inferior de compuesto reduce o minimiza cualquier efecto secundario indeseado asociado con la quimioterapia. Los ejemplos no limitantes de efectos secundarios asociados con la quimioterapia, radioterapia o terapia contra el cáncer incluyen fatiga, anemia, cambios de apetito, problemas de sangrado, diarrea, estreñimiento, caída del cabello, náuseas, vómitos, dolor, neuropatía periférica, hinchazón, cambios en la piel y las uñas, cambios urinarios y en la vejiga, y problemas al tragar.

Cualquiera de los métodos descritos en el presente documento, en algunas realizaciones, comprende además administrar la terapia contra el cáncer al individuo o paciente. En determinadas realizaciones, la terapia contra el cáncer es, a modo de ejemplo no limitante, al menos un agente antineoplásico (por ejemplo, un agente quimioterapéutico), radioterapia, o cirugía. En algunas realizaciones, una combinación de (1) la administración de una cantidad eficaz de un compuesto descrito en el presente documento y (2) 1 a 3 terapias seleccionadas entre el grupo que consiste en (i) la administración de una cantidad eficaz de agentes antineoplásicos adicionales, (ii) la administración de una cantidad eficaz de agentes terapéuticos hormonales y (iii) la terapia sin fármacos evita y/o trata el cáncer más eficazmente.

Un agente antineoplásico incluye, aunque no de forma limitativa, un agente quimioterapéutico, un agente inmunoterapéutico, un agente farmacéutico que inhibe la acción del factor del crecimiento celular y un receptor del mismo y similares. Entre los agentes quimioterapéuticos que se emplean opcionalmente, a modo de ejemplo no limitante, están cisplatino, carboplatino, paclitaxel, gemcitabina o doxorubicina. Además, los ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos incluyen agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antineoplásicos, agentes antineoplásicos derivados de plantas, y similares.

Los agentes alquilantes incluyen, aunque no de forma limitativa, mostaza de nitrógeno, clorhidrato de N-óxido de mostaza de nitrógeno, clorambutilo, ciclofosfamida, ifosfamida, tiotepa, carbocouona, tosiloato de improsulfán, busulfán, clorhidrato de nimustina, mitobronitol, melfalán, dacarbazina, ranimustina, fosfato de sodio estramustina, trietilenmelamina, carmustina, lomustina, estreptozocina, pipobromano, etoglúcido, carboplatino, cisplatino, miboplatino, nedaplatino, oxaliplatino, altretamina, ambamustina, clorhidrato de dibrospidio, fotemustina, prednimustina, pumitepa, ribomustina, temozolomida, treosulfan, trofosfamida, estimalámero de zinostatina, adozelesina, cistemustina, bizelesina, y similares.

Los antimetabolitos incluyen, aunque no de forma limitativa, mercaptopurina, ribósido de 6-mercaptopurina,

5 tiinosina, metotrexato, encitabina, citarabina, ocfosfato de citarabina, clorhidrato de ancitabina, fármacos de 5-FU (por ejemplo, fluorouracilo, tegafur, UFT, doxifluridina, carmofur, galocitabina, emitefur, y similares), aminopterina, leucovorina cálcica, tabloid, butocina, folinato de calcio, levofolinato de calcio, cladribina, emitefur, fludarabina, gemcitabina, hidroxycarbamida, pentostatina, piritrexim, idoxuridina, mitoguazona, tiazofrina, ambamustina y similares.

10 Los antibióticos antineoplásicos incluyen, aunque no de forma limitativa, actinomicina-D, actinomicina-C, mitomicina-C, cromomicina-A3, clorhidrato de bleomicina, sulfato de bleomicina, sulfato de peplomicina, clorhidrato de daunarrubicina, clorhidrato de doxorubicina, clorhidrato de aclaurubicina, clorhidrato de pirarrubicina, clorhidrato de epirubicina, neocarzinostatina, mitramicina, sarcomicina, carcinofilina, mitotano, clorhidrato de zorrubicina, clorhidrato de mitoxantrona, clorhidrato de idarrubicina, y similares.

15 Los agentes antineoplásicos derivados de plantas incluyen, aunque no de forma limitativa, etopósido, fosfato de etopósido, sulfato de vinblastina, sulfato de vincristina, sulfato de vindesina, tenipósido, paclitaxel, docetaxel, vinorelbina, y similares.

20 Los agentes inmunoterapéuticos incluyen, aunque no de forma limitativa, picibanilo, krestina, sizofurano, lentinano, ubenimex, interferones, interleucinas, factor estimulador de colonias de macrófagos, factor estimulador de colonias de granulocitos, eritropoyetina, linfoxina, vacuna BCG, *Corynebacterium parvum*, levamisol, polisacárido K, procodazol, y similares.

25 Los ejemplos no limitantes de un factor de crecimiento celular en agentes farmacéuticos que inhiben la acción de factores de crecimiento celular o receptores de factores de crecimiento celular incluyen cualesquiera sustancias que promueven la proliferación celular, que son normalmente péptidos que tienen un peso molecular de no más de 20.000 que son capaces de presentar su actividad a bajas concentraciones mediante la unión a un receptor, incluyendo (1) EGF (factor de crecimiento epidérmico) o sustancias que poseen sustancialmente la misma actividad que este [por ejemplo, EGF, heregulina, y similares], (2) insulina o sustancias que poseen sustancialmente la misma actividad que estas [por ejemplo, insulina, IGF (factor de crecimiento similar a insulina)-1, IGF-2, y similares], (3) FGF (factor de crecimiento de fibroblastos) o sustancias que poseen sustancialmente la misma actividad que estos [por ejemplo, FGF ácido, FGF básico, KGF (factor de crecimiento de queratinocitos), FGF-10, y similares], (4) otros factores de crecimiento celular [por ejemplo, CSF (factor estimulante de colonias), EPO (eritropoyetina), IL-2 (interleuquina-2), NGF (factor de crecimiento nervioso), PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas), TGFβ (factor de crecimiento transformante β), HGF (factor de crecimiento de hepatocitos), VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), y similares], y similares.

35 Los receptores de los factores de crecimiento celular incluyen, aunque no de forma limitativa, cualesquiera receptores capaces de unirse a los factores de crecimiento celular anteriormente mencionados, incluyendo el receptor EGF, receptor de heregulina (HER2), receptor de insulina, receptor del IGF, receptor-1 de FGF o receptor-2 de FGF, y similares.

40 El agente farmacéutico que inhibe la acción del factor de crecimiento celular incluye, aunque no de forma limitativa, el anticuerpo HER2 (por ejemplo, trastuzumab), mesilato de imatinib, anticuerpo ZD1839 o contra EGFR (por ejemplo, cetuximab), anticuerpo contra VEGF (por ejemplo, bevacizumab), anticuerpo contra VEGFR, inhibidor de VEGFR, e inhibidor de EGFR (por ejemplo, erlotinib).

45 Además de los fármacos anteriormente mencionados, otros agentes antineoplásicos incluyen, aunque no de forma limitativa, L-asparaginasa, aceglatona, clorhidrato de procarbazona, complejo salino de protoporfirina-cobalto, hematoporfirina mercúrica de sodio, inhibidores de la topoisomerasa I (por ejemplo, irinotecán, topotecán, y similares), inhibidores de la topoisomerasa II (por ejemplo, sobuzoxano, y similares), inductores de la diferenciación (por ejemplo, retinoides, vitamina D, y similares), inhibidores de la angiogénesis (por ejemplo, talidomida, SU11248, y similares), bloqueantes-α (por ejemplo, clorhidrato de tamsulosina, naftopidilo, urapidilo, alfuzosina, terazosina, prazosina, silodosina, y similares) inhibidor de la serina/treonina quinasa, antagonista del receptor de la endotelina (por ejemplo, atrasentan, y similares), inhibidor del proteosoma (por ejemplo, bortezomib, y similares), inhibidor de Hsp 90 (por ejemplo, 17-AAG, y similares), espirolactona, minoxidilo, 11α-hidroxiprogesterona, inhibición de la resorción ósea/agente supresor de la metástasis (por ejemplo, ácido zolendrónico, ácido alendrónico, ácido pamidrónico, ácido etidrónico, ácido ibandrónico, ácido clodrónico) y similares.

50 Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos hormonales incluyen fosfestrol, dietilestilbestrol, clorotrianiseno, acetato de medroxiprogesterona, acetato de megestrol, acetato de clormadinona, acetato de ciproterona, danazol, dienogest, asoprisnilo, alilestrenol, gestrinona, nomegestrol, Tadenan, mepartricina, raloxifeno, ormeloxifeno, levormeloxifeno, antiestrógenos (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, citrato de toremifeno, y similares), Regulador por defecto de ER (por ejemplo, fulvestrant y similares), gonadotropina menopáusica humana, hormona estimuladora del folículo, preparaciones en píldoras, mepitiostano, testrolactona, aminoglutetimida, agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuprorelina, y similares), droloxifeno, epitiostanol, sulfonato de etinilestradiol, inhibidores de la aromatasas (por ejemplo, clorhidrato de fadrozol, anastrozol, retrozol, exemestano, vorozol, formestano, y similares), antiandrógenos (por ejemplo, flutamida, bicartamida, nilutamida, y similares), inhibidores de

la 5a-reductasa (por ejemplo, finasterida, dutasterida, epristerida, y similares), fármacos de adrenocortico hormona (por ejemplo, dexametasona, prednisolona, betametasona, triamcinolona, y similares), inhibidores de la síntesis de andrógenos (por ejemplo, abiraterona, y similares), y retinoides y fármacos que retardan el metabolismo retinoide (por ejemplo, liarozol, y similares), etc. y agonistas de LH-RH (por ejemplo, acetato de goserelina, buserelina, leuporelina).

La terapia sin fármacos se ilustra mediante cirugía, radioterapia, terapia génica, termoterapia, crioterapia, cauterización con láser, y similares, y cualquier combinación de los mismos.

Cuando un compuesto (es decir, un derivado isoflavonoide) como se define en las reivindicaciones y un fármaco concomitante se usan en combinación, el tiempo de administración del derivado isoflavonoide y el fármaco concomitante no está restringido. En algunas realizaciones, el derivado isoflavonoide y el fármaco concomitante se administran a un individuo simultáneamente. En otras realizaciones, el derivado isoflavonoide y el fármaco concomitante se administran en tiempos escalonados.

En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de mama metastásico, cáncer de mama metastásico negativo para HER2, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer colorrectal metastásico, cáncer de endometrio, cáncer de cuello de útero, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de riñón, cáncer de hígado, leucemia, cáncer de pulmón (microcítico y no microcítico), cáncer escamocelular de pulmón no microcítico, cáncer no escamocelular de pulmón no microcítico, melanoma, linfoma no de Hodgkin, cáncer de páncreas, cáncer de testículos, cáncer de próstata, cáncer de tiroides, sarcoma (incluyendo osteosarcoma), cáncer de esófago, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello, melanoma debido a cáncer de pulmón, mieloma, neuroblastoma, glioblastoma, y cánceres del cerebro. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona entre, a modo de ejemplo no limitante, cáncer de mama, de próstata, de ovario, de páncreas, o de cuello de útero humano. En determinadas realizaciones específicas, el cáncer es cáncer de mama o cáncer de ovario humano.

Formulación

Algunas realizaciones proporcionadas en el presente documento describen una composición farmacéutica, en la que la composición comprende además uno o más vehículos farmacéuticos, excipientes, sustancias auxiliares, aglutinantes y/o diluyentes.

cualquier composición descrita en el presente documento comprende opcionalmente cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes o emulsionante, agentes tamponantes del pH, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad y otros agentes similares, tales como, por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas. En algunas realizaciones, la composición comprende además uno o más de lactosa, dextrosa, manitol, agentes tamponantes del pH, agentes antioxidantes, agentes conservantes, ajustadores de la tonicidad o una combinación de los mismos. Los ejemplos de transportadores farmacéuticamente aceptables que se usan opcionalmente incluyen, aunque no de forma limitativa, vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento existen como sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, los métodos divulgados en el presente documento incluyen los métodos de tratar enfermedades administrando dichas sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, los métodos divulgados en el presente documento incluyen los métodos de tratar enfermedades administrando dichas sales farmacéuticamente aceptables como composiciones farmacéuticas.

En algunas realizaciones, los compuestos descritos en el presente documento poseen grupos ácidos o básicos y reaccionan por tanto con cualquiera de numerosas bases inorgánicas u orgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, estas sales se preparan *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales de los compuestos de la invención, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado en su forma libre con un ácido o base adecuado, y aislando la sal formada de esta manera.

Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas sales preparadas mediante reacción de los compuestos descritos en el presente documento con un mineral, ácido orgánico o base inorgánica, incluyendo dichas sales, acetato, acrilato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, butin-1,4-dioato, alcanforato, alcanforsulfonato, caproato, caprilato, clorobenzoato, cloruro, citrato, ciclopentanopropionato, decanoato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hexina-1,6-dioato, hidroxibenzoato, γ -hidroxibutirato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isobutirato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metoxibenzoato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 1-naftalenosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, pirofosfato, pirofosfato, propiolato,

ftalato, fenilacetato, fenilbutirato, propanosulfonato, salicilato, succinato, sulfato, sulfito, succinato, suberato, sebacato, sulfonato, tartrato, tiocianato, tosilato, undecanoato y xilenosulfonato.

Además, los compuestos descritos en el presente documento, en algunas realizaciones, se preparan como sales farmacéuticamente aceptables formadas haciendo reaccionar la forma de base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable, incluyendo, aunque no de forma limitativa, ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, y similares; y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido Q-toluenosulfónico, ácido tartárico, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido arilsulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbicyclo-[2,2,2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, 4,4'-metileno-bis-(ácido 3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico y ácido mucónico. En algunas realizaciones, otros ácidos, tales como ácido oxálico, aunque en sí mismos no son farmacéuticamente aceptables, se emplean en la preparación de sales útiles como intermedios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, aquellos compuestos descritos en el presente documento que comprenden un grupo de ácido libre reaccionan con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato, bicarbonato, sulfato, de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoníaco, o con una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio, y aluminio y similares. Los ejemplos ilustrativos de bases incluyen hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de colina, carbonato sódico, $N^+(\text{alquilo } C_{1-4})_4$, y similares.

Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de bases incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares. Debe entenderse que los compuestos descritos en el presente documento también incluyen la cuaternización de cualesquiera grupos básicos que contengan nitrógeno que contienen. En algunas realizaciones, se obtienen productos solubles o dispersables en agua o aceite mediante dicha cuaternización. Los compuestos descritos en el presente documento se pueden preparar como sales farmacéuticamente aceptables formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto progenitor se sustituye tanto por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, como por ion alcalinotérreo, o un ion de aluminio; o coordinado con una base orgánica. Se preparan sales de adición de bases haciendo reaccionar la forma de ácido libre de los compuestos descritos en el presente documento con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable, incluyendo, aunque no de forma limitativa bases orgánicas tales como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, y similares y bases inorgánicas tales como hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido potásico, carbonato sódico, hidróxido sódico, y similares. Además, Se pueden preparar formas salinas de los compuestos divulgados usando sales de los materiales de partida o intermedios.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento contienen el principio activo en una forma adecuada para el uso oral, por ejemplo, como comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones previstas para el uso oral se preparan opcionalmente de acuerdo con métodos conocidos, y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados entre el grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones sabrosas y farmacéuticamente elegantes. Los comprimidos contienen el principio activo en una premezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes de granulación y disgregación, tales como celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina, polivinilpirrolidona o goma arábiga, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o recubiertos mediante técnicas conocidas para enmascarar el sabor del fármaco o retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar por tanto una acción sostenida durante un periodo prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material soluble en agua que enmascara el sabor tal como hidroxipropilmetil celulosa o hidroxipropilcelulosa, o un material de demora de tiempo tal como etil celulosa, o acetato butirato de celulosa según sea adecuado. Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar en forma de cápsulas de gelatina dura donde el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blandas en las que el principio activo se mezcla con vehículos hidrosolubles tales como polietilenglicol o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las suspensiones acuosas contienen el principio activo en premezcla con excipientes adecuados para fabricar suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio,

metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábica; los agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetileno-oxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como monooleato de polioxietileno sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán polietilenado. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo, *p*-hidroxibenzoato de etilo o *n*-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa, sacarina o aspartamo.

Vehículos farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o cargas inertes, agua y diversos disolventes orgánicos. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica contiene ingredientes adicionales tales como aromatizantes, aglutinantes, excipientes y similares. Por tanto, para la administración oral, se emplean comprimidos que contienen diversos excipientes, tales como ácido cítrico junto con varios disgregantes tales como almidón, ácido alginico y determinados silicatos complejos y con agentes aglutinantes tales como sacarosa, gelatina y goma arábica. Además, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, laurilsulfato de sodio y talco son a menudo útiles a fines de formación de comprimidos. En otras realizaciones, se emplean composiciones sólidas de un tipo similar en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras. Los materiales preferidos, por tanto, incluyen lactosa o azúcar de leche y polietilenglicoles de alto peso molecular. En determinadas realizaciones donde se desean suspensiones acuosas o elixires para la administración oral, el compuesto activo de los mismos se combina con diversos agentes edulcorante o aromatizantes, materiales colorantes o pigmentos y, si se desea, agentes emulsionantes o agentes de suspensión, junto con diluyentes, tales como agua, etanol, propilenglicol, glicerina, o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, se formulan suspensiones oleosas suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de araquís, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. En determinadas realizaciones, las suspensiones oleosas contienen un agente espesante, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. En realizaciones alternativas o adicionales, se añaden agentes edulcorantes tales como aquellos que se muestran anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral sabrosa. En otras realizaciones, estas composiciones se preservan mediante la adición de un antioxidante tal como hidroxianisol butilado or alfa-tocoferol.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo en premezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ilustran mediante los ya mencionados anteriormente. En algunas realizaciones, están también presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes. En realizaciones alternativas o adicionales, estas composiciones se preservan mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas están en forma de emulsiones de aceite en agua. En algunas realizaciones, la fase oleosa es un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de araquís, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, fosfátidos de origen natural, por ejemplo, lecitina de soja y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de sorbitán polioxietilenado. En realizaciones alternativas o adicionales, las emulsiones contienen agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, conservantes y antioxidantes.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento están en forma de una solución acuosa inyectable estéril. Los vehículos y disolventes aceptables que se emplean incluyen, aunque no de forma limitativa, agua, solución de Ringer, solución salina tamponada con fosfato, U.S.P. y solución de cloruro sódico isotónica, etanol, y 1,3-butanodiol.

Además, se emplean opcionalmente aceites fijos estériles, como un disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se emplea opcionalmente cualquier aceite fijo blando incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas u otros sistemas microparticulados se pueden usar para dirigir el agente a los componentes de la sangre o uno o más órganos. En algunas realizaciones, la preparación inyectable estéril es una microemulsión inyectable estéril de aceite en agua donde el principio activo se disuelve en la fase oleosa. En determinadas realizaciones, el principio activo se disuelve en primer lugar en una mezcla de aceite de soja y lecitina. la solución de aceite se introduce a continuación en una mezcla de agua y glicerol y se procesa para formar una microemulsión. En realizaciones alternativas o adicionales, Las soluciones o microemulsiones inyectable se introducen en el torrente sanguíneo de un individuo mediante inyección local en bolo. Como alternativa, en algunas realizaciones, es ventajoso administrar la solución o microemulsión de tal manera que mantenga una concentración en circulación constante del presente compuesto. Para mantener dicha concentración

constante, se utiliza un dispositivo de administración intravenosa continua. Un ejemplo de dicho dispositivo es la bomba intravenosa modelo 5400 Deltec CADD-PLUS™.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica está en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril para la administración intramuscular y subcutánea. En realizaciones alternativas o adicionales, esta suspensión se formula usando aquellos agentes de dispersión o humectantes adecuados que se han mencionado anteriormente. En algunas realizaciones, la preparación inyectable estéril es una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Además, los aceites fijos estériles, se emplean convencionalmente en forma de un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin, en algunas realizaciones, se emplea opcionalmente cualquier aceite fijo blando incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico, encuentran uso en la preparación de los inyectables.

En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se administran en forma de supositorios para la administración rectal del fármaco. Estas composiciones se preparan mezclando el principio activo con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas ordinarias, pero líquido a la temperatura rectal y por tanto, funde en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, gelatina glicerizada, aceites vegetales hidrogenados, aceites vegetales hidrogenados, mezclas de polietilenglicoles de diversos pesos moleculares y ésteres de ácido graso de polietilenglicol.

En algunas realizaciones, los compuestos o composiciones descritas en el presente documento se administran en una vesícula, tal como un liposoma. En realizaciones adicionales o alternativas, los compuestos y composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se administran en un sistema de liberación controlada, o se puede colocar un sistema de liberación controlada en la proximidad del agente terapéutico. En una realización, se usa una bomba.

Para uso tópico, se usan, cremas, pomadas, gelatinas, soluciones o suspensiones, *etc.*, que contienen el compuesto que se define en las reivindicaciones. Como se usa en el presente documento, la aplicación tópica incluye enjuagues bucales y gárgaras.

En determinadas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se administran en forma intranasal mediante el uso tópico de vehículos intranasales adecuados y dispositivos de administración, o mediante rutas transdérmicas, usando parches cutáneos transdérmicos, para administrarse en forma de un sistema de administración transdérmico, la administración de la dosificación será continua más bien que intermitente a lo largo del régimen de dosificación.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica descrita en el presente documento comprende además una ciclodextrina. En algunas realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 0,001% a aproximadamente 50%. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 2 % a aproximadamente 48 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 4 % a aproximadamente 45 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 10 % a aproximadamente 43 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 15 % a aproximadamente 40 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 20 % a aproximadamente 38 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 22 % a aproximadamente 37 %. En otras realizaciones, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 25 % a aproximadamente 35 %. En una realización preferida, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) que varía de aproximadamente 28 % a aproximadamente 32 %.

Algunas realizaciones descritas en el presente documento proporcionan una composición que comprende además ciclodextrina, en la que la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) de aproximadamente 15%, 18 %, 20 %, 22 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 %, 35 %, 36 %, 37%, o 38% cuando el derivado de ciclodextrina es SBE7-β-CD (Captisol®). En una realización, la ciclodextrina tiene una concentración (p/v) de aproximadamente 30% cuando el derivado de ciclodextrina es SBE7-β-CD (Captisol®). En otra realización, el potenciador de la solubilidad tiene una concentración (p/v) de aproximadamente 29,4% cuando el derivado de ciclodextrina es SBE7-β-CD (Captisol®).

Se conocen en la técnica derivados de ciclodextrina adicionales adecuados para su uso en composiciones intravenosas descritos en el presente documento y se describen en, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 5.134.127 y 5.376.645. Además, ejemplos de derivados de ciclodextrina adecuados.

Las ciclodextrinas y derivados adecuados útiles en determinadas realizaciones de las composiciones, métodos y kits descritos en el presente documento incluyen, por ejemplo, los descritos en Challa et al., AAPS PharmSciTech 6(2): E329-E357 (2005), patentes de Estados Unidos números 5.134.127, 5.376.645, 5.874.418. En algunas realizaciones, las ciclodextrinas o derivados de ciclodextrinas adecuados para su uso en determinadas realizaciones de las composiciones, métodos y kits descritos en el presente documento incluyen, aunque no de forma limitativa, α-

ciclodextrinas, β -ciclodextrinas, γ -ciclodextrinas, derivados de SAE-CD (por ejemplo, SBE- α -CD, SBE- β -CD, SBE1- β -CD, SBE4- β -CD, SBE7- β -CD (Captisol®), y SBE- γ -CD) (Cydex, Inc. Lenexa, KS), hidroxietilo, hidroxipropilo (incluyendo 2-hidroxipropilo y 3-hidroxipropilo) y éteres de dihidroxipropilo, sus correspondientes éteres mixtos y éteres mixtos adicionales con grupos metilo o etilo, tales como éteres de metilhidroxietilo, etil-hidroxietilo y etil-hidroxipropilo de α -, β - y γ -ciclodextrina; y derivados de maltosilo, glucosilo y maltotriosilo de α -, β - y γ -ciclodextrina, que pueden contener uno o más restos azucarados, por ejemplo glucosilo o diglucosilo, maltosilo o dimaltosilo, así como diversas mezclas de los mismos, por ejemplo una mezcla de derivados de maltosilo y dimaltosilo. Los derivados de ciclodextrina específicos para su uso en el presente documento incluyen hidroxipropil- β -ciclodextrina, hidroxietil- β -ciclodextrina, hidroxipropil- γ -ciclodextrina, hidroxietil- γ -ciclodextrina, dihidroxipropil- β -ciclodextrina, glucosil- α -ciclodextrina, glucosil- β -ciclodextrina, diglucosil- β -ciclodextrina, maltosil- α -ciclodextrina, maltosil- β -ciclodextrina, maltosil- γ -ciclodextrina, maltotriosil- β -ciclodextrina, maltotriosil- γ -ciclodextrina, dimaltosil- β -ciclodextrina, dietil- β -ciclodextrina, glucosil- α -ciclodextrina, glucosil- β -ciclodextrina, diglucosil- β -ciclodextrina, tri-O-metil- β -ciclodextrina, tri-O-etil- β -ciclodextrina, tri-O-butil- β -ciclodextrina, tri-O-valeril- β -ciclodextrina, y di-O-hexanoil- β -ciclodextrina, así como metil- β -ciclodextrina, y las mezclas de los mismos tales como maltosil- β -ciclodextrina/dimaltosil- β -ciclodextrina. Se puede utilizar cualquier procedimiento adecuado para preparar dichas ciclodextrinas incluyendo, por ejemplo, los procedimientos descritos en la patente de Estados Unidos n.º 5.024.998. Otras ciclodextrinas adecuadas para su uso en determinadas realizaciones de las composiciones, métodos y kits descritos en el presente documento incluyen los derivados de carboxialquilo tioéter tales como ORG 26054 y ORG 25969 de ORGANON (AKZO-NOBEL), los derivados de hidroxibutenil éter de EASTMAN, los derivados de sulfoalquil-hidroalquilo éter, los derivados sulfoalquil-alquilo éter, y otros derivados, por ejemplo como se describe en las solicitudes de patente de estados Unidos números. 2002/0128468, 2004/0106575, 2004/0109888, y 2004/0063663, o las patentes de Estados Unidos números 6.610.671, 6.479.467, 6.660.804, o 6.509.323.

Se puede obtener hidroxipropil- β -ciclodextrina de Research Diagnostics Inc. (Flanders, NJ). Los productos de hidroxipropil- β -ciclodextrina ilustrativos incluyen Encapsin® (grado de sustitución ~4) y Molecuso® (grado de sustitución ~8); sin embargo, están también disponibles realizaciones que incluyen otros grados de sustitución y están dentro del alcance de la presente invención.

Las dimetil ciclodextrinas están disponibles de FLUKA Chemie (Buchs, CH) o Wacker (Iowa). Otras ciclodextrinas derivatizadas adecuadas para su uso en la invención incluyen ciclodextrinas derivatizadas solubles en agua. Las ciclodextrinas derivatizadas solubles en agua ilustrativas incluyen derivados carboxilados; derivados sulfatados; derivados alquilados; derivados hidroxialquilados; derivados metilados; y carboxi- β -ciclodextrinas, por ejemplo, succinil- β -ciclodextrina (SCD). Todos estos materiales pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica y/o están comercialmente disponibles. Las ciclodextrinas derivatizadas adecuadas se divulgan en Modified Cyclodextrins: Scaffolds and Templates for Supramolecular Chemistry (Eds. Christopher J. Easton, Stephen F. Lincoln, Imperial College Press, Londres, Reino Unido, 1999) y New Trends in Cyclodextrins and Derivatives (Ed. Dominique Duchene, Editions de Sante, París, Francia, 1991).

Dosificación

Un derivado isoflavonoide descrito en el presente documento se usa opcionalmente en la preparación de medicamentos para tratar cualquiera de las enfermedades o dolencias descritas en el presente documento en un individuo que necesita de dicho tratamiento, e implica la administración de composiciones farmacéuticas que contiene al menos un compuesto como se define en las reivindicaciones o una sal farmacéuticamente aceptable, en cantidades terapéuticamente eficaces para dicho individuo.

En el caso en el que la dolencia del paciente no mejore, a criterio del médico, la administración del derivado isoflavonoide como se define en las reivindicaciones se continúa opcionalmente de forma crónica y/o a una dosis mayor, para mejorar, o controlar de otra forma o limitar el cáncer.

En el caso en el que el estado del paciente no mejore, A criterio del médico, la administración del derivado isoflavonoide como se define en las reivindicaciones se proporciona opcionalmente de forma continua; como alternativa, la dosis del fármaco que se está administrando se reduce temporalmente o se suspende temporalmente durante un determinado periodo de tiempo (es decir, un "descanso terapéutico"). El periodo de descanso terapéutico varía opcionalmente entre 2 días y 1 año, incluyendo únicamente a modo de ejemplo, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 10 días, 12 días, 15 días, 20 días, 28 días, 35 días, 50 días, 70 días, 100 días, 120 días, 150 días, 180 días, 200 días, 250 días, 280 días, 300 días, 320 días, 350 días, o 365 días. la reducción de la dosis durante un descanso terapéutico incluye desde 10%-100%, incluyendo, únicamente a modo de ejemplo, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55%, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95%, o 100%.

En algunas realizaciones, cuando se ha producido la mejora de las condiciones del paciente, se administra una dosis de mantenimiento, si es necesario. Posteriormente, la dosis o la frecuencia de administración, o ambas, se reduce, como una función de la progresión del cáncer, hasta un nivel en el que se retiene la mejora de la condición. En algunas realizaciones, los pacientes requieren un tratamiento intermitente sobre una base duradera tras cualquier reincidencia de los síntomas y/o recidiva.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento están en formas farmacéuticas unitarias para la administración única de dosificaciones precisas. En una forma farmacéutica unitaria, la formulación se divide en dosis unitarias que contienen cantidades adecuadas de uno o más compuestos como se define en las reivindicaciones. En algunas realizaciones, la dosificación unitaria está en forma de un paquete que
 5 contiene cantidades discretas de la formulación. Los ejemplos no limitantes son comprimidos o cápsulas envasados, y polvos en viales o ampollas. En algunas realizaciones, las composiciones para suspensión acuosa se envasan en recipientes monodosis que se pueden volver a cerrar. Como alternativa, se usan recipientes multidosis que se pueden volver a cerrar, en cuyo caso es típico incluir un conservante en la composición. Únicamente a modo de ejemplo, las formulaciones para inyección parenteral se presentan en forma farmacéutica unitaria, que incluyen,
 10 aunque no de forma limitativa, ampollas, o en recipientes multidosis, con un conservante añadido.

Las dosificaciones diarias adecuadas para los compuestos son de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 3000 mg, administrados convenientemente en dosis divididas, incluyendo, aunque no de forma limitativa, hasta cuatro veces al día o en forma de liberación prolongada. Las formas farmacéuticas unitarias para la administración oral incluyen de aproximadamente 0,1 a 1000 mg de principio activo, de aproximadamente 0,1 a 500 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a 250 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 75 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 mg de principio activo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg de principio activo, o de aproximadamente 1 a aproximadamente
 15 10 mg de principio activo. Dichas dosificaciones están opcionalmente alteradas dependiendo de numerosas variables, no limitadas a la actividad del compuesto usado, el modo de administración, los requerimientos de un individuo, la gravedad de la enfermedad o dolencia que se está tratando, y el criterio del médico a cargo del tratamiento.

25 Ejemplos

Ejemplo 1. Síntesis y evaluación del compuesto 31 (Esquema 3) (no reivindicado)

Compuesto 35. Hidrogenación de daidzeína en etanol y una solución de hidróxido potásico 1 M con paladio al 10 % en un catalizador de aluminio y una presión de hidrógeno de 0,5 bares en un reactor de acero inoxidable. Después de la finalización del proceso de hidrogenación, el material se filtró y cargó en un reactor de acero dulce revestido de vidrio donde se ajustó el pH a 6,96 con ácido acético 1 M. La suspensión resultante se diluyó adicionalmente con agua y a continuación se filtró para proporcionar el compuesto 35. El producto se secó en horno de vacío a 60 °C.
 30

Compuesto 36. Se protegió el compuesto 35 como el aducto de bis *tert*-butildimetilsiloxi introduciendo en un reactor de acero dulce revestido con vidrio el compuesto 35, imidazol, N,N-dimetilformamida con agitación durante 30 minutos. A continuación se añadió cloruro de *tert*-butildimetilsililo a la solución. A la finalización del proceso, el material se transfirió a un reactor de acero dulce revestido con vidrio que contenía agua. La suspensión resultante se filtró en un filtro Nutche. El producto se secó al vacío a 50 °C.
 35

Compuesto 37. La reacción de Grignard se completó introduciendo en un reactor de acero inoxidable magnesio, THF, iniciando una reacción con 1,2-dibromoetano, añadiendo a continuación 4-bromoanisol disuelto en THF. Una solución del compuesto 36 en THF se añadió a continuación durante un periodo de 45 minutos manteniendo una temperatura <35 °C. A la finalización de la reacción se retiró el magnesio en exceso mediante filtración y la mezcla se inactivó con una solución de cloruro de amonio. Después de separar las fases, la capa orgánica se evaporó hasta un volumen mínimo, *al vacío*. El material resultante se disolvió en etanol y se calentó a temperatura de reflujo hasta que se completó la conversión. Después, la mezcla se enfrió a 0 °C, y el producto se recogió mediante filtración. El producto se secó en una corriente de nitrógeno.
 40

Compuesto 38. La hidrogenación del resto alqueno se efectuó cargando un reactor de acero inoxidable con THF, paladio al 10 % en un catalizador de alúmina y compuesto 37. La mezcla se agitó con hidrógeno a presión atmosférica, hasta que se efectuó la conversión completa. La mezcla se filtró y se llevó directamente a la siguiente etapa.
 45

Compuesto 39. Se efectuó la desprotección transfiriendo compuesto 38 en THF a un reactor de acero inoxidable. Se disolvió fluoruro de potasio en agua y se añadió al reactor. La mezcla se calentó a temperatura de reflujo hasta que se completó la conversión. El THF se eliminó mediante destilación, y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron dos veces con cloruro de calcio (solución acuosa al 35 %). La capa orgánica se lavó cuatro veces con agua, y el disolvente se redujo al vacío. Se añadió etanol y la solución se enfrió para efectuar la cristalización. El sólido resultante se recogió por filtración. El producto se secó en una corriente de nitrógeno con una humedad del 85%.
 50
 55

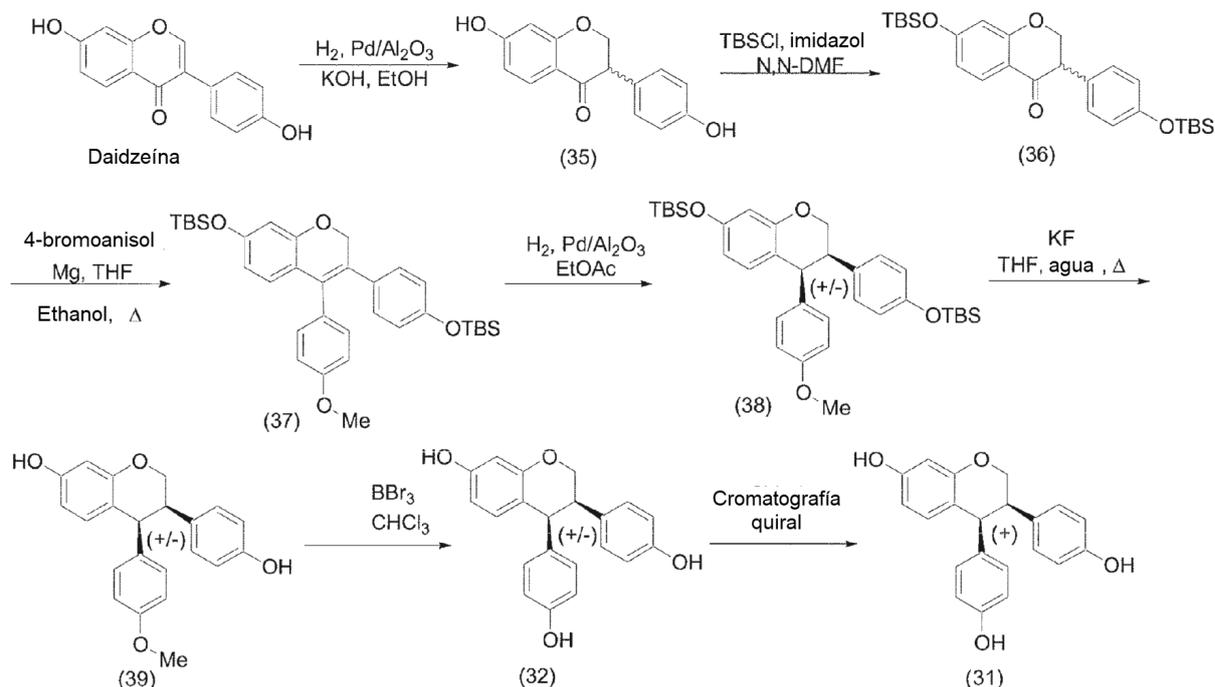
Compuesto 32. Se disolvió el compuesto 39 cloroformo a reflujo, y se añadió a una solución 1 M de tribromuro de boro en cloroformo, a un reactor revestido con vidrio. La reacción se agitó hasta su finalización, y a continuación se inactivo rápidamente con agua. El pH de la mezcla se ajustó a ≥ 12 con NaOH 3 N, y se retiró la capa orgánica. Se añadió acetato de etilo a la solución acuosa, el pH se ajustó a 5,5-6,5 con HCl 2 N, y se retiró la fase acuosa. La
 60
 65

solución orgánica se lavó con agua, a continuación salmuera saturada, se secó con sulfato sódico, y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en isopropanol y se concentró al vacío. El material se recrystalizó en isopropanol y heptanos. El producto se secó al vacío a 50 °C.

- 5 **Compuesto 31.** Se realizó la separación quiral mediante cromatografía de fluidos supercrítica (SFC), usando un Sistema Thar SFC-350, y una columna Chiralpak AS-H. El compuesto 32 se disolvió en una mezcla de isopropanol y etanol, se aplicó a la columna por partes mediante una secuencia de inyección apilada, y elución con una mezcla de isopropanol, etanol y CO₂ supercrítico. El eluyente que contenía el compuesto 31 se recogió y concentró al vacío. El residuo se disolvió en etanol y se concentró al vacío, tres veces para sustituir el isopropanol residual con etanol. El producto se molidó y secó al vacío con una purga de nitrógeno a 60 °C. El enantiómero del compuesto 31 se proporcionó con una pureza >95%. Se determinó que la rotación óptica del compuesto 31 era +24° a 27 °C (c=1 en etanol) al 99% de exceso enantiomérico.

Esquema 3.

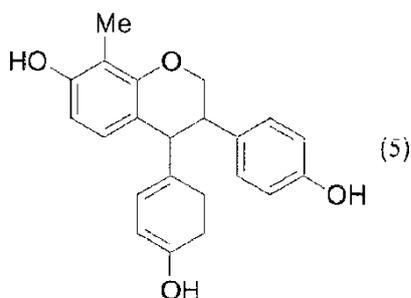
15



Ejemplo 2. Compuestos

- 20 Se puede sintetizar cualquier compuesto descrito en el presente documento de acuerdo con las síntesis ilustrativas que se muestran en los Esquemas 1,2 o 3. Se proporcionan los datos de ¹H RMN:

Compuesto 5.

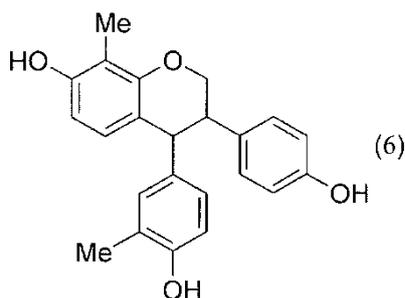


25

RMN ¹H (400 MHz, d₆-Acetona) δ 8,24 (s, 1H); 8,16 (s, 1H); 8,10 (s, 1H); 6,62 (m, 2H); 6,58 (m, 2H); 6,54 (m, 3H); 6,44 (m, 2H); 6,39 (m, 1H); 4,38 (m, 1H); 4,20 (m, 1H); 4,14 (m, 1H); 3,42 (m, 1H); 2,13 (s, 3H).

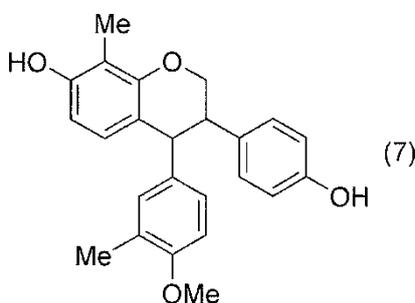
30

Compuesto 6.



5 RMN ¹H (400 MHz, d₆-Acetona) δ 8,23 (s, 1H); 8,09 (s, 1H); 7,99 (s, 1H); 6,63 (m, 2H); 6,57 (m, 2H); 6,54 (m, 2H); 6,51 (m, 1H); 6,38 (m, 1H); 6,33 (m, 1H); 4,38 (m, 1H); 4,20 (m, 1H); 4,11 (m, 1H); 3,40 (m, 1H); 2,13 (s, 3H), 1,98 (s, 3H).

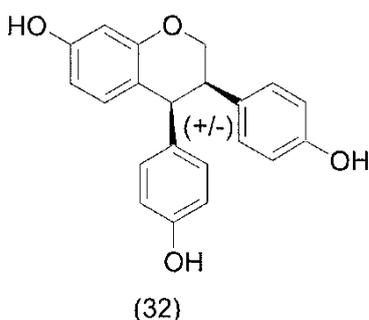
Compuesto 7.



10 RMN ¹H (400 MHz, d₆-Acetona) δ 8,10 (m, 2H); 6,63 (m, 2H); 6,61 (m, 1H); 6,57 (m, 2H); 6,54 (m, 1H); 6,41 (m, 1H); 6,38 (m, 1H); 6,36 (m, 1H); 4,38 (m, 1H); 4,21 (m, 1H); 4,14 (m, 1H); 3,73 (s, 3H); 3,42 (m, 1H); 2,14 (s, 3H), 1,95 (s, 3H).

15

Compuesto 32.



20 RMN ¹H (400 MHz, d₆-Acetona) δ 8,33 (s, 1H); 8,26 (s, 1H); 8,19 (s, 1H); 6,71 (m, 1H); 6,63 (m, 2H); 6,58 (m, 2H); 6,55 (m, 2H); 6,45 (m, 2H); 6,39 (m, 1H); 6,35 (m, 1H); 4,34 (m, 1H); 4,14 (m, 1H); 4,12 (m, 1H); 3,42 (m, 1H).

Ejemplo 3: Estudio *in vitro* de actividad antiproliferativa contra células cancerosas

25 **Cultivo de tejidos.** La línea de células R-182 TARA de cáncer de ovario epitelial primario resistente a multifármaco fue un obsequio del Dr. Gil Mor (Yale University, New Haven, CT, EE.UU.). Esta línea de células se derivó mediante explante de tumores de ovario y se cultivó como se ha descrito anteriormente. Las demás líneas de células se adquirieron de la American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, EE.UU.) con la excepción de MKN1, HuH-7, JHH-1, que se adquirieron de la Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB, Osaka, Japón), y OE19 que se adquirió de European Collection of Cell Cultures (ECACC, Salisbury, Reino Unido).

30 Las líneas de células NCI-H1299 (CRL-5803) NCI-H460 (HTB-177), NCI-H358 (CRL-5807), NCI-H838 (CRL-5844), de adenocarcinoma de pulmón no microcítico humano, las líneas COLO 205 (CCL-222), HCT-15 (CCL-225) de adenocarcinoma colorrectal humano, y la línea de células NCI-N87 (CRL-5822) de cáncer gástrico humano se cultivaron en medio RPMI 1640 que contenía 2 g/l de bicarbonato de sodio (Hyclone/Invitrogen) suplementado con L-glutamina 2 mM (Gibco), piruvato de sodio 1 mM (Sigma), HEPES 10 mM (Sigma) y 4500 mg/l de glucosa (Sigma).

35

5 La línea NCI-H2126 (CCL-256) de adenocarcinoma de pulmón no microcítico humano se cultivó en DMEM:F12(1:1) (Hyclone/Invitrogen) que contenía L-glutamina 2,5 mM 2,4 g/l de bicarbonato sódico suplementado con suero de feto de bovino al 5% (FBS), una L-glutamina 2 mM adicional, HEPES 15 mM, 0,005 mg/ ml de insulina (Sigma), 0,01 mg/ ml de transferrina (Sigma), selenito de sodio 30 nM (Sigma), hidrocortisona 10 nM (Sigma) y beta-estradiol 10 nM (Sigma). La línea HT-29 (HTB-38) de adenocarcinoma colorrectal humano y las líneas de células OE-19 (#96071721) y MKN1 (JCRB0252) de cáncer gástrico humano se cultivaron en medio RPMI 1640 suplementado con L-glutamina 2 mM.

10 La línea HCT-116 (CCL-247) de adenocarcinoma colorrectal humano y la línea SK-BR-3 (HTB-30) de adenocarcinoma de mama humano se cultivaron en medio 5a de McCoy (Invitrogen) que contenía L-glutamina 1,5 mM y 2.2 g/l de bicarbonato sódico. La línea SW620 (CCL-227) de adenocarcinoma colorrectal humano se cultivó en medio L-15 de Leibovitz (Invitrogen) que contenía L-glutamina 2,05 mM.

15 Las líneas HepG2 (HB-8065), SK-HEP-1 (HTB-52) de carcinoma hepatocelular humano, y la línea IMR-90 (CCL-186) de fibroblastos de pulmón humano normal se cultivaron en medio Eagles Esencial Mínimo que contenía L-glutamina 2 mM, 2,2 g/l de bicarbonato sódico, suplementado con piruvato de sodio 1 mM y 0,1 mM de aminoácidos no esenciales. La línea JHH-1 (JCRB1062) de carcinoma hepatocelular humano se cultivó en medio E de Williams (Invitrogen) que contenía 2,2 g/l de bicarbonato sódico, suplementado con L-glutamina 2 mM. La línea HuH-7 (JCRB0403) de carcinoma hepatocelular se cultivó en DMEM, suplementado con L-glutamina 2 mM.

20 La línea de células AGS (CRL-1739) de cáncer gástrico humano se cultivó en medio F-12K de Ham (modificación de Kaighans) que contenía L-glutamina 2 mM, 2,5 g/l de bicarbonato sódico y piruvato sódico 2 mM. La línea MDA-MB-468 (HTB-132) de adenocarcinoma de mama humano se cultivó en medio DMEM:F12 (1:1) que contenía L-glutamina 2,5 mM, 2,4 g/l de bicarbonato sódico, suplementado con L-glutamina 2 mM adicional.

25 Todos los cultivos se suplementaron con FBS al 10% (salvo que se indique otra cosa), penicilina (100U/ ml) y estreptomycin (100 µg/ ml) y se cultivaron a 37 °C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5%, con la excepción de SW-620 que se cultivó a 37 °C en atmósfera convencional humidificada.

30 **Ensayos de proliferación.** Se determinaron los valores de la CI₅₀ para cada línea de células. Se sembraron las células en placas de 96 pocillos a una densidad celular adecuada como se determina a partir del análisis de la cinética de crecimiento y se cultivaron durante 5 días en ausencia y presencia de los compuestos de ensayo. Se evaluó la proliferación celular tras la adición de 20 µl de bromuro de 3-4,5 dimetilazol-2,5-difenil tetrazolio (MTT, 5 mg/ ml en PBS, Sigma) durante 5 horas a 37 °C de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se calcularon los valores de la CI₅₀ a partir de los gráficos semilogarítmicos del % de proliferación del control sobre el eje y frente a la dosis logarítmica sobre el eje x.

40 **Actividad antiproliferativa de derivados isoflavonoides.** Se determinaron los valores de la CI₅₀ para cada línea de células tras 120 h de exposición.

Tabla 1.

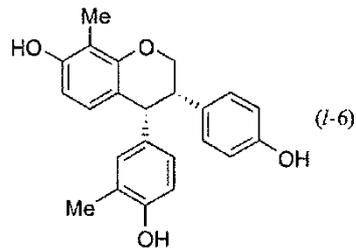
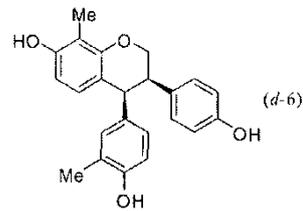
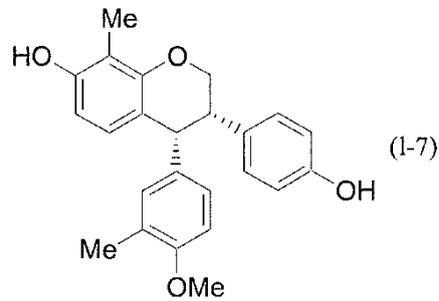
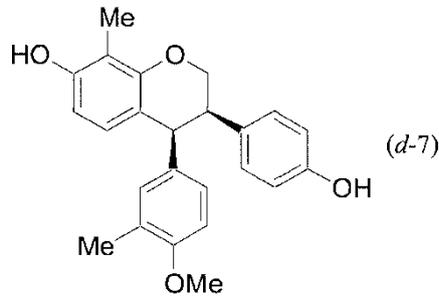
Indicación	Línea de células	Compuesto									
		31*	5	d-5	l-5	7*	d-7*	l-7*	6*	d-6*	l-6*
Próstata	PC3	B	B	A	E	D	C	E	B	B	E
Próstata	DU145	B	B	A	E	D	C	E	B	B	E
Próstata	LNCaP	B	B	A	E	D	D	E	C	B	E
CRC	COLO205	D	D	c	E	E	E	E	D	D	E
Ovárico	A2780	B	B	A	E	D	C	E	B	B	E
Ovárico	R-182	A	B	A	E	D	C	E	B	A	E
Ovárico	CP70	C	A	A	E	D	C	E	C	B	E
NSCLC	NCI-H460	C	B	A	E	D	D	E	B	B	E
NSCLC	A549	C	B	B	E	D	D	E	C	B	E
NSCLC	CALU3	B	A	A	E	D	D	E	B	B	E
Hígado	HepG2	B	A	A	E	D	c	E	B	A	E
Hígado	SK-Hep-1	B	B	A	E	D	D	E	B	A	E

(continuación)

Indicación	Línea de células	Compuesto									
		31*	5	d-5	l-5	7*	d-7*	l-7*	6*	d-6*	l-6*
Hígado	HuH-7	B	B	A	E	D	C	E	B	B	E
Melanoma	A2058	A	A	A	E	D	C	E	B	A	E
Melanoma	4405	B	B	A	E	D	D	E	B	B	E
Melanoma	MM200	C	B	B	E	E	-	-	C	-	E
Mama	MDA-MB-468	A	B	A	E	D	B	E	B	A	E
Mama	SKBR-3	A	A	A	E	C	-	-	A	-	D

*no reivindicado
 Clave: A: $Cl_{50} \leq 0,15 \mu\text{M}$; B: $Cl_{50} = 0,15 - 0,50 \mu\text{M}$; C: $Cl_{50} = 0,51 - 1,5 \mu\text{M}$; D: $Cl_{50} = 1,6 - 10 \mu\text{M}$; E: $Cl_{50} \geq 10 \mu\text{M}$

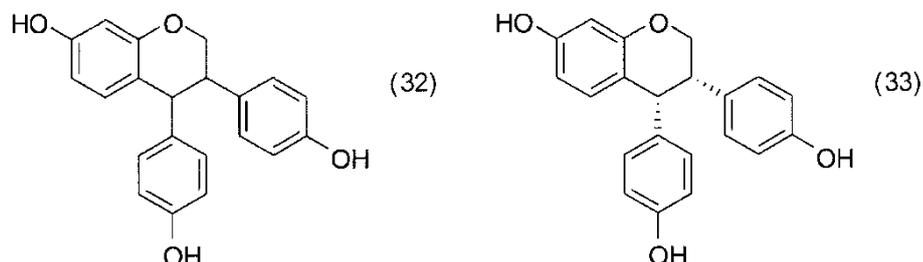
Algunos de los compuestos usados en los experimentos, que no se reivindican, se muestran a continuación:



Ejemplo 4: Estudio in vitro de actividad antiproliferativa del Compuesto 31 (no reivindicado)

15 Compuesto 31, el isómero d, presentó actividad antiproliferativa superior contra diversas células cancerosas durante

120 horas de exposición cuando se comparó con las formas racémica (compuesto 32) e *l*- (compuesto 33). Se proporcionan datos de actividad en la Tabla 2.



5

Tabla 2.

Indicación	Línea de células	Compuesto		
		32*	31*	33*
Próstata	PC3	C	B	-
Ovárico	A2780	C	B	E
Ovárico	CP70	C	B	E
Melanoma	A2058	B	A	-
Melanoma	MM2200	C	C	E
Mama	MDA-MB-468	C	A	-
Mama	SKBR-3	C	A	E

* no reivindicado
Clave: A: $Cl_{50} \leq 0,15 \mu M$; B: $Cl_{50} = 0,15 - 0,50 \mu M$; C: $Cl_{50} = 0,51 - 1,5 \mu M$; D: $Cl_{50} = 1,6 - 10 \mu M$; E: $Cl_{50} \geq 10 \mu M$

10

Ejemplo 5: Evaluación in vitro de la combinación del Compuesto 31 y terapia contra el cáncer (no reivindicado)

15

Toxicidad in vitro en células normales y cancerosas. Se sembraron las células en placas de 96 pocillos a una densidad celular adecuada como se determinó a partir del análisis de la cinética de crecimiento, dependiendo de la eficacia de la siembra en placas y de la fase de retraso de las líneas celulares individuales. Se permitió que las células se depositaran antes de la exposición al fármaco. Se incluyeron controles intraexperimentales del agente individual para asegurar los valores de la Cl_{50} obtenidos de cada línea de células que correspondían a las determinaciones previas de la Cl_{50} . se emplearon cuatro concentraciones análogas en cada análisis. Las concentraciones análogas usadas en cada ensayo se seleccionaron basándose en los valores de la Cl_{50} , que formaron la concentración superior del análogo usado. Se seleccionaron las concentraciones posteriores basándose en diluciones 1/2 o 1/10 simples de la concentración superior análoga empleada (es decir 2, 1, 0,5, 0,25 μM). nueve de las diluciones en serie 1/10 de los agentes quimioterapéuticos se emplearon con la concentración quimioterapéutica superior que era de 50 μM .

25

para los análisis combinados, las concentraciones análogas se mantuvieron constantes a través de diluciones en serie 1/10 de agentes terapéuticos en medio de crecimiento (la concentración quimioterapéutica superior empleada era de 50 μM). Los cultivos combinados se combinaron durante 5 días.

30

la secuencia del efecto de administración de cada agente sobre los valores de la Cl_{50} quimioterapéuticos exponiendo las células depositadas a un único agente en secuencia durante 24 h. Para evaluar la secuencia quimioterapéutica del \rightarrow derivado isoflavonoide, las células depositadas se expusieron en primer lugar a las concentraciones de análogo adecuadas y se incubaron a 37 °C durante 24 h. Las células se lavaron con medio de crecimiento y a continuación se expusieron a las concentraciones quimioterapéuticas adecuadas y se incubaron durante 24 h. A continuación se lavaron las células y se incubaron 3 días más. Para evaluar la secuencia quimioterapéutica del \rightarrow derivado isoflavonoide, se invirtió el procedimiento.

35

Se evaluó la proliferación celular tras la adición de 20 μl de bromuro 3-4,5 dimetilazol-2,5-difenil tetrazolio (MTT, 2,5 mg/ ml en PBS, Sigma) durante 3-4horas a 37 °C de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se calcularon los valores de la Cl_{50} a partir de los gráficos semilogarítmicos del % de proliferación del control sobre el eje y frente a la dosis logarítmica sobre el eje x.

El análisis del modelo 3-D de la interacción citotóxica entre el fármaco A y el fármaco B permite la representación del efecto inhibitor previsto de dos fármacos en combinación en 3 dimensiones para desvelar las regiones reales de sinergia o antagonismo. Los gráficos de sinergia 3D se basan en la teoría de la "Aditividad Teórica" (TA o sinergia observada) como se reseña por Kanzawa et al. Se calculó la Aditividad Teórica a partir de las citotoxicidades del fármaco A y el fármaco B como monoterapias usando la siguiente fórmula que supone que los fármacos son inhibidores mutuamente exclusivos:

$$TA_{(f)} = \frac{(f_a)_A + (f_a)_B - 2(f_a)_A(f_a)_B}{1 - (f_a)_A(f_a)_B}$$

Donde $(f_a)_A$ = fracción de células afectadas por el fármaco A

$(f_b)_B$ = fracción de células afectadas por el fármaco B

Se calcula la TA para cada combinación de concentraciones de fármaco y se sustrae del efecto experimental observado de cada combinación para proporcionar una medición de la acción sinérgica o potenciada. Una diferencia positiva indica que la mayoría de las células están afectadas por la combinación de fármacos que se esperaría en teoría si los dos fármacos se administran juntos - de ahí la sinergia. Una diferencia negativa indica que se vieron afectadas menos células que las teóricamente esperadas - de ahí el antagonismo.

El análisis del índice de combinación (CI), que emplea el principio del efecto mediana que correlaciona la dosis del fármaco con la toxicidad, se empleó también para evaluar la sinergia. Se utilizó la ecuación del efecto mediana para calcular la dosis de un fármaco que inhibe "x" por ciento de células (Chou y Talalay, 1984).

$$D = Dm[f_a / (1-f_a)]^{1/m}$$

Donde D es una dosis de fármaco, Dm es la potencia que significa el efecto mediana, fa es la fracción afectada por la dosis y m es la sigmoidicidad de la curva del efecto dosis.

Para dos fármacos con mecanismos de acción mutuamente no exclusivos (D)1 y (D)2, CI se calcula a continuación como:

$$CI = \frac{(D)_1 + (D)_2 + (D)_1(D)_2}{(D_x)_1 (D_x)_2 + (D)_1(D)_2}$$

Evaluación *in vitro* de la combinación del compuesto 31 y carboplatino ópticamente activa (no reivindicado).

Los estudios de combinación emplearon ambos regímenes con una exposición concurrente de 24 h, y una exposición secuencial de 24 h (compuesto racémico 32→carboplatino). En ambos estudios, cuatro concentraciones análogas (0,25, 0,5, 1 y 5 µM) se mantuvieron constantes frente al carboplatino titulado. Cuando 1 y 5 µM del compuesto 32 se evaluaron junto con la concentración más baja de carboplatino empleada en este estudio (0,4 µM), no se alcanzó la CI₅₀ del carboplatino debido a los altos niveles observados de células muertas (30-40% del control). Los datos indican que la inclusión de 0,5 µM del compuesto 32 potenciaron el efecto antineoplásico del carboplatino en 7-11 veces dependiendo del régimen de exposición, y -1,5-2 veces cuando se emplearon 0,25 µM del compuesto 32.

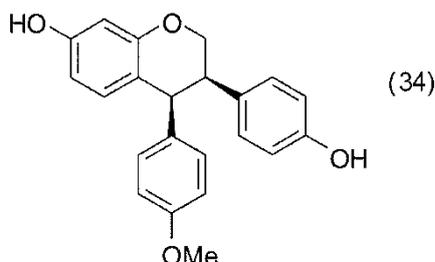
Cuando se evaluó la combinación del compuesto 31-carboplatino a 0,5, 1 y 5 µM del compuesto 31 más la concentración más baja de carboplatino empleada en este estudio (0,4 µM), no se alcanzó la CI₅₀ del carboplatino debido a los altos niveles de células muertas observados a 25-40% del control. Los datos indican que, dependiendo del régimen de exposición, la inclusión de 0,25 µM del compuesto 31 potenció el efecto antineoplásico del carboplatino en 7-11 veces.

Usando el método 3D de Kanzawa, se encontró que la combinación de 0,5 µM del compuesto 32 y 12,5 µM de carboplatino dio como resultado un nivel máximo de inhibición de la proliferación celular en comparación con los controles respectivos. se observó este efecto a concentraciones que variaban desde 1,5-100 µM de carboplatino (dependiendo del régimen de exposición) y en todas las concentraciones del compuesto 32. En comparación, Se observó también la potenciación de la actividad máxima entre el compuesto 31 y el carboplatino, carboplatino 12,5 µM pero a una dilución 2 veces menor del compuesto 31 (0,25 µM). Aunque el intervalo de concentración donde se observó la potenciación de la actividad no es tan amplio como el observado con el compuesto 32 (particularmente a concentraciones superiores del compuesto 31), esto es debido a la mayor potencia del compuesto 31 a 1 y 5 µM. Los datos indican que el compuesto 31 es superior en su capacidad para aumentar la toxicidad del carboplatino contra células A2780 de cáncer de ovario en comparación con el compuesto 32. Es importante señalar que el compuesto 33 no imparte ninguna potenciación de la actividad o efecto antagonista cuando se evaluó en combinación con carboplatino contra la línea de células A2780.

Ejemplo 6: Potencias relativas del compuesto 31 y el compuesto 34 para aumentar la toxicidad del

carboplatino en células de cáncer de ovario (A2780) (no reivindicado).

La exposición secuencial (24 h) de células A2780 a 0,25 μM del compuesto 31 seguido de carboplatino dio como resultado un retraso superior de la proliferación de células A2780 cuando se compara con el compuesto 34 (0.25 μM). De forma análoga, la exposición de células A2780 a 0,5 μM del compuesto 31 junto con carboplatino potenció adicionalmente la potencia de la inhibición de la proliferación y esta potencia fue superior a la observada con 0.5 μM del compuesto 34. Estos datos demuestran que la combinación del compuesto 31-carboplatino es más eficaz en inhibir la proliferación de las células A2780 de cáncer cuando se comparan con las combinaciones del compuesto 34-carboplatino.

**Ejemplo 7. Composición intravenosa de Compuesto 31 (no reivindicado)**

Se disolvió el Compuesto 31 en una solución al 8% de Captisol® en agua, a una tasa de 10 mg/ ml, bastante por debajo de su límite de solubilidad de 27,9 mg/ ml a 25 °C (Captisol® al 20%). Se llevó a cabo la formulación en condiciones asépticas. Se consiguió la esterilidad mediante filtración terminal a través de un filtro de 0,22 micrómetros.

Ejemplo 8: Composición intravenosa de Compuesto 5

Se prepara una formulación ilustrativa de acuerdo con la invención de acuerdo con el siguiente procedimiento general. Se disolvió SBE7- β -CD en agua para formar una solución que contenía aproximadamente 30% p/v de ciclodextrina. Se añadió el Compuesto 5 a la solución que contenía SBE7- β -CD hasta que se alcanzó una concentración de aproximadamente 35 mg/ ml de compuesto 5. Se preparó una formulación evaluada en estudios clínicos en animales y seres humanos y que comprendía los siguientes componentes en las cantidades indicadas como se ha indicado anteriormente. El pH de la solución no se ajustó y no se incluyeron antioxidantes o conservantes.

Ejemplo 9: Composición intravenosa de Compuesto 6 (no reivindicado)

Se disolvió SBE7- β -CD en agua para formar una solución que contenía aproximadamente 30% p/v de SBE7- β -CD. se añadió etilendiaminatetraacetato disódico a la solución de SBE7- β -CD al 0,01% p/v y se disolvió. Se añadió el Compuesto 6 a la solución que contenía SBE7- β -CD con agitación hasta que se alcanzó una concentración de aproximadamente 35 mg/ ml de compuesto 6. Se ajustó el pH a 7-8,5 con hidróxido sódico. La solución se purgó con nitrógeno gas, a continuación se filtró a través de un filtro de un tamaño de poro de 0,22 micrómetros antes de la administración.

Ejemplo 10: Tratamiento del cáncer de mama

Ensayo clínico humano de la seguridad y/o la eficacia de los isoflavonoides para la terapia contra el cáncer de mama

Objetivo: Comparar la seguridad y la farmacocinética de la composición administrada que comprende el compuesto 5, 6 (**no reivindicado**), 7 (**no reivindicado**), d-5, d-6 (**no reivindicado**), d-7 (**no reivindicado**), o 31 (**no reivindicado**).

Diseño del estudio: Este estudio será un estudio aleatorizado en Fase I, en un único centro, sin enmascaramiento, con aumento de dosis seguido de un estudio en Fase II en pacientes con cáncer de mama. Los pacientes no deberían haber tenido exposición al compuesto antes de la entrada en el estudio. Los pacientes no deben haber recibido tratamiento para su cáncer en las 2 semanas de comienzo del ensayo. Los tratamientos incluyen el uso de quimioterapia, factores de crecimiento hematopoyéticos, y terapia biológica tal como anticuerpos monoclonales. los pacientes deben haberse recuperado de todas las toxicidades (hasta el grado 0 o 1) asociadas con el tratamiento previo. se evaluaron todos los sujetos para la seguridad y todas las extracciones de sangre para el análisis farmacocinético se recogieron según lo programado. Todos los estudios se llevaron a cabo con la homologación del comité ético constitucional y el consentimiento informado del paciente.

Fase I: Los pacientes reciben por vía i.v. el compuesto 5, 6, 7, d-5, d-6, d-7, o 31 en los días 1, 8, y 15 de cada ciclo

de 28 días. Las dosis del compuesto 5, 6, 7, *d-5*, *d-6*, *d-7*, o 31 pueden mantenerse o modificarse para la toxicidad basándose en las evaluaciones, como se ha reseñado anteriormente. El tratamiento se repite cada 28 días en ausencia de toxicidad inaceptable. Cohortes de 3-6 pacientes reciben dosis crecientes del compuesto hasta que se determina la dosis máxima tolerada (MTD) para el compuesto. La MTD se define como la dosis que precede en la que 2 de 3 o 2 de 6 pacientes experimentan una toxicidad limitante de la dosis. Las toxicidades limitantes de la dosis se determinan de acuerdo con las definiciones y estándares configurados por el National Cancer Institute (NCI) Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) Versión 3.0 (9 de agosto de 2006).

Fase II: Los pacientes reciben el compuesto 5, 6, 7, *d-5*, *d-6*, *d-7*, o 31 como en la fase I a la MTD determinada en la fase I. El tratamiento se repite cada 4 semanas durante 2-6 ciclos en ausencia de progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Después de la finalización de los 2 ciclos de la terapia del estudio, los pacientes que alcanzan una respuesta completa o parcial pueden recibir 4 ciclos más. Los pacientes que mantienen la enfermedad estable durante más de 2 meses tras el agotamiento de los 6 ciclos de terapia de estudio pueden recibir 6 ciclos más en el momento de progresión de la enfermedad, con la condición de que cumplan los criterios de elegibilidad originales.

Muestreo de sangre. La sangre en serie se extrae mediante punción venosa directa antes y después de la administración del compuesto. Se obtuvieron muestras de sangre venosa (5 ml) para la determinación de las concentraciones séricas aproximadamente 10 minutos antes de la dosificación y a aproximadamente las siguientes veces después de la dosificación: días 1, 8, y 15. Cada muestra de suero se dividió en dos alícuotas. Todas las muestras de suero se almacenaron a -20 °C. las muestras de suero se transportaron en hielo seco.

Farmacocinética: Los pacientes experimentan la extracción de una muestra de plasma/suero para la evaluación farmacocinética antes de comenzar el tratamiento y en los días 1, 8, y 15. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante métodos independientes del modelo en un sistema informático Digital Equipment Corporation VAX 8600 usando la última versión del software BIOAVL. Se determinaron los siguientes parámetros farmacocinéticos: concentración sérica máxima (C_{max}); tiempo hasta la concentración sérica máxima (t_{max}); área bajo la curva de concentración frente al tiempo (ABC) desde el tiempo cero al último tiempo de muestreo de sangre (ABC_{0-72}) calculado con el uso de la regla trapezoidal lineal; y la eliminación de la semivida terminal ($t_{1/2}$), calculada a partir de la constante de la tasa de eliminación. La constante de la tasa de eliminación se estimó mediante regresión lineal de puntos de datos consecutivos en la región lineal terminal del gráfico de concentración lineal logarítmica frente al tiempo. Se calcularon la media, la desviación estándar (SD), y el coeficiente de variación (CV) de los parámetros farmacocinéticos para cada tratamiento. Se calculó la relación de los medios paramétricos (formulación preservada/formulación no preservada).

Respuesta del paciente a la terapia combinada: Se evaluó la respuesta del paciente mediante diagnóstico por imágenes de rayos X, análisis de TC, e IRM, y el diagnóstico por imágenes se realizó antes de comenzar el estudio y al final del primer ciclo, con diagnóstico por imágenes adicional llevado a cabo cada cuatro semanas o al final de los ciclos posteriores. las modalidades de diagnóstico por imágenes se seleccionaron basándose en el tipo de cáncer y la factibilidad/disponibilidad, y la misma modalidad de diagnóstico por imágenes se utilizó para tipos de cánceres similares así como a lo largo de cada ciclo de estudio del paciente. Se determinaron las tasas de respuesta usando los criterios RECIST. (Therasse et al, J. Natl. Cancer Inst. 2 de feb de 2000; 92(3):205-16; <http://ctep.cancer.gov/forms/TherasseRECISTJNCI.pdf>). Los pacientes también experimentan biopsia del tumor canceroso para evaluar cambios en el fenotipo de la célula cancerosa precursora y el crecimiento clonogénico mediante citometría de flujo, Transferencia Western, e IHC, y para los cambios en la citogenética mediante FISH. Después de la finalización del tratamiento de estudio, los pacientes se vigilan periódicamente durante 4 semanas.

Ejemplo 11: Tratamiento del cáncer de ovario

Ensayo clínico humano de la seguridad y/o la eficacia de isoflavonoides para la terapia contra el cáncer de ovario

Objetivo: Comparar la seguridad y la farmacocinética de la composición administrada que comprende el compuesto 5, 6 (no reivindicado), 7 (no reivindicado), *d-5*, *d-6* (no reivindicado), *d-7* (no reivindicado), o 31 (no reivindicado).

Diseño del estudio: Este estudio será un estudio de escalado de dosis aleatorizado en Fase I, en un único centro, abierto, seguido por un estudio en Fase II en pacientes de cáncer de ovario. Los pacientes no deberían haber tenido exposición al compuesto antes de la entrada en el estudio. Los pacientes no deben haber recibido tratamiento para su cáncer en las 2 semanas de comienzo del ensayo. Los tratamientos incluyen el uso de quimioterapia, factores de crecimiento hematopoyéticos, y terapia biológica tal como anticuerpos monoclonales. los pacientes deben haberse recuperado de todas las toxicidades (hasta el grado 0 o 1) asociadas con el tratamiento previo. se evaluaron todos los sujetos para la seguridad y todas las extracciones de sangre para el análisis farmacocinético se recogieron según lo programado. Todos los estudios se llevaron a cabo con la homologación del comité ético constitucional y el consentimiento informado del paciente.

Fase I: Los pacientes reciben por vía i.v. el compuesto 5, 6, 7, *d-5*, *d-6*, *d-7*, o 31 en los días 1, 8, y 15 de cada ciclo de 28 días. se pueden mantener las dosis del compuesto o modificarse para la toxicidad basándose en las evaluaciones como se reseña a continuación. El tratamiento se repite cada 28 días en ausencia de toxicidad

inaceptable. Cohortes de 3-6 pacientes reciben dosis escaladas del compuesto hasta que se determina la dosis máxima tolerada (MTD) para el compuesto. La MTD se define como la dosis precedente a la que 2 de 3 o 2 de 6 pacientes experimentan toxicidad limitante de la dosis. Las toxicidades limitantes de la dosis se determinan de acuerdo con las definiciones y los estándares configurados por el National Cancer Institute (NCI) Common Terminology for Adverse Events (CTCAE) Versión 3.0 (9 de agosto de 2006).

Fase II: Los pacientes reciben el compuesto 5, 6, 7, d-5, d-6, d-7, o 31 como en la fase I a la MTD determinada en la fase I. El tratamiento se repite cada 4 semanas durante 2-6 ciclos en ausencia de progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Después de la finalización de los 2 ciclos de la terapia del estudio, los pacientes que alcanzan una respuesta completa o parcial pueden recibir 4 ciclos más. Los pacientes que mantienen la enfermedad estable durante más de 2 meses tras el agotamiento de los 6 ciclos de terapia de estudio pueden recibir 6 ciclos más en el momento de progresión de la enfermedad, con la condición de que cumplan los criterios de elegibilidad originales.

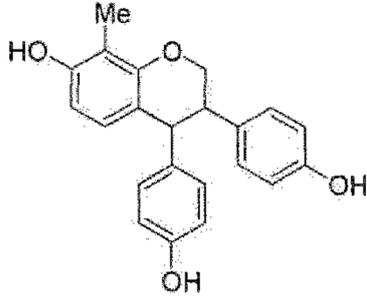
Muestreo de sangre. La sangre en serie se extrae mediante punción venosa directa antes y después de la administración del compuesto. Se obtuvieron muestras de sangre venosa (5 ml) para la determinación de las concentraciones séricas aproximadamente 10 minutos antes de la dosificación y a aproximadamente las siguientes veces después de la dosificación: días 1, 8, y 15. Cada muestra de suero se dividió en dos alícuotas. Todas las muestras de suero se almacenaron a -20 °C. las muestras de suero se transportaron en hielo seco.

Farmacocinética: Los pacientes experimentan la extracción de una muestra de plasma/suero para la evaluación farmacocinética antes de comenzar el tratamiento y en los días 1, 8, y 15. Los parámetros farmacocinéticos se calcularon mediante métodos independientes del modelo en un sistema informático Digital Equipment Corporation VAX 8600 usando la última versión del software BIOAVL. Se determinaron los siguientes parámetros farmacocinéticos: concentración sérica máxima (C_{max}); tiempo hasta la concentración sérica máxima (t_{max}); área bajo la curva de concentración frente al tiempo (ABC) desde el tiempo cero al último tiempo de muestreo de sangre (ABC_{0-72}) calculado con el uso de la regla trapezoidal lineal; y la eliminación de la semivida terminal ($t_{1/2}$), calculada a partir de la constante de la tasa de eliminación. La constante de la tasa de eliminación se estimó mediante regresión lineal de puntos de datos consecutivos en la región lineal terminal del gráfico de concentración lineal logarítmica frente al tiempo. Se calcularon la media, la desviación estándar (SD), y el coeficiente de variación (CV) de los parámetros farmacocinéticos para cada tratamiento. Se calculó la relación de los medios paramétricos (formulación preservada/formulación no preservada).

Respuesta del paciente a la terapia combinada: Se evaluó la respuesta del paciente mediante diagnóstico por imágenes de rayos X, análisis de TC, e IRM, y el diagnóstico por imágenes se realizó antes de comenzar el estudio y al final del primer ciclo, con diagnóstico por imágenes adicional llevado a cabo cada cuatro semanas o al final de los ciclos posteriores. las modalidades de diagnóstico por imágenes se seleccionaron basándose en el tipo de cáncer y la factibilidad/disponibilidad, y la misma modalidad de diagnóstico por imágenes se utilizó para tipos de cánceres similares así como a lo largo de cada ciclo de estudio del paciente. Se determinaron las tasas de respuesta usando los criterios RECIST. (Therasse et al, J. Natl. Cancer Inst. 2 de feb de 2000; 92(3):205-16; <http://ctep.cancer.gov/forms/TherasseRECISTJNCI.pdf>). Los pacientes también experimentan biopsia del tumor canceroso para evaluar cambios en el fenotipo de la célula cancerosa precursora y el crecimiento clonogénico mediante citometría de flujo, Transferencia Western, e IHC, y para los cambios en la citogenética mediante FISH. Después de la finalización del tratamiento de estudio, los pacientes se vigilan periódicamente durante 4 semanas.

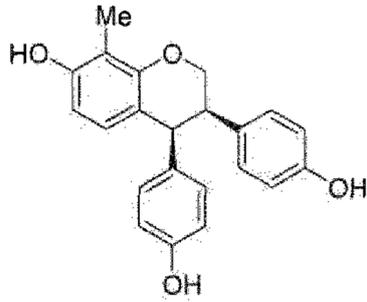
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



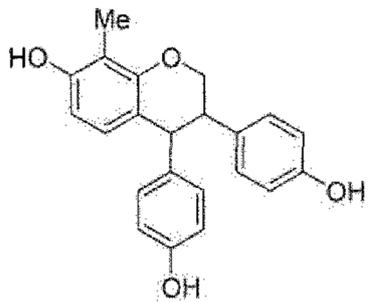
5 en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis en relación unos con otros; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el compuesto es *d-cis*-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



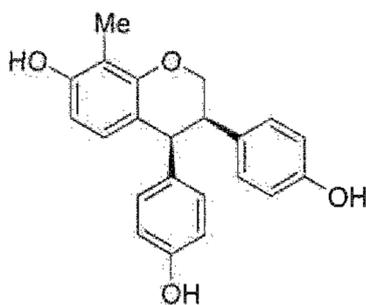
15 3. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde la composición comprende además un agente antineoplásico seleccionado entre el grupo que consiste en cisplatino, carboplatino, paclitaxel, gemcitabina, doxorubicina, epirubicina, ciclofosfamida, capecitabina, 5-fluorouracilo, vinorelbina, trastuzumab o bevacizumab.

20 4. Un kit que comprende una composición que comprende 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



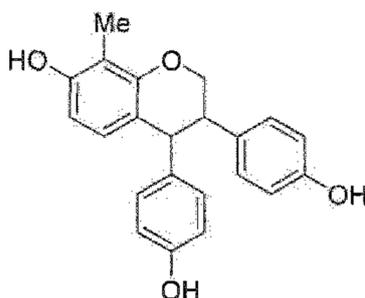
25 en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis en relación unos con otros; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y una bolsa de infusión de plástico precintable.

5. El kit de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el compuesto es *d-cis*-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



6. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento del cáncer en un individuo que necesita terapia contra el cáncer, comprendiendo la composición 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:

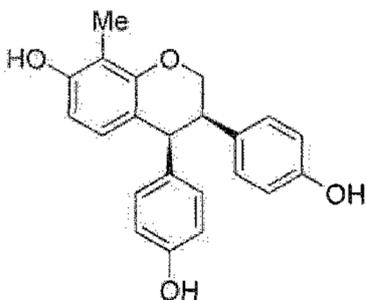
5



en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis en relación unos con otros; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el compuesto es *d-cis*-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:



15

8. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7, en donde la composición se usa para aumentar o inducir la sensibilidad del cáncer a un agente quimioterapéutico, un agente antineoplásico o radioterapia.

9. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el cáncer ha perdido sensibilidad a un agente quimioterapéutico, un agente antineoplásico o radioterapia.

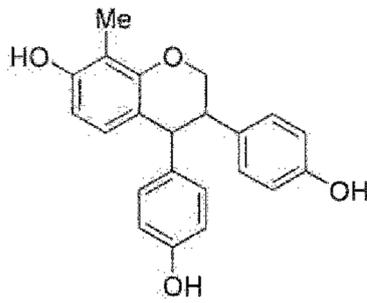
10. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7, en donde dicho cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer de recto, cáncer de endometrio, cáncer de riñón, leucemia, cáncer de pulmón, melanoma, linfoma no de Hodgkin, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de tiroides y cánceres del cerebro.

25

11. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 6 o 7, en donde dicho cáncer es cáncer de mama o cáncer de ovario humanos.

12. Un compuesto que es 3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:

30



en la que los sustituyentes arilo del anillo heterocíclico están en cis en relación unos con otros; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5

13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el compuesto es *d-cis*-3-(4-hidroxifenil)-4-(4-hidroxifenil)-8-metilcroman-7-ol:

