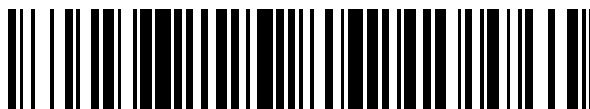


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 791 043**

51 Int. Cl.:

A61K 49/10 (2006.01)

A61K 49/18 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 31/555 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.05.2014** **PCT/US2014/037234**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.11.2014** **WO14182868**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.05.2014** **E 14794410 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020** **EP 2993983**

54 Título: **Orientación de corroles para toxicidad tumoral e IRM**

30 Prioridad:

08.05.2013 US 201361821106 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2020

73 Titular/es:

CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER (100.0%)
8700 Beverly Boulevard
Los Angeles, CA 90048, US

72 Inventor/es:

MEDINA-KAUWE, LALI, K.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 791 043 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

Orientación de corroles para toxicidad tumoral e IRM

Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica prioridad sobre la solicitud provisional estadounidense N.º de serie 61/821.106, presentada el 8 de mayo de 2013.

Declaración sobre la investigación patrocinada federalmente

El gobierno de los EE.UU. tiene una licencia pagada en esta invención y el derecho, en circunstancias limitadas, de exigir al titular de la patente que proporcione licencias a otros en términos razonables según lo establecido en los términos de las subvenciones N.ºs CA 129822 y CA 140995 otorgadas por los *National Institutes of Health* y la Subvención N.º UL1TR000124 otorgada por el *National Center for Advancing Translational Sciences*.

Campo de la invención

Esta invención se refiere a composiciones para su uso en el tratamiento del cáncer y técnicas de imagen.

Antecedentes

La siguiente descripción incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención. No se admite que ninguna de la información proporcionada en la presente memoria sea anterior a la técnica o relevante para la invención reivindicada actualmente, o que cualquier publicación a la que se haga referencia específica o implícitamente sea anterior a la técnica.

Si bien el tratamiento del cáncer mediante porfirinas y compuestos macrocíclicos relacionados se ha investigado ampliamente durante muchas décadas, el potencial terapéutico de los corroles sólo se ha divulgado recientemente. Los corroles sulfonados son compuestos macrocíclicos solubles en agua (anfipolares), cuyos complejos de Fe (III) y Mn (III) son catalizadores muy activos para la descomposición de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno involucradas en una variedad de enfermedades relevantes. Cabe destacar también el descubrimiento de que los derivados de Ga (III) y Al (III) son intensamente fluorescentes a longitudes de onda relativamente largas. Si bien estos complejos metálicos son capaces de sufrir endocitosis mediante la absorción con, o la unión no covalente a, proteínas séricas *in vitro* e *in vivo*, son incapaces de penetrar las membranas celulares sin la facilitación de las moléculas líticas de membrana. Por lo tanto, los corroles tóxicos, como el derivado de Ga (III), son seguros a dosis farmacológicas pero pueden matar células cuando se les permite penetrar en el citosol.

La publicación de H. Agadjanian *et al.*, "Tumor detection and elimination by a targeted gallium corrole", Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 106, n.º. 15, págs. 6105-6110 se refiere a la imagen *in vivo* y la eficacia terapéutica de un corrol de galio dirigido al tumor ensamblado de forma no covalente con una proteína modificada con heregulina dirigida al receptor del factor de crecimiento epidérmico humano (HER, de sus siglas en inglés).

La publicación de D. Pan *et al.*, "Manganese-based MRI contrast agents: past, present, and future", Tetrahedron, vol. 67, n.º 44, págs. 8431-8444 describe familias de agentes de contraste de IRM basadas en manganeso, que implican manganeso iónico libre, manganeso quelado, agentes de manganeso híbrido, agentes macromoleculares y agentes basados en nanopartículas.

La publicación de P. Lim *et al.*, "Differential Cytostatic and Cytotoxic Action of Metallocorroles against Human Cancer Cells: Potential Platforms for Anticancer Drug Development", Chemical Research in Toxicology, vol. 25, n.º. 2, págs. 400-409 se refiere a un corrol anfifílico sustituido con galio (III) asociado de forma no covalente con una proteína de direccionamiento, que tiene actividades citotóxicas y antitumorales.

La publicación de H. Agadjanian, "Specific Delivery of Corroles to Cells via Noncovalent Conjugates with Viral Proteins", Pharmaceutical Research, vol. 23, n.º. 2, págs. 367-377 describe pruebas de corroles mezclados con proteínas recombinantes para ensamblaje conjugado, penetración celular, estabilidad, unión dirigida y muerte celular *in vitro*.

Compendio de la invención

En la presente memoria se describen composiciones que comprenden una nanopartícula de corrol dirigida; y un excipiente aceptable. También se describen composiciones que comprenden una nanopartícula de corrol dirigida; y un vehículo aceptable. Además, en la presente memoria se describen métodos para obtener imágenes de una afección en un sujeto, que comprenden proporcionar una composición que comprende una nanopartícula de corrol dirigida; administrar una cantidad eficaz de la nanopartícula de corrol dirigida al sujeto; y obtener imágenes de la afección en el sujeto. Además, en la presente memoria se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto, que comprenden proporcionar una composición que comprende una nanopartícula de corrol dirigida; y administrar una dosis eficaz terapéuticamente de la nanopartícula de corrol dirigida al sujeto.

Por consiguiente, la presente invención tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas se refiere a una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;

5 en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor.

En algunas realizaciones, la composición farmacéutica a emplear es para uso adicional en la obtención de imágenes por IRM.

10 En algunas realizaciones la proteína de direccionamiento es una proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor, y en donde la nanopartícula se forma mediante un ensamblaje no covalente de la proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor con un corrol sulfonado soluble en agua que forma una partícula redonda similar a un virus de 10-20 nm de diámetro.

En algunas realizaciones la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10.

En algunas realizaciones el corrol metalado está sulfonado.

En algunas realizaciones el corrol metalado es S2Mn.

15 En algunas realizaciones la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10, y en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor HER2+.

En algunas realizaciones la composición farmacéutica se formula para la administración en aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica o parenteral.

20 La presente invención se refiere también al uso de una composición para obtener imágenes de un tumor mediante IRM, caracterizada por la composición que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;

en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor, y

en donde la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10.

En algunas realizaciones del uso el corrol metalado está sulfonado.

25 En algunas realizaciones del uso el corrol metalado es S2Mn.

En algunas realizaciones del uso la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor HER2+.

En algunas realizaciones del uso la composición farmacéutica se formula para la administración en aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica o parenteral.

30 La presente invención también se refiere al uso de una composición para obtener imágenes de un tumor mediante IRM, caracterizada por la composición que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;

en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor,

35 en donde la proteína de direccionamiento es una proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor, y en donde la nanopartícula se forma mediante un ensamblaje no covalente de la proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor con un corrol sulfonado soluble en agua que forma una partícula redonda similar a un virus de 10-20 nm de diámetro.

Se describen realizaciones adicionales de la invención a lo largo de la presente descripción.

Breve descripción de las figuras

40 Se ilustran realizaciones ejemplares en las figuras referenciadas. Se pretende que las realizaciones y figuras descritas en la presente memoria se consideren ilustrativas y no restrictivas.

La Figura 1 representa, según una realización en la presente memoria, la medición del tiempo de relajación T1 de corroles de Mn, Fe y Ga. Se prepararon diferentes concentraciones de cada corrol y se midieron in situ (en un tubo de microcentrífuga) para el tiempo de relajación T1.

La Figura 2 representa, según una realización en la presente memoria, el ensamblaje de HerMn.

45 La Figura 3 representa, según una realización en la presente memoria, la toxicidad tumoral de HerMn. Se inyectó HerMn (5 nmoles por inyección) en la vena de la cola de ratones desnudos hembras con tumores de flanco

bilaterales de células cancerosas HER2+ humanas. Los ratones recibieron inyecciones diarias, 1 x día durante 7 días, mientras que el crecimiento de los tumores se controló midiendo de forma periódica los volúmenes utilizando calibradores. Las inyecciones de control incluían dosis equivalentes de corrol no dirigido (S2Mn), HerPBK10, y vehículo en solitario (solución salina). A, Gráficos de crecimiento de volúmenes tumorales de ratones tratados. N=6-8 tumores por muestra. B, ratones tratados con solución salina (ratón izquierdo) o HerMn (ratón derecho). Las flechas apuntan a tumores. C, IRM del tumor del ratón tratado con HerMn el día de la última inyección (Día 0) y 30 días después (Día 30). El tumor se indica mediante la flecha. La IRM muestra el volumen del tumor sin el uso de un agente de contraste.

La Figura 4 representa, según una realización de la presente memoria, la reducción del tiempo de T1 y el contraste de IRM de S2Mn in vivo. Ratones desnudos hembras con xenoinjertos de flanco bilateral de tumores humanos HER2+ recibieron inyecciones intratumorales de S2Mn o solución salina a las dosis indicadas. A, mediciones del tiempo de relajación T1 obtenidas de los tumores de ratones vivos. B, IRM de tumores en ratones vivos antes (imagen izquierda) y después (imagen derecha) de inyecciones bien de HerMn (1 mmol) o bien de solución salina (indicado por las flechas izquierda y derecha, respectivamente).

Descripción de la invención

A menos que se defina lo contrario, los términos técnicos y científicos empleados en la presente memoria tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Singleton *et al.*, *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology* 3ª ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2001); Marzo, *Advanced Organic Chemistry Reactions*, 5ª ed., J. Wiley & Sons (Nueva York, NY 2001); y Sambrook y Russel, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2001), proporciona a un experto en la técnica una guía general de muchos de los términos empleados en la presente solicitud. Un experto en la técnica reconocerá muchos métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria, que podrían usarse en la práctica de la presente invención.

Como se emplea en la presente memoria, se debe entender que "tratamiento" o "tratar" incluye cualquier indicio de éxito en el tratamiento, alivio o mejora de una lesión, patología o afección. Esto puede incluir parámetros tales como disminución, remisión, disminución de los síntomas, disminución de la tasa de degeneración o disminución, lo que hace que el punto final de la degeneración sea menos debilitante; mejorar el bienestar físico o mental de un paciente; o, prevención de la aparición de la enfermedad.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen nanopartículas basadas en proteínas dirigidas a tumores que son capaces de obtener imágenes y detectar tumores, así como el tratamiento de tumores. La nanopartícula puede ser la combinación de corroles metalados, específicamente manganeso (Mn), hierro (Fe) o galio (Ga), y moléculas HerPBK10, dando como resultado una nanopartícula HerMn, HerFe o HerGa, respectivamente. Como se describe adicionalmente en la presente memoria, los estudios demuestran que HerGa sólo permite la detección de tumores cuando los tumores se localizan dentro de varios centímetros debajo de la piel, y que, por lo tanto, el empleo de HerGa para la detección de tumores puede requerir metodologías de imágenes más avanzadas que la IRM. Los estudios demuestran también que HerMn muestra un mayor potencial como agente de obtención de imágenes para la IRM en comparación con HerFe. Estudios adicionales se centraron en HerMn, descubriendo que además de ser un agente de obtención de imágenes adecuado para la IRM, HerMn muestra una inhibición significativa del crecimiento tumoral in vivo.

HerPBK10 se define y describe en la técnica, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente estadounidense N.º US 2012/0004181 A1, específicamente en el Párrafo [0063].

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen métodos para tratar el cáncer en un sujeto proporcionando una composición que comprende una nanopartícula corrol dirigida al tumor, y administrando al sujeto una dosis eficaz terapéuticamente de la composición. La nanopartícula corrol dirigida al tumor puede incluir manganeso (Mn), hierro (Fe) y/o galio (Ga). La nanopartícula puede ser la combinación de un compuesto corrol con una molécula HerPBK10. La nanopartícula puede ser HerMn, HerFe o HerGa.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen métodos para obtener imágenes en un sujeto proporcionando una composición que comprende una nanopartícula corrol dirigida a un tumor, y administrando al sujeto una dosis eficaz de la composición. La nanopartícula corrol dirigida al tumor puede incluir manganeso (Mn), hierro (Fe), y/o galio (Ga). La nanopartícula es la combinación de un compuesto corrol con una molécula HerPBK10. La nanopartícula puede ser HerMn, HerFe, o HerGa. En otra realización, la obtención de la imagen se realiza mediante IRM.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen métodos para obtener imágenes y diagnosticar una enfermedad en un sujeto proporcionando una composición que comprende una nanopartícula corrol dirigida, administrando al sujeto una dosis eficaz de la composición, y diagnosticando la enfermedad en base a la obtención de imágenes del sujeto. La nanopartícula corrol dirigida puede incluir manganeso (Mn), hierro (Fe) y/o galio (Ga). La nanopartícula puede ser la combinación de un compuesto corrol con una molécula HerPBK10. La nanopartícula puede ser HerMn, HerFe, o HerGa. La obtención de la imagen puede realizarse mediante IRM.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen métodos para obtener imágenes y tratar una enfermedad en un sujeto proporcionando una composición que comprende una nanopartícula corrol dirigida, administrando al sujeto una dosis eficaz de la composición, y obteniendo imágenes y tratando al sujeto. La nanopartícula corrol dirigida puede incluir manganeso (Mn), hierro (Fe) y/o galio (Ga). La nanopartícula puede ser la combinación de un compuesto corrol con una molécula HerPBK10. La nanopartícula puede ser HerMn, HerFe, o HerGa. La obtención de la imagen puede realizarse mediante IRM.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen composiciones que comprenden una nanopartícula de corrol dirigida. La nanopartícula corrol dirigida puede incluir manganeso (Mn), hierro (Fe), y/o galio (Ga). La nanopartícula puede ser la combinación de un compuesto corrol con una molécula HerPBK10. La nanopartícula puede ser HerMn, HerFe, o HerGa. La obtención de la imagen puede realizarse mediante IRM.

En la presente memoria dentro del contexto de la invención se describen composiciones farmacéuticas que incluyen un excipiente farmacéuticamente aceptable junto con una cantidad eficaz terapéuticamente de una nanopartícula de corrol dirigida. "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que generalmente es segura, no tóxica, y deseable, e incluye excipientes que son aceptables para uso veterinario, así como para uso farmacéutico humano. Dichos excipientes pueden ser sólidos, líquidos, semisólidos, o, en el caso de una composición de aerosol, gaseosos.

En varias realizaciones, las composiciones farmacéuticas pueden formularse para administrarse a través de cualquier vía de administración. "Vía de administración" puede referirse a cualquier vía de administración conocida en la técnica, que incluye pero no se limita a, aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica o parenteral. "Parenteral" se refiere a una vía de administración que se asocia generalmente con la inyección, que incluye la vía intraorbital, infusión, intraarterial, intracapsular, intracardiaca, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intrapulmonar, intraespinal, intraesternal, intratecal, intrauterina, intravenosa, subaracnoidea, subcapsular, subcutánea, transmucosa o transtraqueal. A través de la vía parenteral, las composiciones pueden estar en forma de disoluciones o suspensiones para infusión o inyección, o como polvos liofilizados.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria también pueden contener cualquier vehículo farmacéuticamente aceptable. "Vehículo farmacéuticamente aceptable" como se emplea en la presente memoria, se refiere a un material, composición, o vehículo farmacéuticamente aceptable que está implicado en llevar o transportar un compuesto de interés desde un tejido, órgano o parte del cuerpo a otro tejido, órgano o parte del cuerpo. Por ejemplo, el vehículo puede ser una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente, o material de encapsulación, o una combinación de los mismos. Cada componente del vehículo debe ser "farmacéuticamente aceptable" en el sentido de que debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación. También debe ser adecuado para su uso en contacto con cualquier tejido u órgano con el que pueda entrar en contacto, lo que significa que no debe conllevar un riesgo de toxicidad, irritación, respuesta alérgica, inmunogenicidad, o cualquier otra complicación que supere excesivamente sus beneficios terapéuticos.

Las composiciones farmacéuticas también pueden encapsularse, comprimirse o prepararse en una emulsión o jarabe para administración oral. Se pueden añadir vehículos sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables para mejorar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, glicerina, solución salina, alcoholes y agua. Vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio, dihidrato, *terra alba*, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, acacia, agar o gelatina. El vehículo también puede incluir un material de liberación sostenida, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, en solitario o con una cera.

Las preparaciones farmacéuticas se realizan siguiendo las técnicas convencionales de farmacia que implican molienda, mezcla, granulación y compresión, cuando sea necesario, para formas comprimidas; o molienda, mezcla y llenado para formas de cápsulas de gelatina dura. Cuando se emplea un vehículo líquido, la preparación estará en forma de un jarabe, elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. Dicha formulación líquida se puede administrar directamente p.o. o envasada en una cápsula de gelatina blanda.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse en una cantidad eficaz terapéuticamente. La cantidad eficaz terapéuticamente precisa es la cantidad de la composición que producirá los resultados más eficaces en términos de eficacia del tratamiento en un sujeto dado. Esta cantidad variará dependiendo de una variedad de factores, que incluyen pero no se limitan a, las características del compuesto terapéutico (que incluye actividad, farmacocinética, farmacodinámica, y biodisponibilidad), la condición fisiológica del sujeto (que incluye edad, sexo, tipo y etapa de la enfermedad, estado físico general, capacidad de respuesta a una dosis dada, y tipo de medicamento), la naturaleza del vehículo o vehículos farmacéuticamente aceptables en la formulación, y la vía de administración. Un experto en las técnicas clínicas y farmacológicas podrá determinar una cantidad eficaz terapéuticamente mediante experimentación de rutina, por ejemplo, controlando la respuesta de un sujeto a la administración de un compuesto y, por consiguiente, ajustando la dosis. Para orientación adicional, véase *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (Gennaro ed. 20ª edition, Williams & Wilkins PA, EE.UU.) (2000).

Las dosis típicas de una nanopartícula corrol dirigida eficaz pueden estar en los intervalos recomendados por el fabricante donde se emplean compuestos terapéuticos conocidos, y también según lo indicado por el experto en la

técnica. mediante las respuestas o respuestas *in vitro* en modelos animales. Dichas dosis típicamente se pueden reducir hasta aproximadamente un orden de magnitud en concentración o cantidad sin perder la actividad biológica relevante. Por lo tanto, la dosificación real dependerá del juicio del médico, la condición del paciente, y la eficacia del método terapéutico basado, por ejemplo, en la capacidad de respuesta *in vitro* de las células cultivadas primarias relevantes o una muestra de tejido histocultivada, tal como tumores malignos biopsiados, o las respuestas observadas en los modelos animales apropiados, como se describe anteriormente

Los diversos métodos y técnicas descritos anteriormente proporcionan varias formas de llevar a cabo la invención. Por supuesto, debe entenderse que no pueden lograrse necesariamente todos los objetivos o ventajas descritos según cualquier realización particular descrita en la presente memoria. Por tanto, por ejemplo, los expertos en la técnica reconocerán que los métodos se pueden realizar de una manera que se logre u optimice una ventaja o grupo de ventajas como se enseña en la presente memoria sin necesariamente alcanzar otros objetivos o ventajas como se puede enseñar o sugerir en la presente memoria. En la presente memoria se menciona una variedad de alternativas ventajosas y desventajosas. Debe entenderse que algunas realizaciones preferidas incluyen específicamente una, otra, o varias características ventajosas, mientras que otras excluyen específicamente una, otra, o varias características desventajosas, mientras que otras mitigan específicamente una característica desventajosa actual mediante la inclusión de una, otra, o varias características ventajosas.

Además, el experto en la técnica reconocerá la aplicabilidad de diversas características de diferentes realizaciones. De manera similar, los diversos elementos, características y etapas discutidos anteriormente, así como otros equivalentes conocidos para cada elemento, característica o etapa, se pueden mezclar y combinar por un experto en esta técnica para realizar métodos según los principios descritos en la presente memoria. Entre los diversos elementos, características, y etapas, algunos se incluirán específicamente y otros se excluirán específicamente en diversas realizaciones.

Aunque la invención se ha divulgado en el contexto de ciertas realizaciones y ejemplos, los expertos en la técnica entenderán que las realizaciones de la invención se extienden más allá de las realizaciones divulgadas específicamente a otras realizaciones alternativas y/o usos y modificaciones y equivalentes de las mismas.

En realizaciones de la presente invención se han descrito muchas variaciones y elementos alternativos. Para un experto en la técnica serán evidentes aún más variaciones y elementos alternativos. Entre estas variaciones, sin limitación, se encuentran la selección de módulos constituyentes para las composiciones de la invención, y las enfermedades y otras afecciones clínicas que pueden diagnosticarse, pronosticarse o tratarse con ellas. Diversas realizaciones de la invención pueden incluir o excluir específicamente cualquiera de estas variaciones o elementos.

En algunas realizaciones, los números que expresan cantidades de ingredientes, propiedades tales como concentración, condiciones de reacción, etc., empleadas para describir y reivindicar ciertas realizaciones de la invención deben entenderse como modificadas en algunos casos por el término "aproximadamente". Por consiguiente, en algunas realizaciones, los parámetros numéricos establecidos en la descripción escrita y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se desean obtener mediante una realización particular. En algunas realizaciones, los parámetros numéricos deben interpretarse a la luz del número de dígitos significativos reportados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias. A pesar de que los rangos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de algunas realizaciones de la invención son aproximaciones, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se reportan con la mayor precisión posible. Los valores numéricos presentados en algunas realizaciones de la invención pueden contener ciertos errores necesariamente resultantes de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de ensayo.

En algunas realizaciones, los términos "un" y "una" y "el/la/los/las" y referencias similares empleadas en el contexto de la descripción de una realización particular de la invención (especialmente en el contexto de determinadas de las siguientes reivindicaciones) pueden interpretarse por abarcar tanto el singular como el plural. La recitación de intervalos de valores en la presente memoria sólo pretende servir como un método abreviado para referirse individualmente a cada valor separado que cae dentro del intervalo. A menos que se indique lo contrario en la presente memoria, cada valor individual se incorpora a la memoria como si se mencionara individualmente en la presente memoria. Todos los métodos descritos en la presente memoria pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que en la presente memoria se indique lo contrario o que el contexto lo contradiga claramente de otra manera. El empleo de cualquiera y de todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado con respecto a ciertas realizaciones en la presente memoria pretende simplemente aclarar mejor la invención y no plantea una limitación en el alcance de la invención reivindicada de otro modo. Ningún lenguaje en la memoria debe interpretarse como indicativo de ningún elemento esencial no reivindicado para la práctica de la invención.

Las agrupaciones de elementos o realizaciones alternativas de la invención descrita en la presente memoria no deben interpretarse como limitaciones. Cada miembro del grupo se puede referir y reivindicar individualmente o en cualquier combinación con otros miembros del grupo u otros elementos que se encuentran en la presente memoria. Uno o más miembros de un grupo se pueden incluir, o eliminar, de un grupo por razones de conveniencia y/o patentabilidad. Cuando se produce dicha inclusión o eliminación, se considera que la memoria contiene el grupo

modificado cumpliendo por tanto con la descripción escrita de todos los grupos Markush empleados en las reivindicaciones adjuntas.

En la presente memoria se describen realizaciones preferidas de esta invención, incluido el mejor modo conocido por los inventores para llevar a cabo la invención. Las variaciones en esas realizaciones preferidas resultarán evidentes para los expertos habituales en la técnica al leer la descripción anterior. Se contempla que los artesanos expertos pueden emplear tales variaciones según sea apropiado, y la invención se puede practicar de otra manera que la descrita específicamente en la presente memoria. Por consiguiente, muchas realizaciones de esta invención incluyen todas las modificaciones y equivalentes de la materia objeto mencionada en las reivindicaciones adjuntas a la misma según lo permitido por la ley aplicable. Por otra parte, cualquier combinación de los elementos descritos anteriormente en todas las variaciones posibles de los mismos está incluida en la invención a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o que el contexto lo contradiga claramente.

Además, a lo largo de esta memoria se han hecho numerosas referencias a patentes y publicaciones impresas.

Para terminar, debe entenderse que las realizaciones de la invención descritas en la presente memoria son ilustrativas de los principios de la presente invención. Otras modificaciones que pueden emplearse pueden estar dentro del alcance de la invención. Por tanto, a modo de ejemplo, pero no de limitación, se pueden utilizar configuraciones alternativas de la presente invención según las enseñanzas de la presente memoria. Por consiguiente, las realizaciones de la presente invención no se limitan exactamente a las que se muestran y describen. El alcance de la protección se determina por las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor la invención reivindicada y no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención. En la medida en que se mencionen materiales específicos, es meramente con fines de ilustración y no pretende limitar la invención.

Ejemplo 1

Corrol de Mn muestra el mayor tiempo de relajación de T1 in vitro.

Los inventores evaluaron un panel inicial de corroles para determinar cuál, si lo hay, muestra potencial como un agente de contraste para IRM. Para determinar esto, los inventores midieron la reducción de tiempo de T1 de cada uno a concentraciones crecientes, en condiciones in vitro. De los tres corroles medidos (compuestos metalizados con galio, hierro, y manganeso), el corrol de Mn, S2Mn, mostró el mayor acortamiento del tiempo T1 (Figura 1). Por lo tanto, se realizaron estudios posteriores empleando este compuesto.

Ejemplo 2

Corrol de Mn dirigido, HerMn, destruye los tumores in vivo.

Los inventores examinaron si S2Mn era tóxico para los tumores cuando se administraba mediante la proteína de direccionamiento, HerPBK10. La partícula resultante de la interacción no covalente entre S2Mn y HerPBK10 (llamada HerMn; Figura 2) se analizó para determinar la toxicidad dirigida al tumor en un modelo de ratón de xenoinjerto in vivo de cáncer HER2+ humano. Administramos HerMn a 5 nmoles por inyección o la dosis equivalente de S2Mn en solitario, HerPBK10 en solitario, y solución salina, mediante inyección en la vena de la cola diariamente durante 7 días, y se monitoreó el crecimiento del tumor durante 25 días después de la inyección final. Este estudio muestra que HerMn puede causar la ablación del crecimiento tumoral in vivo, mientras que los componentes individuales no (Figura 3).

Ejemplo 3

S2Mn muestra acortamiento del tiempo de T1 y contraste de IRM in vivo.

Para determinar si S2Mn muestra contraste por IRM, los inventores midieron el acortamiento del tiempo de T1 de S2Mn in vivo después de la inyección intratumoral a diferentes dosis por inyección. Una acumulación de 100 μ moles de S2Mn en el tumor produjo una diferencia significativa en el acortamiento del tiempo de T1 en comparación con el volumen equivalente de solución salina inyectada en el tumor contralateral (Figura 4A). Sin embargo, 1 mmol de S2Mn produjo una mejor reducción del tiempo de T1 que podría distinguirse mejor de las señales de tejido de fondo (Figura 4A), y también produjo un contraste detectable por IRM (Figura 4B).

Tomados en conjunto, los hallazgos demuestran que HerMn es un agente viable tanto para la detección como para la destrucción de tumores dirigidos mediante IRM. Estos hallazgos respaldan el traslado de HerMn hacia una futura aplicación clínica.

*Ejemplo 4**Visión general*

Como se describe en la presente memoria, los inventores desarrollaron una nanopartícula basada en proteínas dirigida al tumor capaz de la detección y el tratamiento simultáneo de tumores. En una realización, la nanopartícula se forma mediante el ensamblaje no covalente de una proteína de penetración celular recombinante dirigida al tumor (HerPBK10) con corroles sulfonados solubles en agua, formando partículas redondas similares a un virus de 10-20 nm de diámetro. Mientras que HerPBK10 facilita la orientación del tumor y la penetración de la membrana celular, el corrol se une de forma no covalente a la proteína y permite la detección y la citotoxicidad. Los inventores demostraron que ese suministro de un corrol metalizado con galio por HerPBK10 (que da como resultado el complejo, HerGa) puede emitir una fluorescencia roja intensa para rastrear la orientación del tumor mientras mata selectivamente los tumores HER2+. Sin embargo, la detección de tumores empleando HerGa sólo se permite cuando los tumores se localizan dentro de varios centímetros debajo de la piel, ya que las intensidades de penetración de la luz están limitadas a varios centímetros. Por tanto, el uso de HerGa para la detección de tumores en la clínica puede requerir metodologías de imágenes más avanzadas, que incluyen las tecnologías endoscópicas.

Como se describe en la presente memoria, los inventores han explorado si se pueden usar corroles metalados alternativos que, cuando se combinan con HerPBK10, son tan citotóxicos como HerGa pero tienen suficientes propiedades de contraste como para permitir la detección utilizando dispositivos relevantes clínicamente, tales como la IRM. Los inventores examinaron si las partículas dirigidas al tumor que transportan corroles de manganeso (Mn) y hierro (Fe) (HerMn o HerFe, respectivamente) tienen suficiente contraste para la IRM mientras mantienen la toxicidad dirigida a las células tumorales HER2+ *in vivo*.

Varias realizaciones de la invención se describen anteriormente en la Descripción Detallada. Si bien estas descripciones describen directamente las realizaciones anteriores, se entiende que los expertos en la técnica pueden concebir modificaciones y/o variaciones a las realizaciones específicas mostradas y descritas en la presente memoria. Cualquiera de tales modificaciones o variaciones que se encuentren dentro del alcance de esta descripción también se incluirá en la misma. A menos que se indique específicamente, los inventores tienen la intención de que las palabras y frases en la memoria y en las reivindicaciones tengan los significados habituales y usuales para los expertos en la(s) técnica(s) correspondientes.

La descripción anterior de varias realizaciones de la invención conocidas por el solicitante en este momento de presentar la solicitud se ha presentado y está destinada con fines de ilustración y descripción. La presente descripción no pretende ser exhaustiva ni limitar la invención a la forma precisa descrita y son posibles muchas modificaciones y variaciones a la luz de las enseñanzas anteriores. Las realizaciones descritas sirven para explicar los principios de la invención y su aplicación práctica, y para permitir que otros expertos en la técnica utilicen la invención en diversas realizaciones y con diversas modificaciones que sean adecuadas para el uso particular contemplado. Por lo tanto, se pretende que la invención no se limite a las realizaciones particulares descritas para llevar a cabo la invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento del cáncer, que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;
- 5 en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor.
2. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 1, para su uso adicional en obtención de imágenes por IRM.
3. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la proteína de direccionamiento es una proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor, y en donde la nanopartícula se forma por un ensamblaje no covalente de la proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor con un corrol sulfonado soluble en agua que forma una partícula redonda similar a un virus de 10-20 nm de diámetro.
- 10 4. La composición farmacéutica para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10.
- 15 5. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2 y 4, en donde el corrol metalado está sulfonado.
6. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 4 y 5, en donde el corrol metalado es S2Mn.
- 20 7. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10, y en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor HER2+.
8. La composición farmacéutica para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la composición farmacéutica se formula para administración en aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica, o parenteral.
- 25 9. Uso de una composición para obtener imágenes de un tumor mediante IRM, caracterizado por la composición que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;
- en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor, y
- en donde la proteína de direccionamiento es una molécula HerPBK10.
10. El uso de la composición según la reivindicación 9, en donde el corrol metalado está sulfonado.
- 30 11. El uso de la composición según la reivindicación 9 o 10, en donde el corrol metalado es S2Mn.
12. El uso de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor HER2 +.
13. El uso de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en donde la composición farmacéutica se formula para administración en aerosol, nasal, oral, transmucosa, transdérmica, o parenteral.
- 35 14. Uso de una composición para obtener imágenes de un tumor mediante IRM, caracterizado por la composición que comprende una nanopartícula dirigida que comprende una proteína de direccionamiento y un corrol metalado que comprende manganeso; y un excipiente farmacéuticamente aceptable;
- en donde la nanopartícula dirigida se dirige a un tumor,
- en donde la proteína de direccionamiento es una proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor, y en donde la nanopartícula se forma por un ensamblaje no covalente de la proteína recombinante de penetración celular dirigida al tumor con un corrol sulfonado soluble en agua que forma una partícula redonda similar a un virus de 10-20 nm de diámetro.
- 40

Figura 1

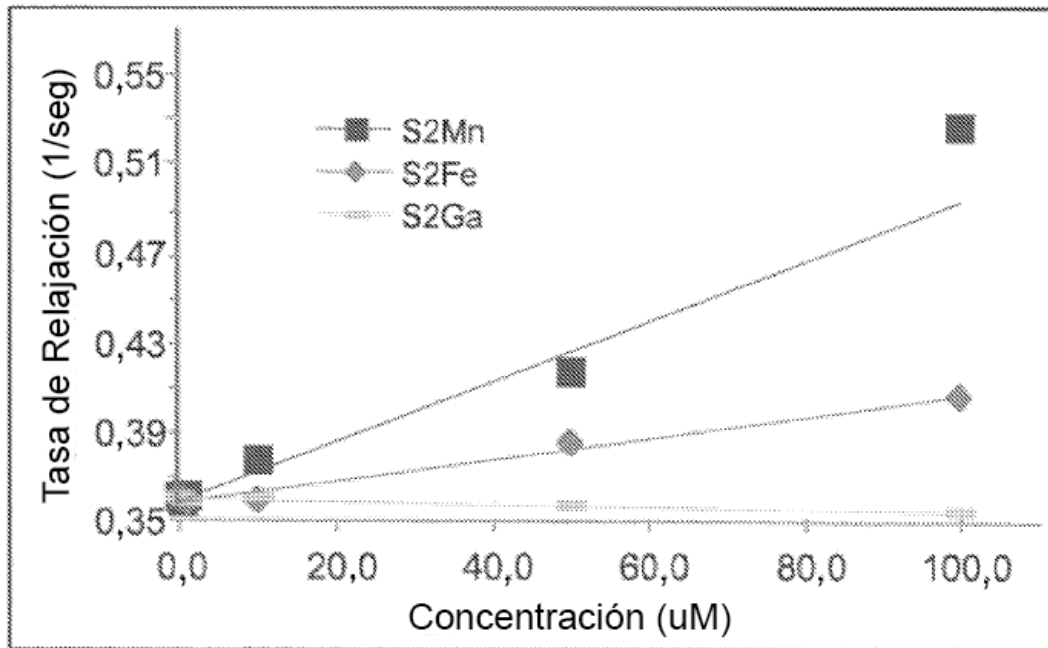


Figura 2

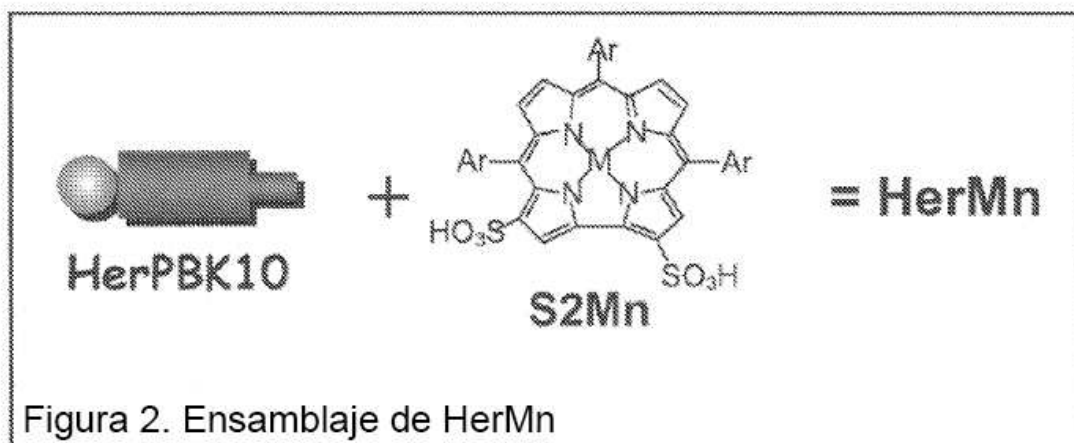


Figura 3

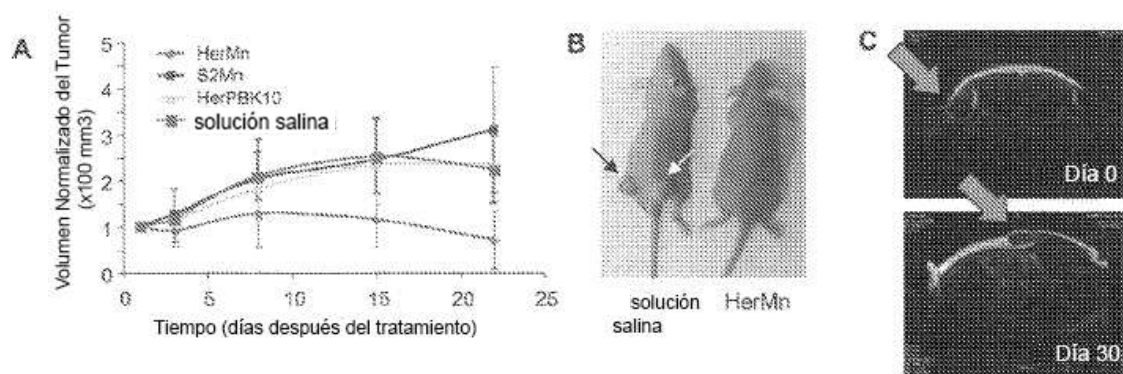


Figura 4

