

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 811 367**

51 Int. Cl.:

A61K 31/665 (2006.01)

A61K 47/54 (2007.01)

C07F 9/655 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.11.2015 PCT/US2015/059382**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2016 WO16081203**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2015 E 15860163 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2020 EP 3229810**

54 Título: **Análogos de éteres fosfolipídicos como vehículos de fármacos que seleccionan como objetivo el cáncer**

30 Prioridad:

17.11.2014 US 201462080436 P

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

11.03.2021

73 Titular/es:

**CELLECTAR BIOSCIENCES, INC. (100.0%)
3301 Agriculture Drive
Madison, WI 53716, US**

72 Inventor/es:

**WEICHERT, JAMEY, P.;
PINCHUK, ANATOLY;
KOZAK, KEVIN;
LONGINO, MARC;
GRUDZINSKI, JOSEPH;
TITZ, BENJAMIN;
PAK, CHOROM y
STEHLE, NATHAN**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 811 367 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

Análogos de éteres fosfolipídicos como vehículos de fármacos que seleccionan como objetivo el cáncer

Antecedentes de la invención

5 En 2012, 14,1 millones de personas en todo el mundo recibieron un diagnóstico de cáncer, y 8,2 millones murieron de cáncer. En los Estados Unidos, alrededor del 40% de la población recibirá un diagnóstico de cáncer a lo largo de su vida. A pesar de recibir el mejor tratamiento disponible, un 44% de esos estadounidenses morirán de cáncer.

10 El cáncer es el resultado de una célula que se divide sin limitación. Las células sanas tienen puntos de control que previenen la división celular ilimitada. Unos cuantos ejemplos de estos puntos de control son la disponibilidad de nutrientes, el daño en el ADN y la inhibición por contacto (es decir, una célula entra en contacto con otra célula). Además, la mayoría de las células se pueden replicar solamente un número limitado de veces, y por tanto están programadas para morir después de un número particular de divisiones celulares.

15 El cáncer es el resultado de una célula que supera estos puntos de control intrínsecos y prolifera fuera de control. Esta proliferación incontrolada conduce a la formación de un tumor. Existen dos tipos de tumores, benignos y malignos. Los tumores benignos son incapaces de atravesar los límites naturales entre tipos de tejidos. Los tumores malignos, por otra parte, son capaces de invadir el tejido cercano o entrar en el torrente sanguíneo y metastatizarse en una ubicación diferente. Solamente los tumores malignos se consideran cancerosos. Es esta capacidad de infiltrarse y metastatizar lo que hace que el cáncer sea una enfermedad tan letal.

20 Para complicar adicionalmente la lucha contra el cáncer, los tumores malignos tienen diferentes tipos de células. Un tipo especialmente problemático son las células madre cancerosas ("CMCs"). Las CMCs son capaces de auto-renovarse y diferenciarse en los diferentes tipos de células cancerosas halladas en un tumor maligno. Por tanto, las CMCs son un factor importante en la capacidad metastásica de un tumor. Las CMCs sobreviven a menudo a la radiación y la quimioterapia. Se ha planteado la hipótesis de que la recidiva del cáncer tras la radiación y la quimioterapia es el resultado de la incapacidad de la radiación y la quimioterapia de destruir todas las CSCs, combinada con la capacidad de las CMCs de establecer un tumor nuevo.

25 Un tipo de cáncer especialmente problemático es el cáncer cerebral. Los cánceres cerebrales, tales como los gliomas de alto grado, se tratan a menudo con cirugía, seguida de radioterapia. La cirugía de los tumores cerebrales suele ser muy complicada. El cirujano debe eliminar el tumor sin dañar ningún tejido cerebral cercano, lo que podría dar como resultado discapacidades físicas o cognitivas. Con frecuencia el cirujano es incapaz de eliminar los límites del tumor que están en contacto con el tejido sano. La radioterapia se usa con frecuencia para destruir estas células cancerosas restantes. Sin embargo, las dosis de radiación están limitadas por el daño potencial en el tejido cerebral sano. Desafortunadamente, el cáncer cerebral normalmente es resistente a la quimioterapia. Esta resistencia es atribuible en gran medida a la barrera hematoencefálica ("BHE"). La BHE es una barrera física que separa el fluido que rodea el cerebro de las células sanguíneas y otros componentes del torrente sanguíneo. La mayoría de los fármacos antineoplásicos son incapaces de atravesar la BHE.

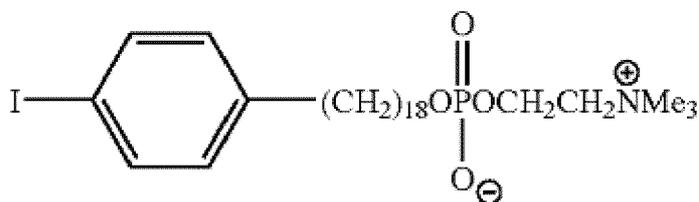
35 Uno método de tratamiento del cáncer cerebral es inhibir el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos, que son necesarios para la progresión del tamaño del tumor. Bevacizumab, comercializado bajo la marca comercial Avastin® (Avastin es una marca comercial registrada de Genentech, Inc.), se usa para detener e incluso invertir la vascularización tumoral. Sin embargo, Rich J., y colaboradores, *Canc Res*, 2006, 66, 7843, descubrieron que cuando se usó Avastin® para tratar un tumor cerebral derivado de células madre de glioma dio como resultado hipoxia y un pH disminuido. Sathornsumetee S., ensayo de fase II de bevacizumab y erlotinib en pacientes con glioma maligno recurrente, *Neuro-Oncol*, dic. de 2010, 12(12), 1300-1310. Se sabe que la hipoxia y el pH bajo provocan la propagación de las CMCs y pueden estimular la recidiva tumoral controlada por las CMCs.

45 Quimioterapia es un término usado para describir un tipo particular de tratamiento del cáncer, que incluye el uso de fármacos antineoplásicos citotóxicos. Los fármacos citotóxicos usados durante la quimioterapia se pueden dividir en varias categorías principales que incluyen los agentes alquilantes, antimetabolitos, antibióticos antitumorales, inhibidores de topoisomerasa, e inhibidores mitóticos. Los fármacos antineoplásicos citotóxicos en general provocan que la división celular se detenga, y por tanto afectan al tejido sano al igual que al tejido canceroso. Los agentes alquilantes detienen la división de las células cancerosas dañando el ADN de las células cancerosas. Algunos agentes alquilantes habituales usados para tratar el cáncer son las mostazas de nitrógeno (p.ej. ciclofosfamida (Cytosan®; Cytosan es una marca comercial registrada de Baxter International), nitrosoureas, sulfonatos de alquilo, triazinas, y etileniminas. Los fármacos de platino, tales como cisplatino y carboplatino, funcionan de forma similar a los agentes alquilantes. Los antimetabolitos detienen la división de las células cancerosas inhibiendo la síntesis de ADN y ARN. Algunos antimetabolitos habituales usados para tratar el cáncer son 6-mercaptopurina, gemcitabina (Gemzar®; Gemzar es una marca comercial registrada de Eli Lilly and Company), metotrexato y pemetrexed (Alimta®; Alimta es una marca comercial registrada de Eli Lilly and Company). Los inhibidores de topoisomerasas detienen la división de las células cancerosas inhibiendo la separación de las enzimas topoisomerasas del ADN para la replicación. Algunos inhibidores de topoisomerasas habituales son topotecano, irinotecano, etopósido, y tenipósido. Los inhibidores mitóticos detienen la división de las células cancerosas inhibiendo enzimas clave de la división celular. Algunos

inhibidores mitóticos habituales son los taxanos (p.ej. paclitaxel (Taxol®; Taxol es una marca comercial registrada de Bristol-Myers Squibb Company) y docetaxel (Taxotere®; Taxotere es una marca comercial registrada de Aventis Pharma SA)), epotilonas, y alcaloides de la vinca.

Una desventaja de todos estos fármacos de quimioterapia es el daño que provocan en el tejido sano. Debido a que los fármacos tratan el cáncer inhibiendo la función celular normal, también se puede dañar gravemente el tejido sano, que también depende de una división celular constante, tal como las células sanguíneas, las superficies mucosas y la piel. Este daño da como resultado una morbilidad significativa, y puede limitar la cantidad de quimioterapia que se puede administrar con seguridad. Los ejemplos de efectos secundarios que se dan durante el tratamiento de quimioterapia incluyen un recuento sanguíneo bajo, pérdida de pelo, dolor muscular y articular, náuseas, vómitos, diarrea, úlceras bucales, fiebre, y escalofríos. Para superar este problema se están desarrollando fármacos que afectan a las proteínas y las funciones celulares que se dan solamente en las células cancerosas. Algunos de estos fármacos contra el cáncer específicos son imatinib (Gleevec®; Gleevec es una marca comercial registrada de Novartis AG), gefitinib (Iressa®, Iressa es una marca comercial registrada de AstraZeneca UK Limited), sunitinib (Sutent®; Sutent es una marca comercial registrada de C.P. Pharmaceuticals, International C.V.), y bortezomib (Velcade®; Velcade es una marca comercial registrada de Millennium Pharmaceuticals, Inc.). Sin embargo, estos fármacos no están aprobados para el tratamiento de todos los tipos de cáncer, y están asociados de manera generalizada con el desarrollo de resistencia al tratamiento. Por tanto, existe la necesidad en la técnica de un vehículo de administración de fármacos de quimioterapia que pueda administrar fármacos de quimioterapia potentes, eficaces, de amplio espectro a células cancerosas, que incluyen CMCs, mientras se evita la absorción sustancial del fármaco en las células sanas. Además, el vehículo de administración de fármaco de quimioterapia debería ser capaz de atravesar la BHE y administrar el fármaco de quimioterapia a las células cancerosas del cerebro.

El documento WO 2010/132428 A1 se refiere a compuestos fosfolípidicos fluorescentes nuevos, las composiciones que comprenden estos compuestos, y métodos de diagnóstico que utilizan estos compuestos, pero no se refiere a su uso como fármacos de quimioterapia. En la actualidad existen unos cuantos compuestos químicos que seleccionan como objetivo preferentemente las células cancerosas. Uno de tales compuestos es CLR1404. En general, CLR1404 es un nuevo y prometedor agente de imagenología para el diagnóstico selectivo de tumores usado para monitorizar la respuesta al tratamiento de varias modalidades de tratamiento de tumores. El CLR1404 radioyodado, un análogo de éter fosfolípidico ("EFL") de segunda generación con la siguiente estructura,



ha mostrado una selectividad tumoral notable en 55/60 modelos animales de cáncer por xenoinjerto, ortotópico y transgénico y derivado de células madre cancerosas, lo que hace que la molécula central sea una plataforma ideal para un vehículo de administración de fármacos antineoplásicos. Véase la patente de EE.UU. nº 8535641; la solicitud de patente de EE.UU. nº US 2011/064661 A1; la publicación de solicitud de patente de EE.UU. nº 2014/0030187 y Weichert, J.P., et al., Alkylphosphocholine analogs for broad-spectrum cancer imaging and therapy, *Sci Transl Med*, 11 de jun. de 2014, 6(240), 240ra75.

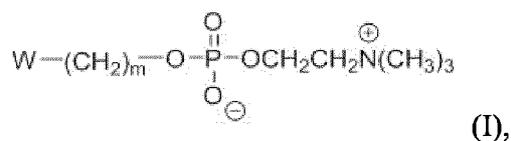
Lo que no se sabe es si un compuesto que se capta selectivamente y se retiene en las células cancerosas y las células madre cancerosas es capaz de administrar un fármaco de quimioterapia en estas mismas células. Además, no se sabe si este compuesto también es capaz de transportar los fármacos de quimioterapia a través de la BHE para tratar los cánceres cerebrales. Finalmente, se desconoce si este compuesto o compuestos similares pueden provocar que la célula cancerosa retenga el fármaco de quimioterapia en cantidades suficientes y durante un periodo suficiente de tiempo para erradicar el tumor y prevenir el crecimiento adicional y la metástasis. La presente invención adapta la molécula central de CLR1404 al uso como vehículo de administración de fármacos de quimioterapia capaz de transportar selectivamente el fármaco de quimioterapia a las células cancerosas y las células madre cancerosas, que incluyen las células cancerosas cerebrales. Además, los compuestos de la presente invención se retienen en las células cancerosas.

45 Sumario de la invención

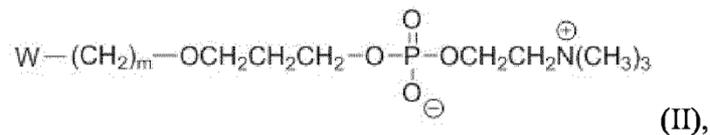
La presente invención se dirige a compuestos terapéuticos capaces de seleccionar como objetivo las células cancerosas y las células madre cancerosas, que incluyen las células tumorales cerebrales. La presente invención también se dirige a compuestos terapéuticos capaces de ser captados y retenidos en las células cancerosas y las células madre cancerosas, que incluyen las células tumorales cerebrales, en una cantidad suficiente y durante un periodo suficiente para tratar el cáncer y prevenir la metástasis y la recidiva.

En una realización, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D, en donde:

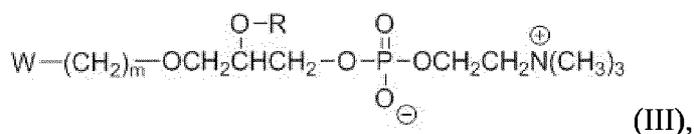
A es al menos un compuesto de fórmula (I),



al menos un compuesto de fórmula (II),



al menos un compuesto de fórmula (III),



5

o una combinación de los mismos,

en donde W se selecciona del grupo que consiste en un arilo, un alquilo C₁-C₆, un alquenilo, un cicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente y un heterocicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente, en donde R es H o un alquilo y en donde m es un número entero de 12 a 24;

10 B es un compuesto ligador, preferiblemente un enlace o un compuesto de fórmula (IV), Y-(CH₂)_n-Z (IV), en donde:

Y está unido a A;

Z está unido a D;

Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace, O, NH, C=O, NHSO₂O, y OC(=O)O;

Z se selecciona del grupo que consiste en O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO₂, OC(=O)OCH₂, y -S-S-; y

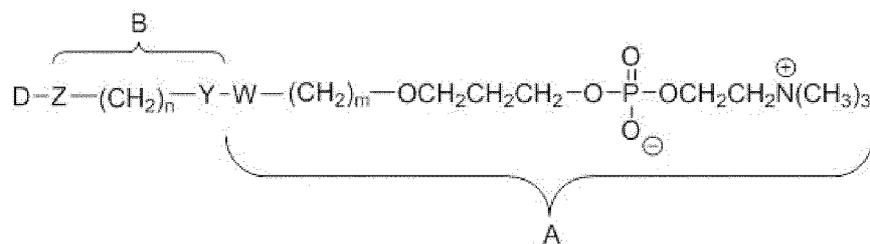
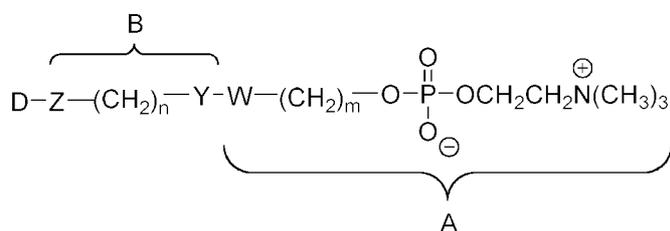
15

n es un número entero de 0 a 6; y

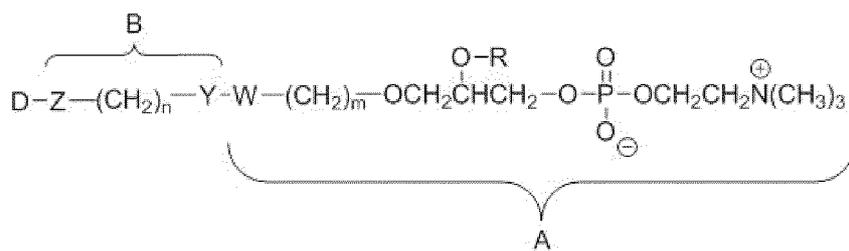
D es un fármaco de quimioterapia,

en donde la proporción de A respecto de D es de 1:2 a 2:1.

En otra realización, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D seleccionado del grupo que consiste en



20



, y una combinación de los mismos,

en donde:

W se selecciona del grupo que consiste en un arilo, un alquilo C₁-C₆, un alquenilo, un cicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente y un heterocicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente;

5 R es H o un alquilo;

m es un número entero de 12 a 24;

Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace, O, NH, C=O, NHSO₂O, y OC(=O)O;

Z se selecciona del grupo que consiste en O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO₂, OC(=O)OCH₂, y -S-S-;

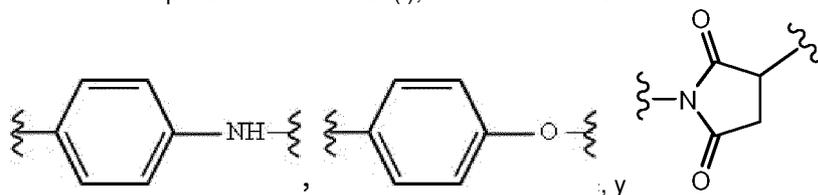
n es un número entero de 0 a 6; y

10 D es un fármaco de quimioterapia,

en donde B es opcionalmente un enlace entre A y D.

En una realización preferida, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D, en donde:

A es un compuesto de fórmula (I), en donde W se selecciona del grupo que consiste en un alquilo C₁,

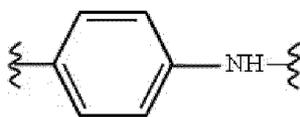


y en donde m es 18;

15 B es un compuesto ligador seleccionado de un enlace y un compuesto de fórmula (IV), Y-(CH₂)_n-Z (IV), en donde n es un número entero de 0 a 6, Y está unido a A, Z está unido a D, Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace y C=O y Z se selecciona del grupo que consiste en NH, C=O, C(=O)NH y C(=O)O; y

D se selecciona del grupo que consiste en paclitaxel, irinotecano, topotecano, gemcitabina, cisplatino, geldanamicina y mertansina.

20 En una realización más preferida, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D, en donde:



A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es

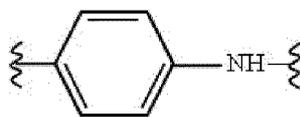
y m es 18;

B es un compuesto de fórmula (IV), en donde Y es C=O y Z es C=O, C(=O)NH o C(=O)O y n es 3 o 4; y

D es paclitaxel,

25 en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

En otra realización más preferida, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D, en donde:



A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es

y m es 18;

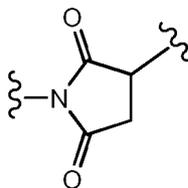
B es un enlace o un compuesto de fórmula (IV), en donde Y es C=O, Z es NH y n es 1 o 3; y

D es geldanamicina,

en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

En otra realización más preferida, la presente invención se dirige a un compuesto terapéutico de fórmula A-B-D, en donde:

5



A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es y m es 18;

B es un enlace; y

D es mertansina,

en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

10 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la presente invención en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto terapéutico de la presente invención para el uso en un método de tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto terapéutico a un sujeto con cáncer.

15 En una realización, la presente invención proporciona un compuesto terapéutico de la presente invención para el uso en un método de tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto terapéutico a un sujeto con cáncer, en donde el cáncer comprende células madre cancerosas.

En otra realización, la presente invención proporciona un compuesto terapéutico de la presente invención para el uso en un método de tratamiento del cáncer que comprende administrar una cantidad eficaz del compuesto terapéutico a un sujeto con cáncer, en donde el cáncer es recurrente.

20

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Los análogos de éter fosfolipídico ("EFL") se captan por medio de las balsas lipídicas.

Figura 2. Absorción preferente de CLR1501 en las células cancerosas. Compárese la absorción de CLR1501 en las líneas de células cancerosas de (A) y (C)-(F) con las células normales de (B). (A) Renal (Caki-2). (B) Fibroblasto cutáneo humano normal. (C) Ovárico (OVcar-3). (D) Pancreático (Panc-1). (E) Melanoma (A-375). (F) Próstata (PC-3).

25

Figura 3. Retención prolongada de ¹³¹I-CLR1404 de un xenoinjerto de tumor humano RL-251 en ratón SCID.

Figura 4. Detección de glioma C6 en cerebro de rata mediante el uso de ¹²⁵I-NM404. (A) Bioescáner de cerebro de rata de control simulado. (B) Imagen de bioescáner del cerebro de rata de (A) superpuesto sobre una fotografía digital que muestra los niveles de fondo de ¹²⁵I-NM404 en el tejido cerebral normal. (A') Fotografía digital de un cerebro de rata que alberga un glioma C6 de 4 días tras la inyección de ¹²⁵I-NM404. (B') Imagen de bioescáner del cerebro de rata de (A'). (C') Imágenes coincidentes por posición y tamaño de (A') y (B') superpuestas para mostrar la localización intensa de NM404 en el tumor. (D') Muestra teñida con H&E que confirma la presencia del tumor.

30

Figura 5. Absorción de ¹²⁴I-CLR1404 en una amplia diversidad de tumores malignos. (A)-(I) son modelos de roedor con xenoinjertos de cáncer humano. (J)-(M) son modelos de cáncer de roedor. (A) glioma U87 ortotópico (rata). (B) HCT-116 de colon. (C) HT-29 de colon. La flecha indica la ubicación del tumor. (D) MDA-MB-231 de mama. La flecha indica la ubicación del tumor. (E) PC-3 de próstata. (F) PC-3 metastásico. (G) Xenoinjerto tibial de PC-3. (H) BxPC3 pancreático. La flecha inferior indica la ubicación del tumor. La flecha superior indica la metástasis hepática. (I) sarcoma de Ewing. La flecha indica la ubicación del tumor. (J) SV40 de vejiga de ratón. (K) 4T1 de mama de ratón. (L) c-myc pancreático de ratón. (M) CNS-1 de cerebro de rata.

35

Figura 6. Detección de tumores de pulmón no microcíticos ("NSCLC") en un paciente humano mediante el uso de ¹³¹I-CLR1404. (A) muestra imágenes de cámara gamma del Paciente 1 a los 4 y 11 días tras la inyección de ¹³¹I-CLR1404. Obsérvese la retención intensa y prolongada de CLR1404 en los tumores NSCLC (flechas). (B y C) muestran la ubicación y el tamaño de la lesión de 3 cm focal en el pulmón izquierdo (A) y la gran masa infiltrante en el pulmón derecho (B) (flechas). (D y E) muestran imágenes planares de medicina nuclear de cuerpo completo del Paciente 2 1,

45

2 y 4 días tras la administración IV de ^{131}I -CLR1404. (F y G) muestran barridos de TC axiales (F) y frontales (G) que indican la ubicación de un gran tumor NSCLC de 6 cm (flechas).

5 Figura 7. Detección de 3 metástasis tumorales cerebrales previamente desconocidas en un paciente de NSCLC mediante el uso de ^{124}I -CLR1404. Las flechas indican la ubicación de los tumores tal como se toman las imágenes mediante el uso de TEP/TC tras la absorción de ^{124}I -CLR1404 en las células cancerosas.

10 Figura 8. Detección de la recidiva tumoral de una metástasis en la hoz cerebral frontal derecha mediante el uso de ^{124}I -CLR1404. (A) IRM del cerebro tras radiocirugía. La flecha indica la lesión, que se interpretó como necrosis por radiación. (B) La imagen de TEP mediante el uso de ^{124}I -CLR1404 muestra la absorción de ^{124}I -CLR1404 en la lesión. (C) La IRM del cerebro 8 meses tras radiocirugía estereotáctica muestra el incremento del tamaño de la lesión, lo que indica una posible recidiva.

Figura 9. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para MDA-MB-468. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 10. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para NCI-H1299. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 11. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para NCI-H460. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 12. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para Capan-2. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

15 Figura 13. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para MiaPaCa-1. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 14. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para HT29. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 15. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para HCT116. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Figura 16. Cl_{50} de conjugados EFL-Paclitaxel para PC-3. (A) paclitaxel libre, (B) CLR1601 y (C) CLR1603.

Descripción detallada de la invención

20 Definiciones

Tal como se usa en la presente memoria, el término "tratar" incluye el tratamiento preventivo, así como el tratamiento remitente de un trastorno que incluye reducir e inhibir la progresión o recidiva de un cáncer. Tal como se usan en la presente memoria, los términos "reducir" e "inhibir" tienen su significado habitualmente entendido de rebajar o disminuir. Tal como se usa en la presente memoria, el término "progresión" significa incrementar en alcance o gravedad, avanzar, crecer o empeorar. Tal como se usan en la presente memoria, los términos "recidiva" y "recidivante" se refieren a la reparación de una enfermedad tras una remisión.

30 Tal como se usa en la presente memoria, el término "administrar" se refiere a poner en contacto un paciente, tejido, órgano o células con un compuesto antineoplásico de la presente invención. Tal como se usa en la presente memoria, la administración se puede llevar a cabo *in vitro* (es decir, en un tubo de ensayo) o *in vivo* (es decir, en las células o los tejidos de organismos vivos, por ejemplo, seres humanos). En ciertas realizaciones, la presente invención abarca administrar los compuestos útiles en la presente invención a un paciente o sujeto. Un "paciente" o "sujeto", usados de manera equivalente en la presente memoria, se refieren a un mamífero, preferiblemente un ser humano, que: (1) tiene un trastorno remediable o tratable mediante la administración de la sustancia de quimioterapia mediante el uso de un compuesto de EFL o (2) es susceptible a un trastorno que es prevenible administrando el compuesto antineoplásico de la presente invención.

40 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad suficiente para conseguir un efecto biológico deseado, tal como un resultado beneficioso, que incluye, sin limitación, la prevención, disminución, mejora o eliminación de signos o síntomas de una enfermedad o trastorno. Por tanto, la cantidad total de cada componente activo de la composición farmacéutica o método es suficiente para mostrar un beneficio significativo en el sujeto. Por tanto, una "cantidad eficaz" dependerá del contexto en el que se va a administrar. Una cantidad eficaz se puede administrar en una o más administraciones profilácticas o terapéuticas.

Tal como se usa en la presente memoria la expresión "compuesto terapéutico" se refiere a cualquier compuesto químico capaz de proporcionar un tratamiento para el cáncer.

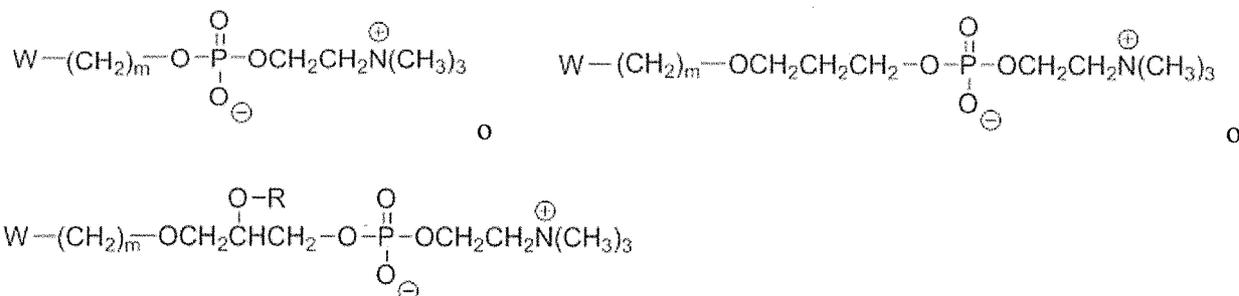
45 Tal como se usa en la presente memoria, el término "cáncer" se refiere a cualquier enfermedad que resulta de la división incontrolada de células capaces de metastatizar.

Las expresiones "fármaco de quimioterapia", "fármaco antineoplásico" y "fármaco antitumoral" se usan de manera intercambiable a lo largo de la memoria descriptiva.

50 Las expresiones "célula tumoral maligna" y "célula cancerosa" se usan de manera intercambiable a lo largo de la memoria descriptiva. Las expresiones "célula madre tumoral maligna" y "célula madre cancerosa" se usan de manera intercambiable a lo largo de la memoria descriptiva.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "composición" pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directamente o indirectamente, de una combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "A" se refiere a un éter fosfolipídico de fórmula



5

Tal como se usa en la presente memoria, el término "W" se refiere a un arilo, un alquilo C₁-C₆, un alquenilo, un cicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente y un heterocicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático que incluye un grupo fenilo.

10 Tal como se usa en la presente memoria, el término "alquilo" se refiere a un alquilo de cadena lineal o ramificada que consiste en un grupo hidrocarburo saturado de 1 a 24 átomos de carbono (C₁-C₂₄), a menos que se indique de otra manera. El grupo alquilo puede ser cíclico o acíclico.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "alquenilo" se refiere a un enlace doble carbono-carbono.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "cicloalquilo" se refiere a un grupo alquilo cíclico de 3 a 24 átomos de carbono (C₃-C₂₄).

15 Tal como se usa en la presente memoria, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un grupo cíclico de 3 a 24 átomos (C₃-C₂₄) seleccionados de carbono, nitrógeno, azufre, fosfato y oxígeno, en donde al menos un átomo es carbono.

20 En general, el término "sustituido", si va seguido o no por el término "opcionalmente", significa que uno o más hidrógenos del resto designado están sustituidos con un sustituyente adecuado. A menos que se indique de otra manera, un grupo "sustituido opcionalmente" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando se puede sustituir más de una posición en cualquier estructura concreta con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por esta invención son preferiblemente las que dan como resultado la formación de compuestos estables o químicamente viables.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "R" se refiere a un hidrógeno (H) o un alquilo.

25 Tal como se usa en la presente memoria, el término "m" se refiere a un número entero de 12 a 24.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "n" se refiere a un número entero de 0 a 6.

30 Tal como se usa en la presente memoria, el término "B" se refiere a un compuesto ligador. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "compuesto ligador" se refiere a cualquier compuesto o compuestos químicos capaces de formar un enlace químico con dos o más compuestos químicos diferentes, de forma que todos los compuestos forman un único compuesto más grande. En una realización, el compuesto ligador es un enlace. Se pueden usar múltiples compuestos ligadores en la formación del compuesto más grande. En realizaciones específicas, el término compuesto ligador es un enlace o un compuesto de fórmula Y-(CH₂)_n-Z.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "Y" se refiere a un enlace, O, NH, C=O, NHSO₂O, u OC(=O)O.

35 Tal como se usa en la presente memoria, el término "Z" se refiere a O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO₂, OC(=O)OCH₂, y -S-S-.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "D" se refiere a cualquier fármaco de quimioterapia conocido en la actualidad o en desarrollo.

40 Como se define en la presente memoria, el término "isómero" incluye, pero sin limitación, los isómeros ópticos y análogos, los isómeros estructurales y análogos, los isómeros conformacionales y análogos, y similares. En una realización, esta invención abarca el uso de diferentes isómeros ópticos de la presente invención. Los expertos en la técnica apreciarán que los compuestos antineoplásicos útiles en la presente invención pueden contener al menos un centro estereogénico. Por lo tanto, los compuestos para el uso en los métodos de la presente invención pueden existir,

y aislarse, en formas ópticamente activas o racémicas. Algunos compuestos también pueden exhibir polimorfismo.

Se debe entender que la presente invención puede abarcar el uso de cualquier forma racémica, ópticamente activa, polimórfica, o estereoisomérica, o mezclas de las mismas, la que posea propiedades útiles en el tratamiento de las afecciones relacionadas con el cáncer descritas y reivindicadas en la presente memoria. En una realización, los compuestos antineoplásicos pueden incluir los isómeros (R) puros. En otra realización, los compuestos antitumorales pueden incluir los isómeros (S) puros. En otra realización, los compuestos pueden incluir una mezcla de los isómeros (R) y (S). En otra realización, los compuestos pueden incluir una mezcla racémica que comprende ambos isómeros (R) y (S). Se conoce bien en la técnica cómo preparar las formas ópticamente activas (por ejemplo, mediante resolución de la forma racémica mediante técnicas de recristalización, mediante síntesis a partir de materiales de partida ópticamente activos, mediante síntesis quirral, o mediante separación cromatográfica con el uso de una fase estacionaria quirral).

La invención incluye el uso de las sales farmacéuticamente aceptables de compuestos amino-sustituidos con ácidos orgánicos e inorgánicos, por ejemplo, ácido cítrico y ácido clorhídrico. La invención también incluye los N-óxidos de los sustituyentes amino de los compuestos descritos en la presente memoria. Las sales farmacéuticamente aceptables también se pueden preparar a partir de los compuestos fenólicos mediante tratamiento con bases inorgánicas, por ejemplo, hidróxido sódico. Además, se pueden producir ésteres de los compuestos fenólicos con ácidos carboxílicos alifáticos y aromáticos, por ejemplo, ésteres de ácido acético y ácido benzoico. Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a un compuesto formulado a partir de un compuesto base que consigue sustancialmente el mismo efecto farmacéutico que el compuesto base.

Esta invención incluye además los derivados de los compuestos antineoplásicos. El término "derivados" incluye, pero sin limitación, los derivados de éter, derivados de ácido, derivados de amida, derivados de éster, y similares. Además, esta invención incluye adicionalmente compuestos para el uso en métodos que utilizan hidratos de los compuestos antitumorales. El término "hidrato" incluye, pero sin limitación, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato y similares.

Esta invención incluye además los metabolitos de los compuestos antineoplásicos. El término "metabolito" significa cualquier sustancia producida a partir de otra sustancia por el metabolismo o un proceso metabólico.

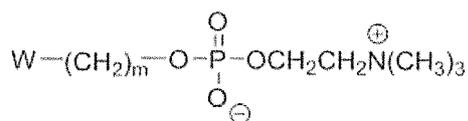
Los cánceres que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención incluyen, pero sin limitación: cáncer de mama, que incluye el cáncer de mama masculino; cánceres digestivos/gastrointestinales que incluyen cáncer anal, cáncer de apéndice, cáncer de las vías biliares extrahepáticas, tumor carcinoide gastrointestinal, cáncer de colon, cáncer esofágico, cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico, tumores estromales gastrointestinales ("GIST"), tumores de células de los islotes, cáncer hepático primario en adultos, cáncer hepático infantil, cáncer pancreático, cáncer rectal, cáncer de intestino delgado, y cáncer de estómago (gástrico); cánceres endocrinos y neuroendocrinos que incluyen adenocarcinoma pancreático, carcinoma adrenocortical, tumores neuroendocrinos pancreáticos, carcinoma de células de Merkel, tumor neuroendocrino de pulmón no microcítico, tumor neuroendocrino de pulmón microcítico, cáncer de paratiroides, feocromocitoma, tumor hipofisario y cáncer de tiroides; cánceres oculares que incluyen melanoma intraocular y retinoblastoma; cáncer genitourinario que incluye cáncer de vejiga, cáncer de riñón (células renales), cáncer de pene, cáncer de próstata, cáncer de células de transición de la pelvis renal y del uréter, cáncer testicular, cáncer uretral y tumor de Wilms; cánceres de células germinales que incluyen cáncer del sistema nervioso central infantil, tumor extracraneal infantil de células germinales, tumor extragonadal de células germinales, tumor ovárico de células germinales y cáncer testicular; cánceres ginecológicos que incluyen cáncer de cuello uterino, cáncer endometrial, tumor trofoblástico gestacional, cáncer epitelial ovárico, tumor ovárico de células germinales, sarcoma uterino, cáncer vaginal y cáncer vulvar; cánceres de cabeza y cuello que incluyen cáncer hipofaríngeo, cáncer laríngeo, cáncer de labio y de la cavidad oral, cáncer de cuello escamoso metastásico con tumor primario oculto, cáncer de boca, cáncer nasofaríngeo, cáncer orofaríngeo, cáncer de seno paranasal y cavidad nasal, cáncer de paratiroides, cáncer faríngeo, cáncer de glándula salival y cáncer de garganta; leucemias que incluyen leucemia linfoblástica aguda del adulto, leucemia linfoblástica aguda infantil, leucemia mieloide aguda del adulto, leucemia mieloide aguda infantil, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica y tricoleucemia; linfomas que incluyen el linfoma relacionado con el SIDA, linfoma cutáneo de células T, linfoma de Hodgkin del adulto, linfoma de Hodgkin infantil, linfoma de Hodgkin durante el embarazo, micosis fungoide, linfoma no Hodgkin del adulto, linfoma no Hodgkin infantil, linfoma no Hodgkin durante el embarazo, linfoma del sistema nervioso central primario, síndrome de Sezary y macroglobulinemia de Waldenström; cánceres musculoesqueléticos que incluyen sarcoma de Ewing, osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno óseo, rhabdomyosarcoma infantil y sarcoma de tejidos blandos; cánceres neurológicos que incluyen un tumor cerebral del adulto, tumor cerebral infantil, astrocitomas, glioma del tronco encefálico, tumor teratoide/rabdoide atípico del sistema nervioso central, tumores embrionarios del sistema nervioso central, craneofaringioma, ependimoma, neuroblastoma, linfoma del sistema nervioso central (SNC) primario; cánceres respiratorios/torácicos que incluyen el cáncer de pulmón no microcítico, cáncer de pulmón microcítico, mesotelioma maligno, timoma y carcinoma tímico; y cánceres de piel que incluyen el sarcoma de Kaposi, melanoma y carcinoma de células escamosas.

Se ha demostrado que las células madre cancerosas captan los compuestos de fórmula (I) de la presente invención. Véase Weichert J.P., et al. (2014) en 2, Figura 2 (que demuestra que CLR-1501, un análogo fluorescente de CLR1404, tiene una absorción incrementada en células madre de glioblastoma humano y células de glioblastoma humano cultivadas con suero en comparación con los astrocitos humanos normales y las células madre neuronales

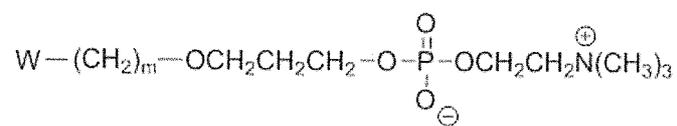
humanas fetales). Las células madre cancerosas están asociadas con la mayoría, si no todos, los tipos principales de cáncer. La hipoxia tumoral estimula la propagación de las células madre cancerosas, que conduce a una resistencia y un potencial metastásico incrementados. Como tales, las células madre cancerosas están asociadas a la resistencia a la quimioterapia, el crecimiento tumoral, y la metástasis tras la quimioterapia y la radioterapia. Por tanto, los compuestos de la presente invención tienen la capacidad de tratar diversas formas de cáncer que han demostrado ser resistentes a los regímenes de terapias tradicionales.

Compuestos de la invención

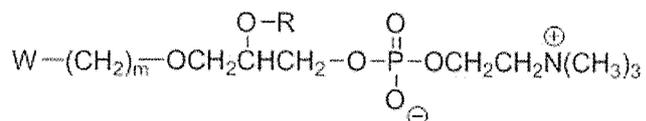
Los vehículos de administración de fármacos que son útiles para la presente invención incluyen, pero sin limitación, los compuestos de fórmula (I),



(I), o fórmula (II),



(II), o fórmula (III)



(III), o una combinación de los mismos, en donde W se

selecciona del grupo que consiste en un arilo, un alquilo C₁-C₆, un alquenoilo, un cicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente y un heterocicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente, en donde R es H o un alquilo y en donde m es un número entero de 12 a 24.

La base para la selección como objetivo de un tumor de los compuestos de la presente invención se halla en las diferencias entre las membranas plasmáticas de las células cancerosas en comparación con las de la mayoría de las células normales. De manera específica, las membranas de las células cancerosas están muy enriquecidas en "balsas lipídicas". Las células cancerosas tienen de cinco a diez veces más balsas lipídicas que las células sanas. Las balsas lipídicas son regiones especializadas de la bicapa fosfolipídica de la membrana que contienen concentraciones elevadas de colesterol y esfingolípidos, y sirven para organizar la superficie celular y las moléculas de señalización intracelular (p.ej., receptores de factores de crecimiento y citocinas, la ruta de supervivencia de fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/Akt). Los datos sugieren que las balsas lipídicas sirven como portales de entrada para los EFLs. La selectividad notable de estos compuestos hacia las células cancerosas frente a las células no cancerosas se atribuye a la afinidad elevada de los EFLs hacia el colesterol y la abundancia de balsas lipídicas ricas en colesterol en las células cancerosas. El papel fundamental desempeñado por las balsas lipídicas se recalca por el hecho de que la alteración de la arquitectura de las balsas lipídicas inhibe la absorción de EFLs en las células cancerosas. Se ha mostrado que la absorción de EFLs se reduce en un 60% cuando se bloquea la formación de las balsas lipídicas. (Véase el Ejemplo 2 y la Fig. 1).

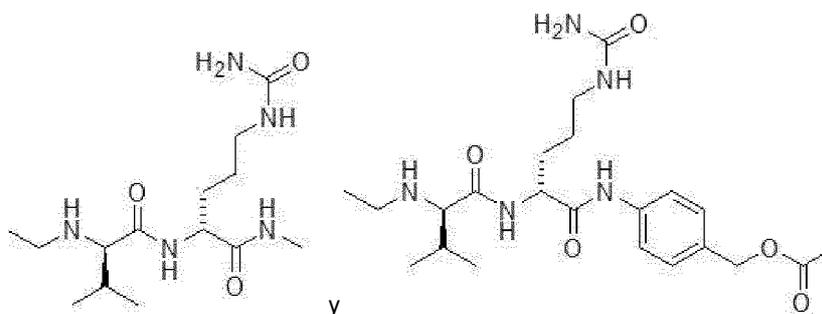
Los resultados preliminares obtenidos en más de 55 modelos de tumores por xenoinjerto y espontáneos han mostrado de manera generalizada que CLR1404 experimenta una absorción selectiva y una retención prolongada en tumores. Debido a que el agente se metaboliza hasta cierto punto en el hígado, los inventores evitaron la evaluación temprana del compuesto en modelos de tumores hepáticos debido a los elevados niveles de radiactividad de fondo en el hígado.

CLR1404 es un EFL. Los resultados obtenidos en una diversidad de modelos de tumores indican que CLR1404 se capta selectivamente y se retiene en las células cancerosas y las células madre cancerosas. De hecho, se ha mostrado que CLR1404 permanece en las células cancerosas durante hasta 20 días. Véase la Fig. 3. CLR1404 se localiza en las lesiones tanto primarias como metastásicas independientemente de la ubicación anatómica, que incluyen las halladas en los nódulos linfáticos. Véanse los Ejemplos 3-8. La elevada avidéz del tumor respecto del fondo y la selectividad tumoral de CLR1404 sugiere que la molécula central es adecuada para el uso como vehículo de administración de fármacos antineoplásicos.

Los compuestos ligadores que son útiles para la presente invención incluyen cualquier ligador químico capaz de unir un vehículo de administración de fármacos de la presente invención a un fármaco antineoplásico de la presente invención. Los compuestos ligadores que son útiles para la presente invención incluyen ligadores tanto escindibles como no escindibles. En una realización, los compuestos ligadores que son útiles para la presente invención incluyen, pero sin limitación, aminobutiramida, aminoácidos, ácidos glutarámicos, ácidos dicarboxílicos, ácidos carbámicos, un carbonilo, ácido 9,10-antracenedicarboxílico, ácido bifenil-3,3',5,5'-tetracarboxílico, ácido bifenil-3,4',5-tricarboxílico, ácido 5-bromoisoftálico, ácido 5-ciano-1,3-bencenedicarboxílico, ácido 2,2'-diamino-4,4'-estilbenedicarboxílico, ácido

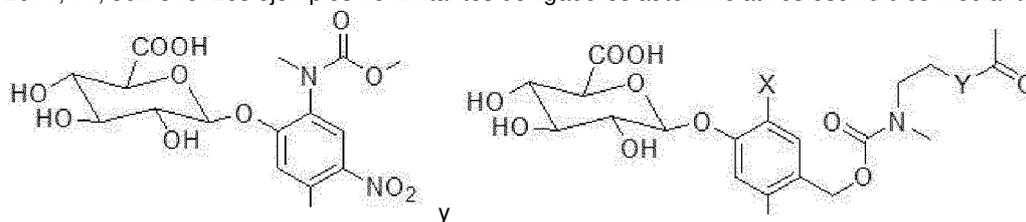
2,5-diaminotereftálico, ácido 2,5-dihidroxitereftálico, ácido 5-etinil-1,3-bencenodicarboxílico, ácido 2-hidroxitereftálico, imidazol, 2-metilimidazol, ácido 2,6-naftalenodicarboxílico, ácido oxálico deshidratado, ácido tereftálico, ácido [1,1':4',1'']terfenil-3,3'',5,5''-tetracarboxílico, 3,3',5,5'-tetracarboxidifenilmetano, 1,2,4,5-tetrakis(4-carboxifenil)benceno, ácido 4,4',4''-s-triazin-2,4,6-triil-tribenzoico, ácido trimésico, 1,3,5-tris(4'-carboxi[1,1'-bifenil]-4-il)benceno, 1,3,5-tris(4-carboxifenil)benceno, y 1,3,5-triscarboxifeniletinilbenceno.

En otra realización, los compuestos ligadores útiles para la presente invención también incluyen, pero sin limitación, ligadores sensibles a proteasas lisosómicas con o sin un fragmento autoinmolutivo basado en anilina. Los ejemplos no limitantes de ligadores sensibles a proteasas lisosómicas son



que contienen el ligador dipeptídico de valina-citrulina diseñado para mostrar un equilibrio óptimo entre la estabilidad en plasma y la escisión mediante proteasas intracelulares. Véase, Tranoy-Opalinski I., Design of self-immolative linkers for tumour-activated prodrug therapy, *Anticancer Agents Med Chem*, agosto de 2008, 8(6):618-637.

En otra realización, los compuestos ligadores útiles para la presente invención también incluyen, pero sin limitación, ligadores autoinmolutivos que se escinden mediante la β -glucuronidasa. La β -glucuronidasa está presente a una concentración elevada en el área necrótica que rodea a las células cancerosas. Véase, Tranoy-Opalinski I., β -glucuronidase-responsive prodrugs for selective cancer chemotherapy: An update, *Eur J Med Chem*, 3 de mar. de 2014, 74, 302-313. Los ejemplos no limitantes de ligadores autoinmolutivos escindibles mediante β -glucuronidasa son



o NO_2 y en donde Y es O o NCH_3 .

en donde X es NH_2

Los compuestos ligadores preferidos de la presente invención son un enlace o un compuesto de fórmula (IV), $\text{Y}-(\text{CH}_2)_n\text{-Z}$ (IV), en donde:

Y está unido a A;

Z está unido a D;

Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace, O, NH, C=O, NHSO_2O , y OC(=O)O ; y

Z se selecciona del grupo que consiste en O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO_2 , OC(=O)OCH_2 , y -S-S-; y

n es un número entero de 0 a 6.

Los compuestos ligadores más preferidos de la presente invención son un enlace o un compuesto de fórmula (IV), en donde n es un número entero de 0 a 6, Y está unido a A, Z está unido a D, Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace y C=O y Z se selecciona del grupo que consiste en NH, C=O, C(=O)NH y C(=O)O.

Los fármacos de quimioterapia que son útiles para la presente invención incluyen, pero sin limitación, paclitaxel, irinotecano, topotecano, gemcitabina, cisplatino, geldanamicina, mertansina, abiraterona, afatinib, ácido aminolevulínico, aprepitant, axitinib, azacitidina, belinostat, bendamustina, bexaroteno, bleomicina, bortezomib, bosutinib, busulfano, cabazitaxel, cabozantinib, capecitabina, carboplatino, carfilzomib, carmustina, ceritinib, cetuximab, clorambucilo, clofarabina, crizotinib, ciclofosfamida, citarabina, dabrafenib, dacarbazina, dactinomina, dasatinib, daunorrubicina, decitabina, denosumab, dexrazoxano, docetaxel, dolastatinas (p.ej. monometil auristatina E), doxorubicina, enzalutamida, epirubicina, mesilato de eribulina, erlotinib, etopósido, everolimus, floxuridina, fosfato de fludarabina, fluorouracilo, ganetespib, gefitinib, gemtuzumab ozogamicina, hexametilmelamina, hidroxurea, ibritumomab tiuxetan, ibrutinib, idelalisib, ifosfamida, imatinib, ipilimumab, ixabepilona, lapatinib, leucovorina cálcica, lomustina, maitansinoides, mecloretamina, melfalano, mercaptopurina, mesna, metotrexato, mitomicina C, mitotano,

mitoxantrona, nelarabina, nelfinavir, nilotinib, obinutuzumab, ofatumumab, mepesuccinato de omacetaxina, oxaliplatino, panitumumab, pazopanib, pegaspargasa, pembrolizumab, pemetrexed, pentostatina, pertuzumab, plicanicina, pomalidomida, hidrocloreuro de ponatinib, pralatrexato, procarbazona, ramucirumab, regorafenib, retaspimicina, ruxolitinib, semustina, siltuximab, sorafenib, estreptozocina, malato de sunitinib, tanespimicina, temozolomida, temsirolimus, tenipósido, talidomida, tioguanina, tiotepa, toremifeno, trametinib, trastuzumab, vandetanib, vemurafenib, vinblastina, vincristina, vinorelbina, vismodegib, vorinostat, y ziv-aflibercept. Cualquier compuesto que se conozca en la actualidad o que sea capaz de actuar como fármaco de quimioterapia también es útil para la presente invención.

Los vehículos de administración de fármacos de EFL de la presente invención se pueden unir de manera singular o múltiple a un fármaco de quimioterapia en cualquier número de posibles sitios de unión estables por medio de un compuesto ligador o directamente.

Composiciones de la invención

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la presente invención en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. En un aspecto preferido, la composición farmacéutica está exenta de Kolliphor® EL (Kolliphor es una marca comercial registrada de BASF SE). Kolliphor® EL se conocía anteriormente como Cremophor® EL (Cremophor es una marca comercial registrada de BASF SE).

Los niveles de dosis reales de los ingredientes activos en las composiciones terapéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad de el/los compuesto(s) activo(s) que sea eficaz para alcanzar la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composiciones y modo de administración particulares. El nivel de dosis seleccionado dependerá de la actividad del compuesto particular, la vía de administración, la gravedad de la afección a tratar, y la afección e historia médica anterior del paciente a tratar. Sin embargo, la experiencia en la técnica permite comenzar con dosis del compuesto a niveles inferiores a los necesarios para conseguir el efecto terapéutico deseado, e incrementar gradualmente la dosis hasta alcanzar el efecto deseado.

La frase "cantidad terapéuticamente eficaz" del compuesto de la invención significa una cantidad suficiente del compuesto para tratar trastornos, a una proporción beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento médico. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención lo decidirá el médico que aplica el tratamiento de acuerdo con el buen juicio médico. El nivel de dosis específico terapéuticamente eficaz para cualquier paciente particular dependerá de una diversidad de factores, que incluyen el trastorno a tratar y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración, y la velocidad de excreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos usados en combinación o de manera coincidente con el compuesto específico empleado; y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. Por ejemplo, la experiencia en la técnica permite comenzar con dosis del compuesto a niveles inferiores a los necesarios para conseguir el efecto terapéutico deseado, e incrementar gradualmente la dosis hasta alcanzar el efecto deseado.

La dosis diaria total de los compuestos de esta invención administrada a un ser humano o animal inferior puede oscilar de alrededor de 0,0001 a alrededor de 1000 mg/kg/día. A efectos de la administración oral, las dosis más preferibles pueden estar en el intervalo de alrededor de 0,001 a alrededor de 5 mg/kg/día. Si se desea, la dosis diaria eficaz se puede dividir en múltiples dosis a efectos de la administración; en consecuencia, las composiciones de dosis única pueden contener dichas cantidades o submúltiplos de las mismas para completar la dosis diaria.

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la presente invención formulados junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas se pueden formular en especial para la administración oral en forma sólida o líquida, para la administración parenteral o para la administración rectal.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar a seres humanos y otros mamíferos de manera oral, rectal, parenteral, intracisternal, intravaginal, transdérmica (p.ej. mediante el uso de un parche), transmucosa, sublingual, pulmonar, intraperitoneal, tópica (como con polvos, pomadas o gotas), bucal o en forma de un spray oral o nasal. Las expresiones "parenteral" o "de manera parenteral", tal como se usan en la presente memoria, se refieren a modos de administración que incluyen la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea e intraarticular.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un componente de la presente invención y un diluyente fisiológicamente tolerable. La presente invención incluye uno o más compuestos como se describieron anteriormente formulados en composiciones junto con uno o más diluyentes, adyuvantes o vehículos fisiológicamente tolerables o aceptables que en la presente memoria se denominan en conjunto diluyentes, para la inyección parenteral, administración intranasal, administración oral en forma sólida o líquida, administración rectal o tópica, entre otras.

Las composiciones adecuadas para inyección parenteral pueden comprender disoluciones, dispersiones,

- 5 suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles fisiológicamente aceptables y polvos estériles para la reconstitución en disoluciones o dispersiones inyectables estériles. Los ejemplos de diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (propilen glicol, polietilen glicol, glicerol, y similares), aceites vegetales (tales como aceite de oliva), ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo, y mezclas adecuadas de los mismos.
- Estas composiciones pueden contener además adyuvantes tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes, y dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos se puede asegurar mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo carbohidratos, cloruro sódico y similares. Se puede provocar la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable mediante el uso de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.
- Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados, polioxietilen sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, o mezclas de estas sustancias, y similares.
- 15 Las formas inyectables de liberación lenta se hacen formando matrices de microencapsulación del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la proporción de fármaco respecto del polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de liberación lenta también se preparan atrapando el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.
- 20 Las formulaciones inyectables se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención bacteriana o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que se pueden disolver o dispersar en agua estéril u otro medio inyectable estéril justo antes del uso.
- Las formas farmacéuticas sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se puede mezclar con al menos un excipiente o vehículo inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato sódico o fosfato dicálcico y/o a) cargas o rellenos tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; b) aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga; c) humectantes tales como glicerol; d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato sódico; e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina; f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita y i) lubricantes tales como talco, estearato cálcico, estearato magnésico, polietilen glicoles sólidos, lauril sulfato sódico y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica puede comprender además agentes tamponadores.
- 30 También se pueden emplear composiciones sólidas de un tipo similar como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras mediante el uso de excipientes tales como lactosa o carbohidrato de la leche, así como polietilen glicoles de peso molecular elevado y similares.
- Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos se pueden preparar con revestimientos y cubiertas, tales como revestimientos entéricos y otros revestimientos muy conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y también pueden ser de una composición tal que liberen el/los ingrediente(s) activo(s) solamente, o preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones encapsuladas que se pueden usar incluyen sustancias poliméricas y ceras.
- 40 Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes anteriormente mencionados.
- Las formas farmacéuticas líquidas para administración oral incluyen emulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes habitualmente usados en la técnica tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilen glicol, 1,3-butilen glicol, dimetil formamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilen glicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y mezclas de los mismos.
- 50 Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, emulsionantes y agentes de suspensión, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes.
- 55 Las composiciones para administración rectal o vaginal son preferiblemente supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de esta invención con excipientes o vehículos no irritantes adecuados tales como manteca de cacao, polietilen glicol o una cera para supositorios que son sólidos a la temperatura ambiente pero líquidos a la

temperatura corporal, y por lo tanto se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar en forma de liposomas. Como se conoce en la técnica, los liposomas en general son derivados de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas están formados por cristales líquidos hidratados mono- o multilamelares que están dispersados en un medio acuoso. Se puede usar cualquier lípido fisiológicamente aceptable y metabolizable capaz de formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposomas pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizantes, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son fosfolípidos naturales y sintéticos y fosfatidil colinas (lecitinas) usados por separado o juntos. Los métodos para formar liposomas se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.Y. (1976), pág. 33 y sigs. Tales composiciones influirán en el estado físico, la solubilidad, la estabilidad, la velocidad de liberación *in vivo*, y la velocidad de aclaramiento *in vivo*.

En una descripción de la presente invención, se puede administrar una composición farmacéutica en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, el agente se puede administrar mediante el uso de infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas, u otros modos de administración. En una realización, se puede usar una bomba (véase Langer, anteriormente mencionado; Sefton, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:201 (1987); Buchwald et al., *Surgery* 88:507 (1980); Saudek et al., *N. Engl. J. Med.* 321:574 (1989). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos. En otra realización, se puede colocar un sistema de liberación controlada cerca del objetivo terapéutico, por ejemplo el hígado, por lo que solamente se requiere una fracción de la dosis sistémica (véase, p.ej., Goodson, en *Medical Applications of Controlled Release*, anteriormente mencionado, vol. 2, págs. 115-138 (1984). Se discuten otros sistemas de liberación controlada en la revisión de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990).

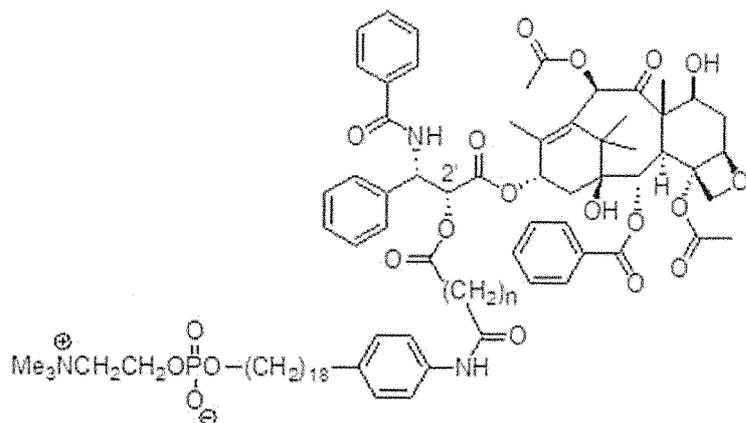
En otro aspecto, la invención se dirige a un compuesto de la presente invención para el uso en un método de tratamiento de una enfermedad o afección en un sujeto, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz del compuesto.

En general, la invención no se limita al tratamiento de ninguna enfermedad o afección específica, sino que abarca el tratamiento de cualquier enfermedad o afección cuyo mecanismo se pueda ver afectado por los compuestos de la presente invención.

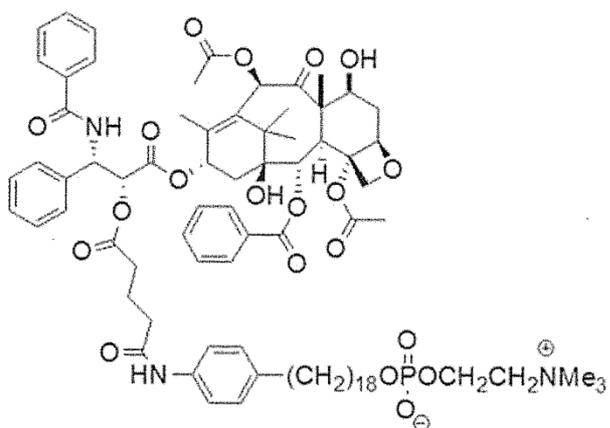
Realizaciones representativas

Conjugados paclitaxel-CLR1404

En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido a un compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace éster en el grupo 2'-OH,



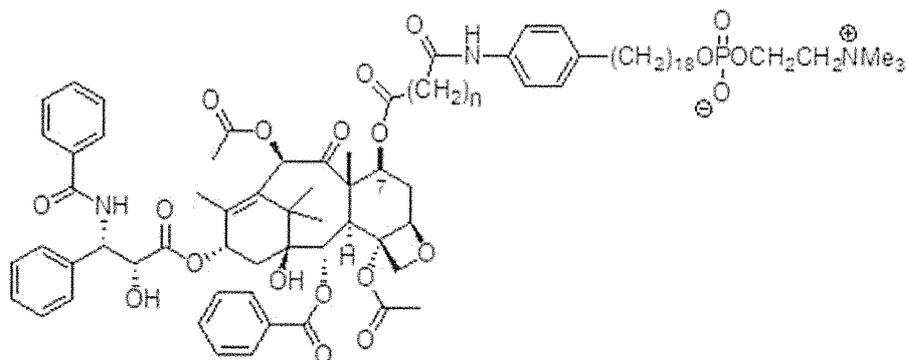
En una realización preferida de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido glutarámico, en donde el ligador de ácido glutarámico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un éster unido en el grupo 2'-OH,



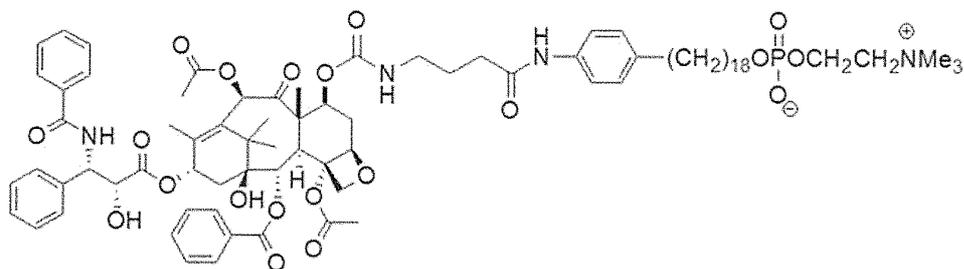
Conjugado de CLR1601.

5

En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace éster en el grupo 7-OH,



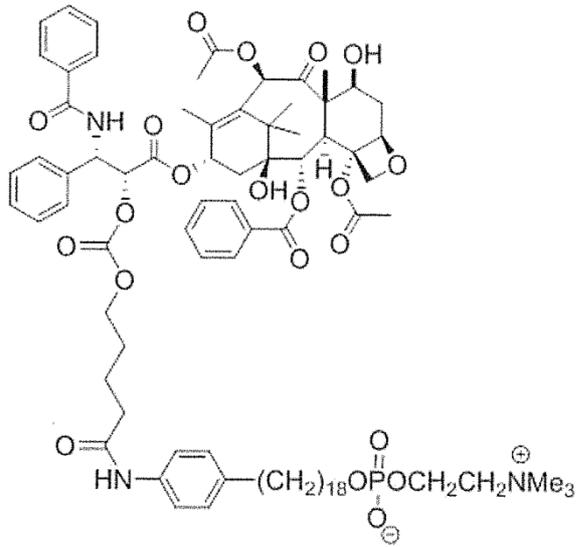
En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido carbámico, en donde el ligador de ácido carbámico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace éster en el grupo 7-OH,



10

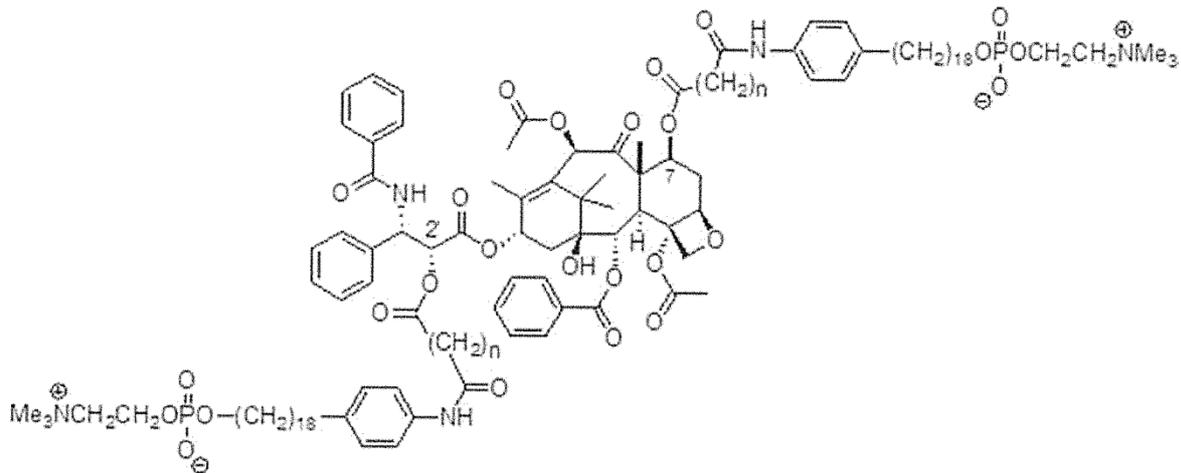
Conjugado de CLR1602.

En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido carbónico-carboxílico, en donde el ligador de ácido carbónico-carboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace éster en el grupo 7-OH,

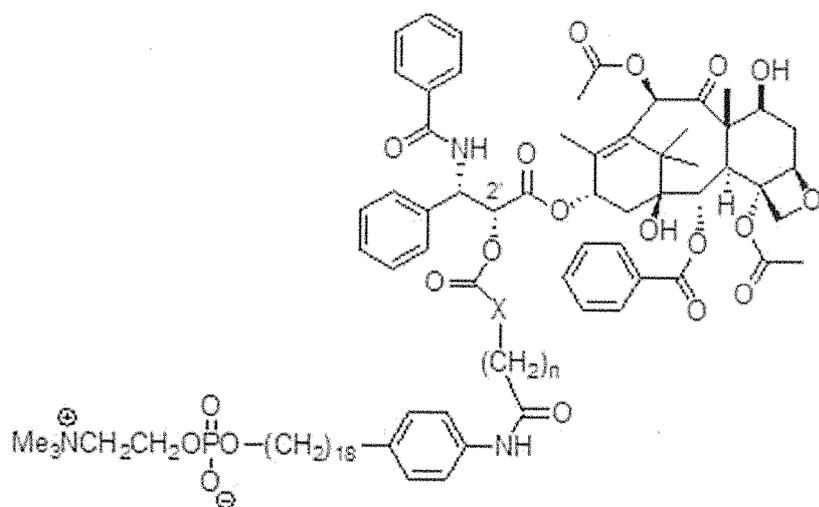


Conjugado de CLR1603.

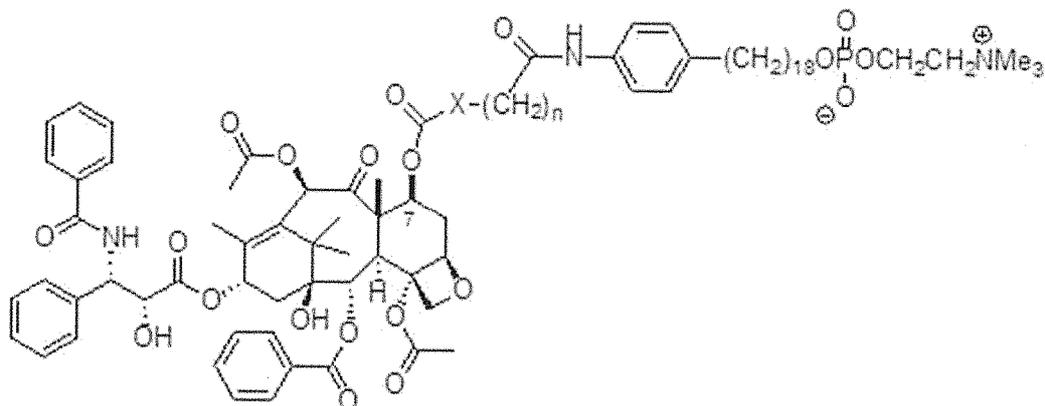
5 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido a dos compuestos centrales de CLR1404 mediante ligadores de ácido dicarboxílico, en donde los ligadores de ácido dicarboxílico están unidos a los compuestos centrales de CLR1404 por medio de enlaces amida y a paclitaxel por medio de enlaces éster en el grupo 2'-OH y el grupo 7-OH,



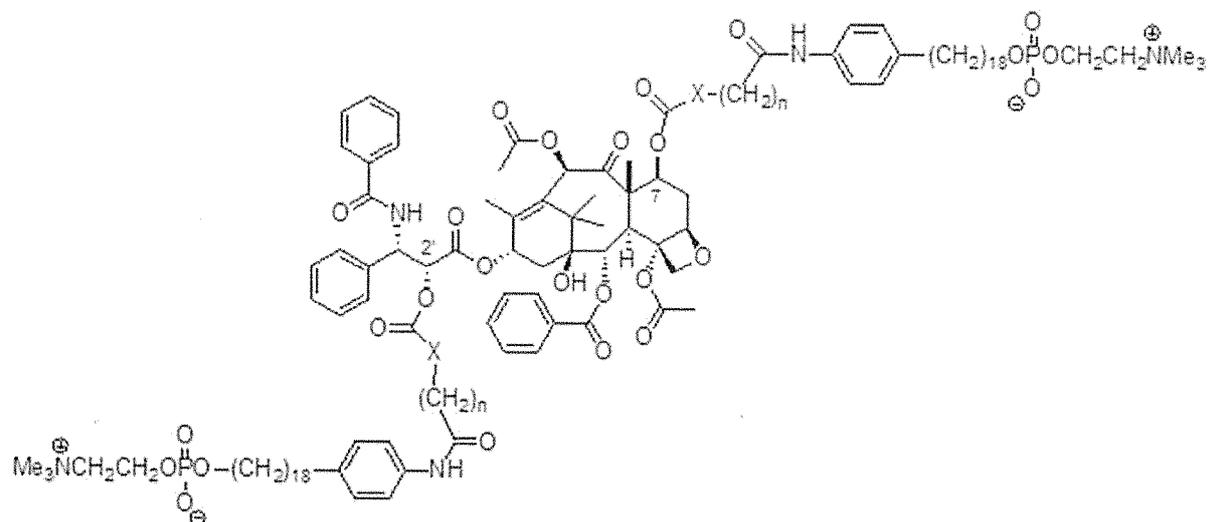
10 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace carbonato o carbamato en el grupo 2'-OH,



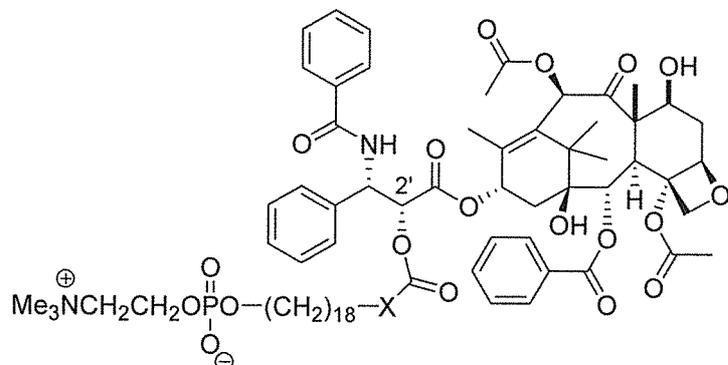
- 5 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido a un compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a paclitaxel por medio de un enlace carbonato o carbamato en el grupo 7-OH,



- 10 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido a dos compuestos centrales de CLR1404 mediante ligadores de ácido dicarboxílico, en donde los ligadores de ácido dicarboxílico están unidos a las dos moléculas centrales de CLR1404 por medio de enlaces amida y a paclitaxel por medio de un enlace carbonato o carbamato en el grupo 2'-OH y el grupo 7-OH,



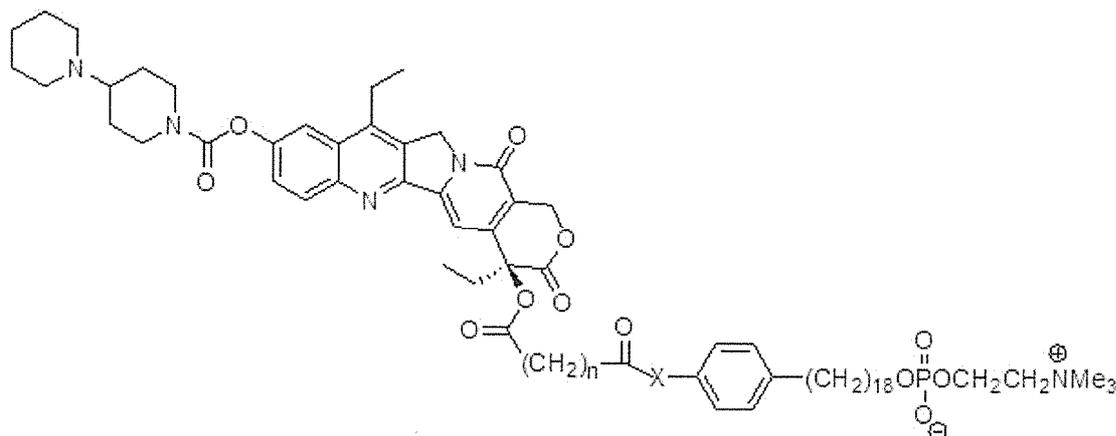
En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es paclitaxel unido a un compuesto de alquil C18 fosfocolina por medio de un ligador carboxílico, en donde el ligador carboxílico está unido al compuesto de alquil C18 fosfocolina por medio de un enlace amida o carbonato y a paclitaxel por medio de un enlace carbonato o carbamato en el grupo 2'-OH,



5

Conjugado irinotecano-CLR1404

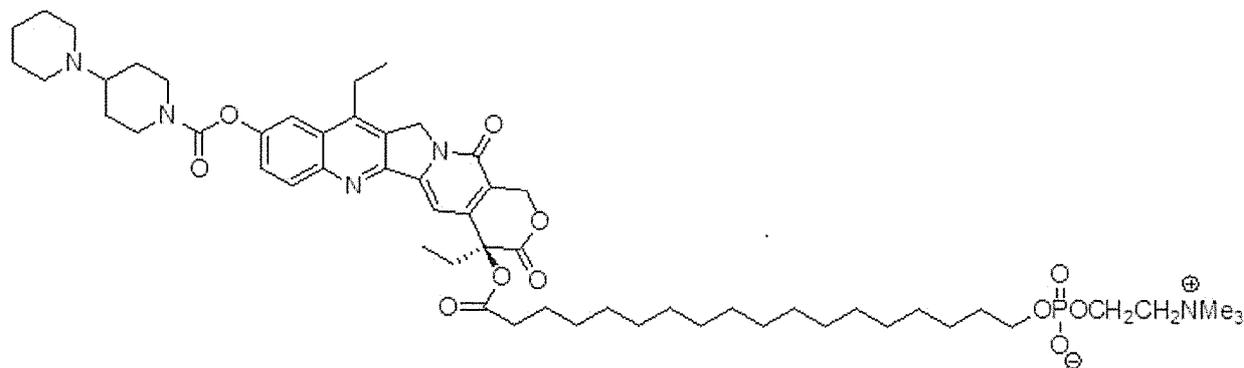
En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es irinotecano unido al compuesto CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace carbonato o carbamato y a irinotecano por medio de un enlace éster,



10

Conjugado irinotecano-alquil C18 fosfocolina

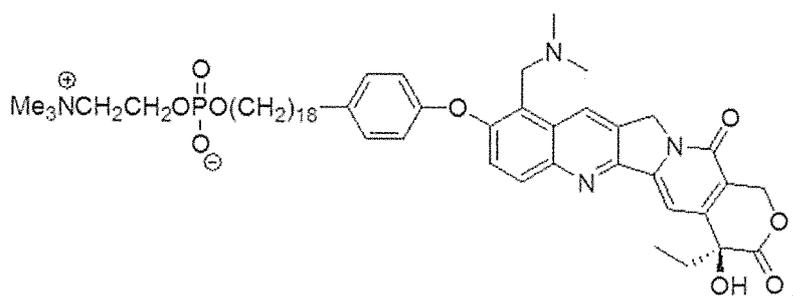
En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es irinotecano unido a un compuesto de alquil C18 fosfocolina mediante un ligador carbonilo, en donde el ligador carbonilo está unido al compuesto de alquil C18 fosfocolina por medio de un enlace carbono-carbono y a irinotecano por medio de un enlace éster,



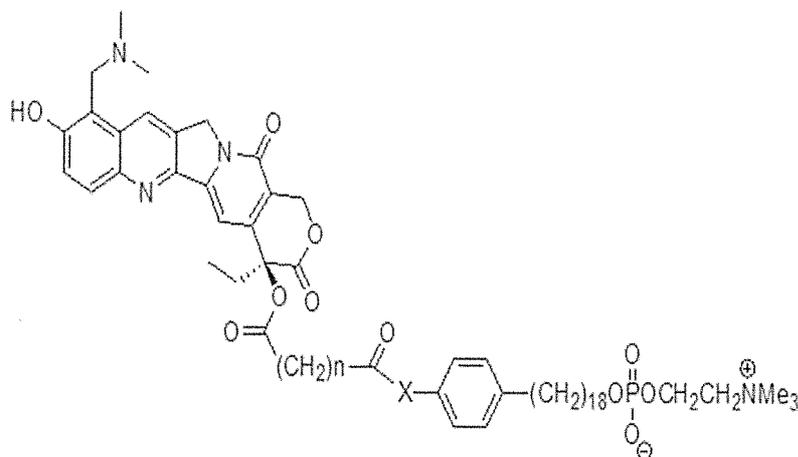
15

Conjugados topotecano-CLR1404

En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es topotecano unido al compuesto central de CLR1404 mediante un éter fenílico no hidrolizable,



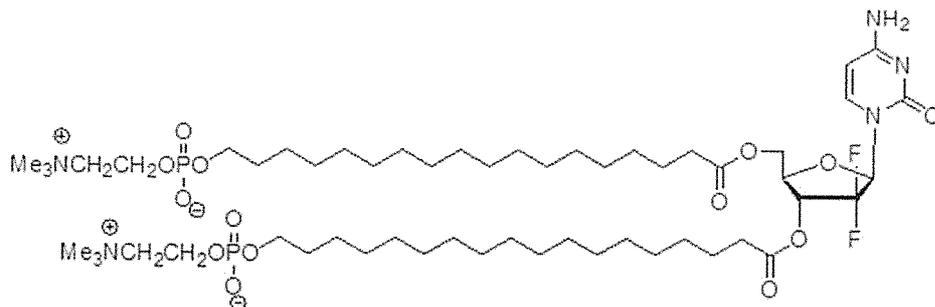
En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es topotecano unido a un compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de ácido dicarboxílico, en donde el ligador de ácido dicarboxílico está unido al compuesto de CLR1404 por medio de un enlace carbonato o carbamato y a topotecano por medio de un enlace éster,



5

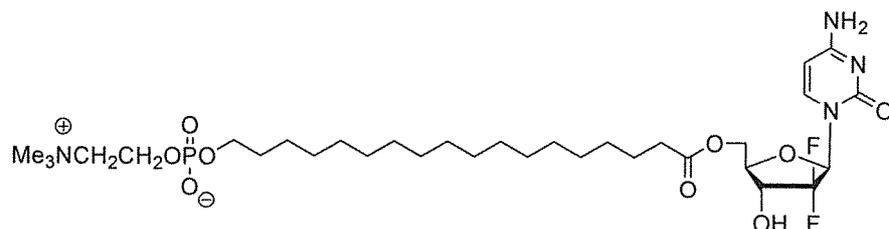
Conjugado gemcitabina-alkil C18 fosfocolina

En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es gemcitabina unida a dos compuestos de alquil C18 fosfocolina mediante ligadores carbonilo, en donde los ligadores carbonilo están unidos a los compuestos de alquil C18 fosfocolina por medio de enlaces carbono-carbono y a gemcitabina por medio de enlaces éster,



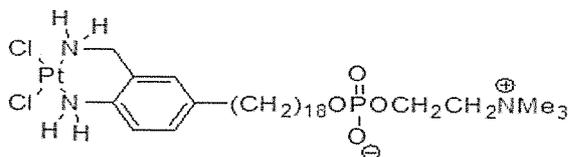
10

En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es gemcitabina unida a un compuesto de alquil C18 fosfocolina mediante un ligador carbonilo, en donde el ligador carbonilo está unido al compuesto de alquil C18 fosfocolina por medio de un enlace carbono-carbono y a gemcitabina por medio de un enlace éster,



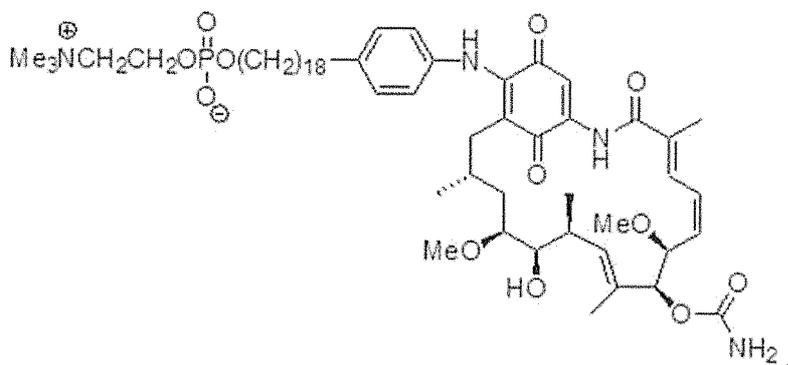
15 *Conjugado cisplatino-compuesto central de CLR1404*

En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es cisplatino unido directamente al compuesto central de CLR1404,

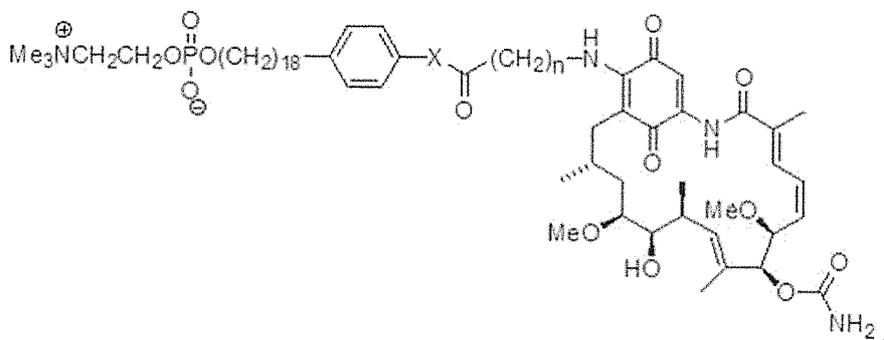


Conjugados geldanamicina-CLR1404

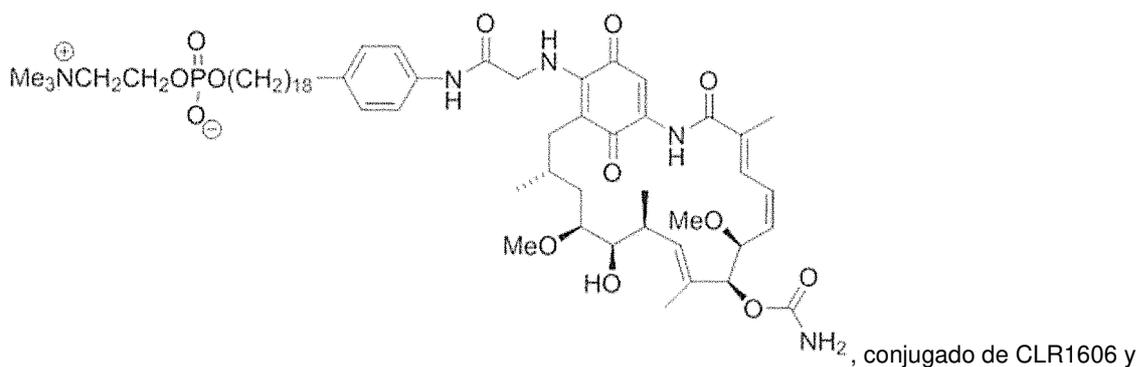
5 En una realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es geldanamicina unida directamente al compuesto central de CLR1404,

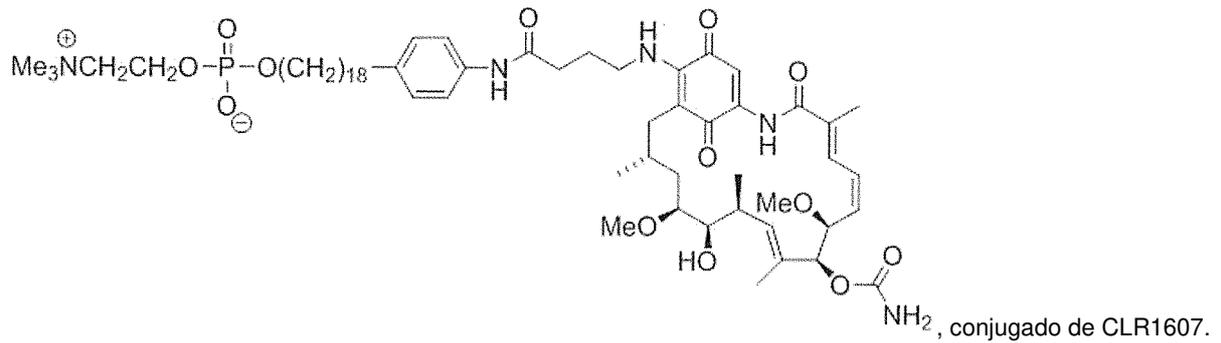


10 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es geldanamicina unida al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador corto de aminoácidos, en donde el ligador de aminoácidos está conectado al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace carbonato o carbamato y a la geldanamicina por medio de un enlace amida,



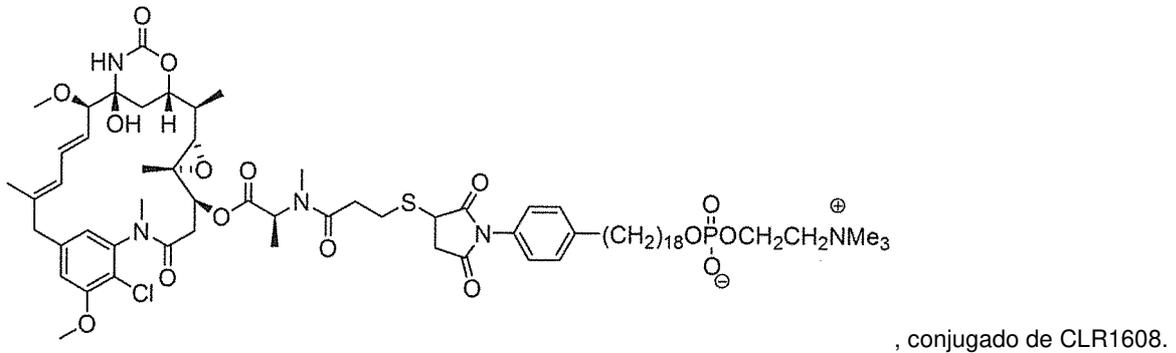
15 En una realización preferida de la presente invención, el compuesto terapéutico es geldanamicina unida al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de aminobutiramida, en donde el ligador de aminobutiramida está conectado al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace carbamato y a la geldanamicina por medio de un enlace amida:





Conjugados mertansina-CLR1404

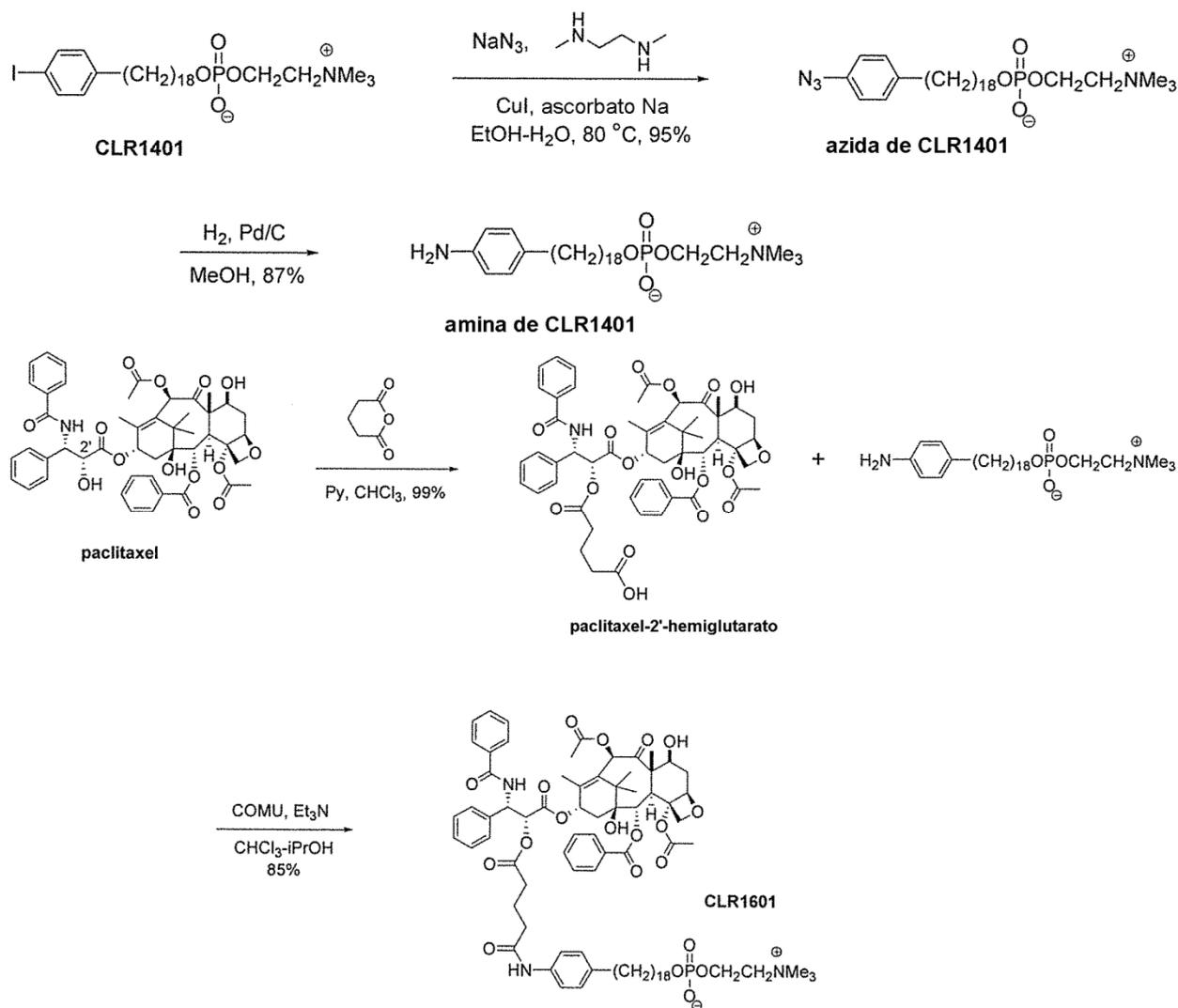
5 En otra realización de la presente invención, el compuesto terapéutico es mertansina unida al compuesto central de CLR1404 mediante un ligador de maleimida, en donde el ligador de maleimida está unido al compuesto central de CLR1404 por medio de un enlace amida y a mertansina por medio de un enlace carbono-azufre,



Para todas las realizaciones representativas, n es un número entero de 2 a 6 y X es O o NH.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Síntesis de conjugados



I. Síntesis de CLR1601

A. Síntesis de azida de CLR1401

5 Se disolvió 18-(*p*-yodofenil)octadecil fosfocolina (4,01 g, 6,3 mmol), azida sódica (818 mg, 12,6 mmol) y ascorbato sódico (140 mg, 0,71 mmol) en la mezcla de etanol desgasificado (28 ml) y agua (12 ml) en el recipiente de reacción. Se añadió yoduro de cobre (I) (120 mg, 0,63 mmol) y *N,N*-dimetil-etilendiamina (0,1 ml, 0,94 mmol) a la mezcla de reacción. El recipiente de reacción se cerró herméticamente y la mezcla se agitó a 80 °C durante 45 min. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se añadió agua (60 ml), y la mezcla se agitó durante 30 min abierta al aire. La mezcla se transfirió al embudo de separación, se añadió cloroformo (80 ml) y metanol (52 ml), y se llevó a cabo la extracción agitando. Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción (2 × 80 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se lavaron con HCl 0,01 N, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo se disolvió en cloroformo (4 ml) y se añadió acetona (170 ml) lentamente con agitación. La mezcla se agitó durante 30 min y se filtró. El producto se lavó en el filtro con acetona, y se secó a alto vacío para proporcionar 3,31 g (95%) de 18-(*p*-azidofenil)octadecil fosfocolina.

15 B. Síntesis de amina de CLR1401

20 Se colocó 18-(*p*-azidofenil)octadecil fosfocolina (3,116 g) en una botella a presión Parr, y se añadió metanol (30 ml) y un catalizador del 10% de Pd/C (100 mg). La reacción de hidrogenación se llevó a cabo bajo una presión de hidrógeno 379,2 kPa (55 psi) con agitación durante 24 h. La botella se despresurizó, se añadió cloroformo y metanol para disolver cierto producto de reacción precipitado, y la mezcla se filtró para eliminar el catalizador. El filtrado se evaporó hasta sequedad y el residuo se disolvió en una mezcla caliente de cloroformo-metanol (1:1) (10 ml). Se añadió lentamente acetona caliente (150 ml) con agitación, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente con agitación y se filtró. El producto se lavó en el filtro con acetona y se secó a alto vacío. Rendimiento de 18-(*p*-aminofenil)octadecil fosfocolina: 2,597 g (87%).

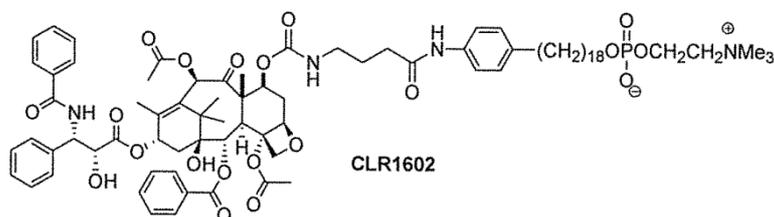
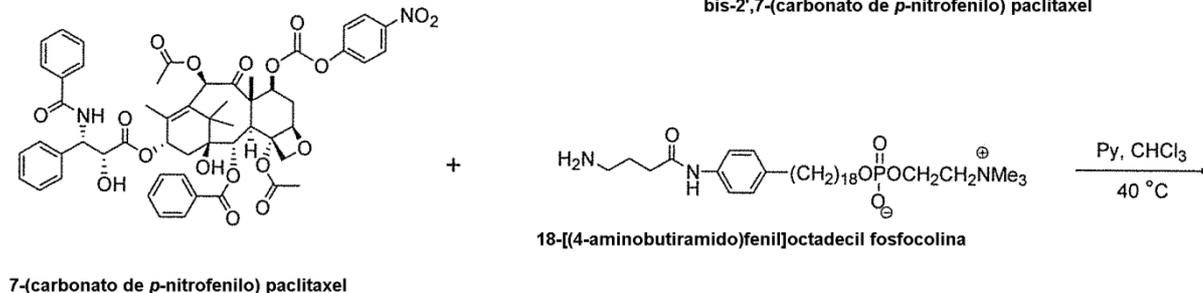
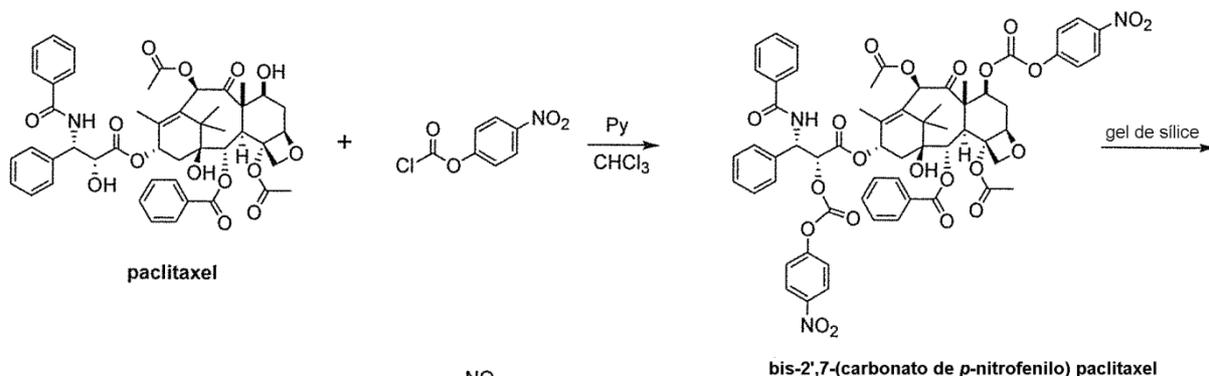
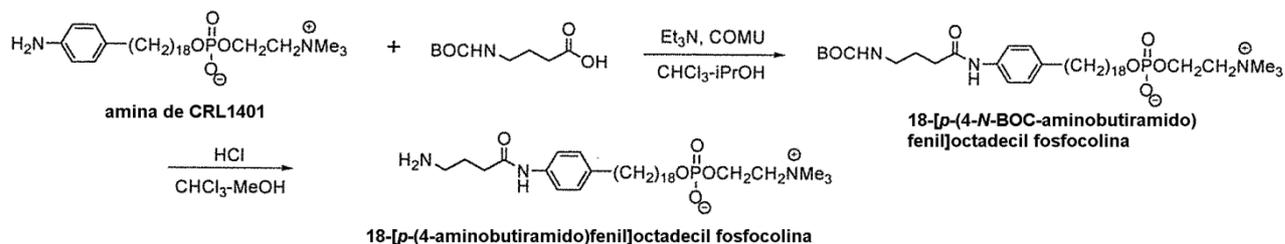
C. Síntesis de paclitaxel-2'-hemiglutarato

Se disolvió paclitaxel (404 mg, 0,437 mmol) y anhídrido glutárico (67 mg, 0,588 mmol) en cloroformo (8 ml) y se añadió piridina (0,5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h y se evaporó hasta sequedad. El residuo se mantuvo a alto vacío durante 1,5 h para eliminar la piridina residual. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 98:2 a 95:5) para proporcionar 452 mg (99%) de paclitaxel-2'-hemiglutarato.

D. Síntesis de CLR1601

Se suspendió paclitaxel-2'-hemiglutarato (947 mg, 0,978 mmol) y 18-(*p*-aminofenil)octadecil fosfocolina (492 mg, 0,934 mmol) en una mezcla de cloroformo (40 ml) e isopropanol (1,2 ml). A esta suspensión se le añadió trimetilamina (0,27 ml, 1,957 mmol) y COMU (419 mg, 0,978 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h, en cuyo tiempo se volvió clara y homogénea. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de separación y se mezcló con cloroformo (40 ml), metanol (80 ml) y agua fría (72 ml). Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción (2 x 80 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo restante se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente, el producto se secó a alto vacío para proporcionar 1,167 g (85%) de CLR1601.

II. Síntesis de CLR1602



A. Síntesis de 18-[*p*-(4-*N*-BOC-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina

Se suspendió 18-(*p*-aminofenil)octadecil fosfocolina (76 mg, 0,144 mmol) y ácido 4-*N*-BOC-aminobutírico (38 mg, 0,188 mmol) en cloroformo (5 ml) e isopropanol (0,15 ml), y después se añadió trietilamina (0,05 ml, 0,38 mmol) seguido de COMU (80 mg, 0,188 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h y se paró con 2 ml de disolución acuosa saturada de NaHCO₃. La mezcla de reacción parada se transfirió a un embudo de separación y se mezcló con cloroformo (35 ml), metanol (40 ml) y agua fría (36 ml). Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción (2 × 40 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente, el producto se disolvió en una mezcla caliente de cloroformo-metanol (1,5 ml) y se precipitó con acetona. El producto se recogió mediante filtración y se secó a alto vacío para proporcionar un polvo blanco (100 mg, 97%).

B. Síntesis de 18-[*p*-(4-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina

Se disolvió 18-[4-*N*-BOC-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina (98 mg, 0,138 mmol) en una mezcla de cloroformo (4 ml), metanol (2 ml) y HCl concentrado (0,2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después se paró mediante la adición lenta de la disolución de NaHCO₃ acuosa saturada (3 ml). La mezcla de reacción parada se transfirió a un embudo de separación y se mezcló con cloroformo (40 ml), metanol (40 ml) y agua fría (36 ml). Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción (2 × 40 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El producto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (100:65), seguido de elución final con cloroformo-metanol-NH₄OH conc. (ac.) (100:65:15). Tras la evaporación del disolvente, el producto se secó a alto vacío para proporcionar 50 mg (60%) de 18-[*p*-(4-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina.

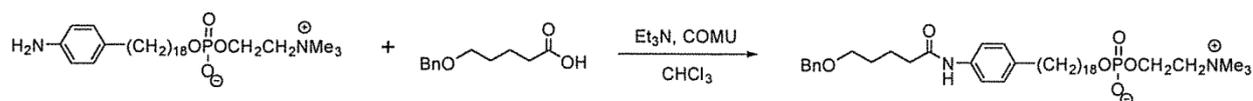
C. Síntesis de 7-(carbonato de *p*-nitrofenilo) paclitaxel

Se disolvió paclitaxel (100 mg, 0,117 mmol) en cloroformo (4,5 ml), se añadieron 8 gotas de piridina y la disolución se enfrió en un baño de hielo. Se añadió cloroformiato de *p*-nitrofenilo sólido (200 mg, 1 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h, después se paró con agua (1 ml) y se agitó durante 15 min. La mezcla se extrajo con cloroformo, el extracto se lavó con agua, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se evaporó hasta sequedad. Se disolvió bis-2',7-(carbonato de *p*-nitrofenilo) paclitaxel bruto en cloroformo y se cargó en la columna de gel de sílice. El producto bruto se dejó en la columna durante 72 h para completar la hidrólisis del carbonato de *p*-nitrofenilo en la posición 2'. La columna se eluyó con diclorometano - acetato de etilo (gradiente de 98:2 a 90:10). Tras la evaporación del disolvente, el producto se precipitó con hexano y se secó a alto vacío para proporcionar 63 mg (53%) de 7-(carbonato de *p*-nitrofenilo) paclitaxel. Véase, Arpicco S., et al., *Int J Pharm*, 2013, 454, 653-659.

D. Síntesis de CLR1602

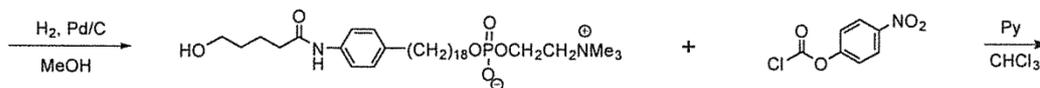
Se suspendió 7-(carbonato de *p*-nitrofenilo) paclitaxel (53 mg, 0,052 mmol) y 18-[*p*-(4-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina (47 mg, 0,077 mmol) en cloroformo (2 ml) y piridina (0,5 ml), y se agitó a 40 °C durante 5 h. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad, y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente, el compuesto se secó a alto vacío para proporcionar 67 mg (86%) de CLR1602 sólido.

40 III. Síntesis de CLR1603

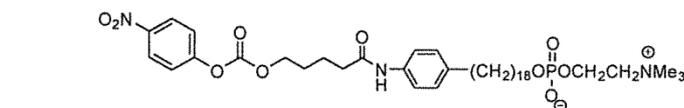


amina de CLR1401

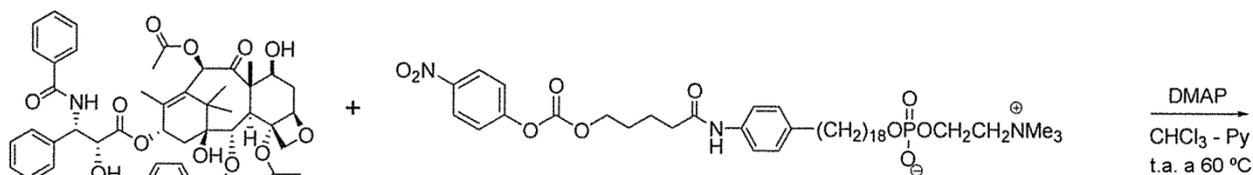
18-[p-(5-benciloxi-valeramido)fenil] octadecil fosfocolina



18-[p-(5-hidroxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina

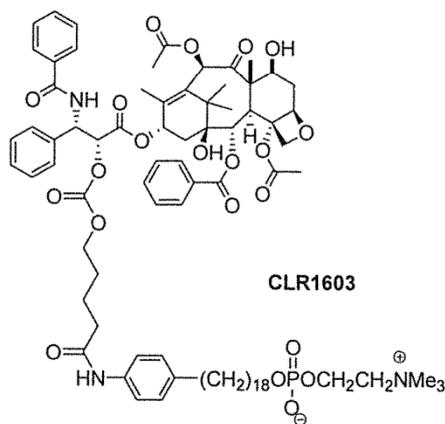


18-[p-(5-(p-nitro-fenoxicarbonilo)valeramido)fenil]octadecil fosfocolina



paclitaxel

18-[p-(5-(p-nitro-fenoxicarbonilo)valeramido)fenil] octadecil fosfocolina



CLR1603

A. Síntesis de 18-[p-(5-benciloxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina

5 18-(p-aminofenil)octadecil fosfocolina (760 mg, 1,443 mmol) y ácido 5-benciloxivalérico (361 mg, 1,732 mmol; sintetizado según *Can J Chem*, 1992, 70, 1472-1445 y *Org Lett*, 2014, 16, 516-519) se suspendieron en cloroformo (25 ml) y se añadió trietilamina (0,3 ml, 2,164 mmol) seguido de COMU sólido (741 mg, 1,732 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h, y después de completarse se transfirió a un embudo de separación y se mezcló con cloroformo (55 ml), metanol (80 ml) y agua fría (72 ml). Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción (2 x 80 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:3). Tras la evaporación del disolvente y el secado a alto vacío, el producto se disolvió en una mezcla caliente de cloroformo-metanol (3 ml), y se añadió lentamente acetona caliente (75 ml) con agitación. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente con agitación y se filtró. El producto recogido se secó a alto vacío para proporcionar 18-[p-(5-benciloxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina (887 mg, 86%) en forma de un polvo blanco.

B. Síntesis de 18-[p-(hidroxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina

Se disolvió 18-[p-(5-benciloxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina (868 g) en metanol (15 ml), se transfirió a una

botella a presión Parr, y se añadió un catalizador del 10% de Pd/C (75 mg). La reacción de hidrogenación se llevó a cabo bajo una presión de hidrógeno 379,2 kPa (55 psi) con agitación durante 24 h. La botella se despresurizó, y la mezcla se filtró para eliminar el catalizador. El filtrado se evaporó hasta sequedad y el residuo se disolvió en una mezcla caliente de cloroformo-metanol (3-4 ml). Se añadió lentamente acetona caliente (75 ml) con agitación. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente con agitación y se filtró. El producto recogido se secó a alto vacío para proporcionar 18-[*p*-(5-hidroxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina (718 mg, 95%) en forma de un polvo blanco.

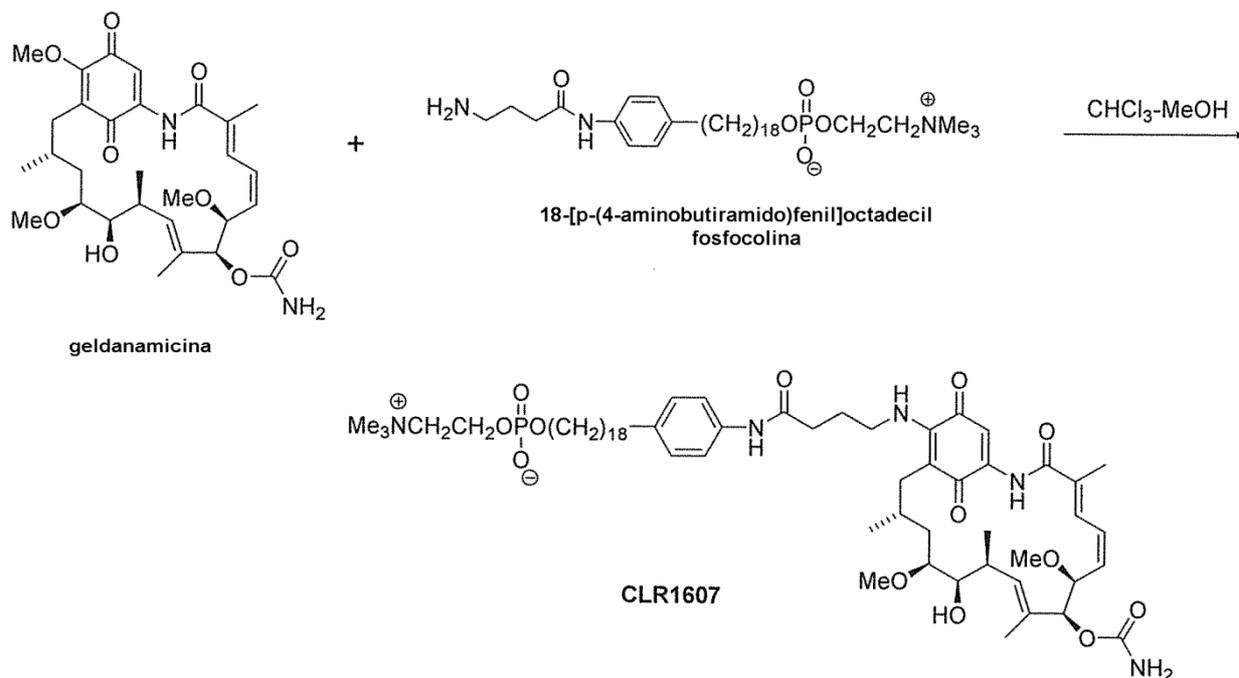
C. Síntesis de 18-[*p*-(5-(*p*-nitro-fenoxicarbonilo)valeramido)fenil]octadecil fosfocolina

Se suspendió 18-[*p*-(5-hidroxi-valeramido)fenil]octadecil fosfocolina (40 mg, 0,064 mmol) y cloroformiato de *p*-nitrofenilo (25 mg, 0,124 mmol) en cloroformo (3 ml) y se añadió piridina (0,2 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Se añadió una porción adicional de cloroformiato de *p*-nitrofenilo (15 mg), y la agitación continuó durante otras 1,5 h. La reacción se completó mediante análisis de CCF. La mezcla de reacción se paró con 1 ml de HCl 1 N y se transfirió al embudo de separación con cloroformo (20 ml), metanol (20 ml) y agua fría (15 ml). Se repitió la extracción (3 × 20 ml de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente y la precipitación con acetona, el residuo se secó a alto vacío para proporcionar 48 mg (95%) de un material sólido.

D. Síntesis de CLR1603

Se suspendió paclitaxel (46 mg, 0,054 mmol) y 18-[*p*-(5-(*p*-nitro-fenoxicarbonilo)valeramido)fenil]octadecil fosfocolina (43 mg, 0,054 mmol) en cloroformo (2 ml) y piridina (0,5 ml) en un vial de reacción. Se añadió DMAP (8 mg, 0,065 mmol), el vial se cerró herméticamente y el contenido se agitó a 60 °C durante 48 h. Se añadió una cantidad adicional de paclitaxel (20 mg), y la reacción continuó a 60 °C durante otras 48 h. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:2) y (65:25:4). La evaporación del disolvente y el secado a alto vacío proporcionó CLR1603 (50 mg, 62%).

IV. Síntesis de CLR1607

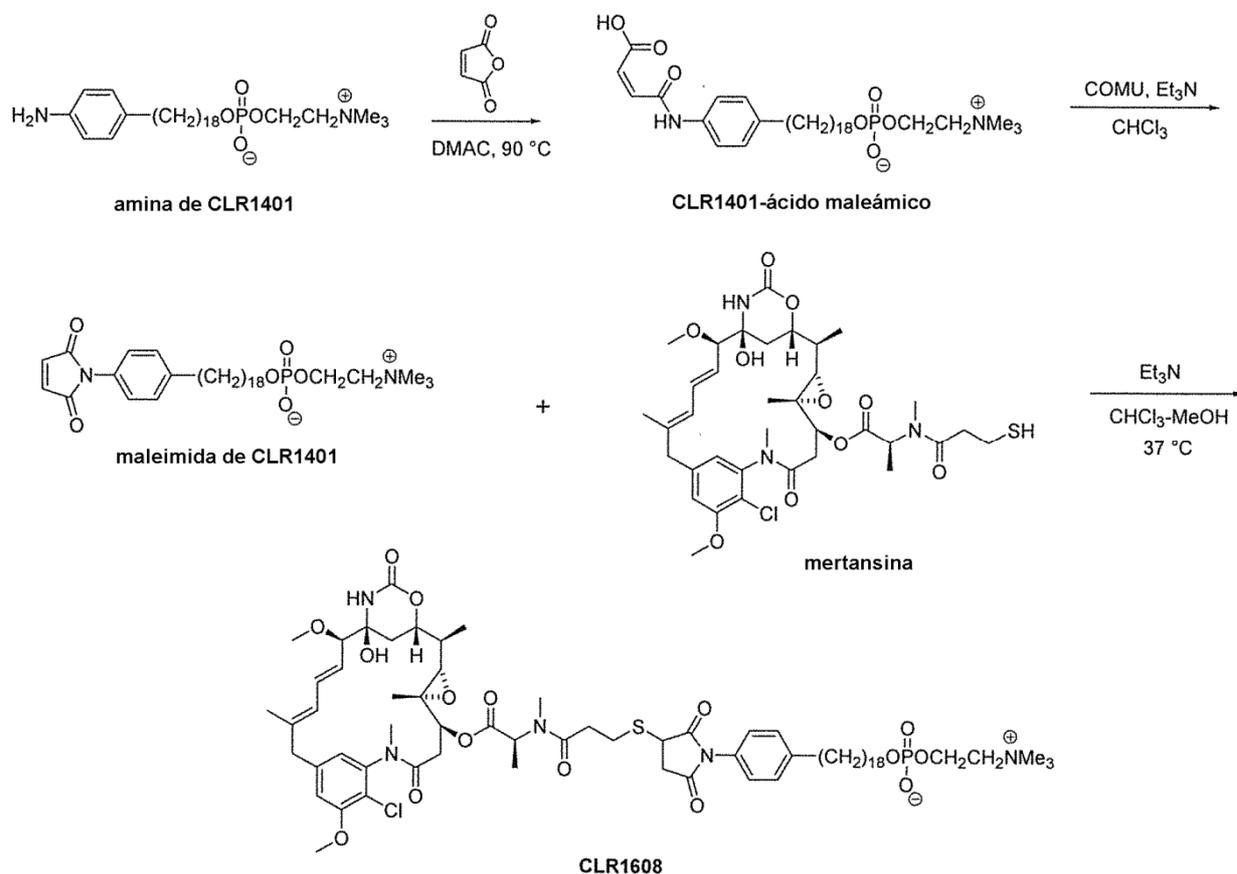


Se disolvió geldanamicina (111 mg, 0,198 mmol) y 18-[*p*-(4-aminobutiramido)fenil]octadecil fosfocolina (110 mg, 0,18 mmol) en cloroformo (3,5 ml) y metanol (1 ml). Se añadió una gota de trietilamina, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La CCF mostró que la reacción se completó en alrededor de un 80%. Se añadió geldanamicina adicional (10 mg), y la agitación continuó durante otras 24 h. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:2), (65:25:3) y (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente y el secado a alto vacío, se añadió acetona y la mezcla se evaporó. Se obtuvo CLR1607 en forma de un sólido púrpura (174 mg, 85%).

La identidad de cada producto aislado se confirmó mediante $^1\text{H-RMN}$ y análisis de espectroscopía de masas.

Los Ejemplos 2 a 8 exhiben la capacidad de CLR1404 y las moléculas relacionadas de ser captadas y retenidas por diversos tipos de cáncer, mientras simultáneamente se eliminan del tejido sano.

V. Síntesis de CLR1608



5

A. Síntesis de CLR1401-ácido maleámico

Se disolvió amina de CLR1401 (300 mg, 0,57 mmol) en *N,N*-dimetilacetamida (12 ml) a $90\text{ }^\circ\text{C}$, y se añadió anhídrido maleico (61 mg, 0,627 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se agitó a $90\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h, se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. Se añadió lentamente acetona (25 ml) con agitación, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El producto precipitado se filtró y se lavó en el filtro con acetona, y después se secó a alto vacío. Rendimiento: 327 mg (92%).

10

B. Síntesis de maleimida de CLR1401

Se suspendió CLR1401-ácido maleámico (100 mg, 0,16 mmol) en cloroformo exento de etanol (5 ml), y después se añadió trietilamina (0,05 ml, 0,352 mmol) y COMU (75 mg, 0,176 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h, después se transfirió a un embudo de separación y se mezcló con cloroformo (40 ml), metanol (40 ml) y agua fría (36 ml). Se retiró la capa de cloroformo, y se repitió la extracción ($2 \times 40\text{ ml}$ de cloroformo). Los extractos de cloroformo combinados se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se evaporaron hasta sequedad. El residuo restante se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:4). Tras la evaporación del disolvente, el producto se precipitó con acetona, se recogió y se secó a alto vacío para proporcionar 87 mg (90%) de maleimida de CLR1401.

20

C. Síntesis de CLR1608

Se disolvió maleimida de CLR1401 (40 mg, 0,066 mmol) y mertansina (53 mg, 0,072 mmol) en la mezcla de cloroformo (1,7 ml) y metanol (0,3 ml). Se añadió trietilamina (0,08 ml), y la mezcla se agitó a $37\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h. La mezcla de reacción se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con cloroformo-metanol (gradiente de 9:1 a 5:5), seguido de elución final con cloroformo-metanol-agua (65:25:3). Tras la evaporación del disolvente, el producto se secó a alto vacío para proporcionar 62 mg (70%) de CLR1608.

25

Ejemplo 2 - CLR1501 es captado preferentemente por las células cancerosas por medio de las balsas lipídicas

Materiales y Métodos:

Se pretrataron células PC-3 con 2 µg/ml de filipina III o vehículo durante 15 min, después se lavaron y se incubaron con 2 µCi de ¹²⁵I-CLR1404 durante 1 h. Se eliminó el medio y las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato que contenía un 0,1% de albúmina de suero bovino, se tripsinizaron, después se dividieron en dos muestras para la determinación del número de células mediante el contenido de ADN (A₂₈₀ en comparación con una curva patrón específica de la línea celular) y las cuentas por minuto mediante el uso de un contador gamma (Perkin Elmer).

Resultados:

El pretratamiento de las células PC-3 con filipina III, un agente que capta colesterol y altera las balsas lipídicas, dio como resultado casi un 40% menos de absorción de ¹²⁵I-CLR1404 en comparación con las células de control sin tratar (Fig. 1). Esto apoya la hipótesis de que CLR1404 usa las balsas lipídicas como portales de entrada a las células cancerosas. Notablemente, las concentraciones mayores de filipina III son citotóxicas, y, por lo tanto, no se pudo demostrar la eliminación completa de las balsas lipídicas (y la inhibición presumiblemente completa de la absorción del análogo de CLR1404).

Ejemplo 3 - Absorción preferente de CLR-1501 en las células cancerosas respecto de las células sanas

Materiales y Métodos:

Las líneas de células cancerosas humanas se adquirieron de la American Type Culture Collection (ATCC). Incluyeron lo siguiente: Caki-2 (renal; carcinoma de células claras), HCT-116 (carcinoma colorrectal); MES-SA/Dx5 (sarcoma uterino) [todas mantenidas en medio 5a de McCoy complementado con un 10% de suero bovino fetal (FBS)], Ovarcar-3 (adenocarcinoma ovárico) [mantenidas en medio RPMI complementado con un 20% de FBS], U87-MG (glioma) [mantenidas en medio esencial mínimo complementado con un 10% de FBS], Mia Paca-2 (carcinoma pancreático) (mantenidas en medio de Eagle modificado por Dulbecco complementado con un 10% de FBS), PC-3 (carcinoma de próstata) (mantenidas en medio F-12K complementado con un 10% de FBS), MDA-MB-231 (adenocarcinoma glandular mamario triple negativo) (mantenidas en medio de Leibovitz complementado con un 10% de FBS), y A549 (carcinoma de pulmón no microcítico) (mantenidas en medio F-12 complementado con un 10% de FBS). Se adquirieron fibroblastos cutáneos humanos normales de la ATCC y se cultivaron en medio basal de fibroblastos PCS-201-030 complementado con un kit exento de suero (Kit de Crecimiento de Fibroblastos Exento de Suero PCS-201-040). Todos los medios (excepto para la línea celular MDA-MB-231) también contuvieron penicilina (100 U/ml) y estreptomycin (100 µg/ml) y se mantuvieron a 37 °C con un 5% de CO₂ en aire.

Todas las células se mantuvieron a 37 °C en un medio adecuado complementado con un 10% de FBS y 5% de CO₂. Antes de la imagenología, las células se retiraron de los matraces con tripsina al 0,25% y se dejaron crecer durante la noche en los microportaobjetos VI (Ibidi). Al día siguiente, las células se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se incubaron con 5 o 7,5 µM (como se indica) de CLR1501 en un medio exento de suero adecuado durante 24 horas. CLR1501 es un análogo de CLR1404 marcado con fluorescencia. CLR1501 se formuló con un 0,4% de Polisorbato 20, 2% de etanol, y solución salina. Tras lavarlas a fondo con PBS, se tomaron imágenes de las células mediante el uso de un microscopio confocal de barrido láser/multifotón Bio-Rad Radiance 2100 MP Rainbow mediante el uso de un tiempo de exposición de 1 s. De manera alternativa, las células se visualizaron mediante el uso de un microscopio confocal Nikon AIR (Laboratorio Keck, Universidad de Wisconsin-Madison). La señal de emisión de CLR1501 se detectó mediante el uso de filtros Alexa Fluor 488 (ex/em 480/520 nm).

Resultados:

Se administró CLR1501 a cinco líneas de células cancerosas diferentes (renales, ováricas, pancreáticas, de melanoma, y de próstata) y una línea de fibroblastos cutáneos humanos normales *in vitro*. Veinticuatro horas más tarde, CLR1501 exhibió una absorción preferente de cinco a nueve veces en estas líneas de células cancerosas *in vitro* en comparación con los fibroblastos normales (Fig. 2). El CLR1501 retenido se asoció a la membrana plasmática y de los orgánulos.

Ejemplo 4 - Modelo de glioma en ratas

Materiales y Métodos: Todos los animales se albergaron y se manipularon de acuerdo con las directrices del Centro de Recursos Animales para Investigación de la Universidad de Wisconsin. Se propagaron células de glioma C6 de rata en medio DMEM (Life Technologies, Gaithersburg, MD) complementado con un 10% de FBS inactivado térmicamente (BioWhittaker, Walkersville, MD), 100 U/ml de penicilina G, 100 mg/ml de estreptomycin, y HEPES 0,01 M (Life Technologies, Gaithersburg, MD). Se llevó a cabo la implantación de tumores intracraneales como se describió previamente. Cohen JD, et al., Intracranial C6 glioma model in adult Wistar-Furth rats. *J Neuro Oncol* 1990 8(1):95-6. Brevemente, se resuspendieron 1x10⁶ células C6 en 5 ml de metilcelulosa al 1,2% y se inyectaron en los lóbulos frontales ratas Wistar hembra anestesiadas (Harlan, Indianápolis, IN). Los animales operados de manera simulada recibieron inyecciones intracraneales de un volumen igual de metilcelulosa sin células tumorales.

Estudios de imagenología: Diez días tras la implantación, se confirmó la presencia de tumores intracraneales con IRM. Brevemente, las ratas anestesiadas (6) recibieron 2 ml de Gadodiamida (Gd, Omniscan 287 mg/ml, Nycomed, Princeton, NJ) de manera intraperitoneal y se tomaron imágenes 10 min más tarde mediante el uso de un sistema de MR clínico de 1,5 Teslas (GE Signa LX) y una bobina de extremidades en fase GE. Se inspeccionaron las secuencias multicorte ponderadas en T1 (TR=500 ms, TE=16,5 ms) que cubrían todo el cerebro de cada rata para seleccionar las ratas que albergaron tumores con tamaños tumorales variables, y las ratas operadas de manera simulada para las inyecciones de NM404.

NM404 [18-(4-yodofenil)-octadecilfosfocolina] (100 mg) se radioyodó con ^{125}I por medio del intercambio de isótopos con Na^{125}I en una masa fundida de ácido pivalico. Weichert, et al. *Int J Appl Rad Isotopes*. 1986; 37:907-913. NM404 tiene la misma estructura química que CLR1404, excepto porque está radioyodado con ^{125}I en vez de ^{124}I o ^{131}I . Tras la purificación mediante HPLC, NM404 se disolvió en una disolución acuosa de Polisorbato 20 al 2% antes de la inyección en la vena de la cola (5-20 μCi /rata de 200 g) en cuatro ratas que albergaban tumores y tres ratas operadas de manera simulada. En los días 1 (n=1), 2 (n=1), y 4 (n=2) tras la inyección de NM404, se sacrificaron los animales (CO_2) y se extirparon los cerebros y se tomaron imágenes en un escáner Bioscan AR-2000 radio-TLC modificado (incrementos de 1 mm a 2 min de adquisición/carril y colimador de alta resolución de 1 mm). Además, se pesó el cerebro normal, sangre, riñón, hígado, bazo, tiroides, y los tejidos tumorales, y se contó la radiactividad en un contador gamma. La distribución tisular de la radiactividad se correlacionó después con la histología cerebral.

Resultados y Discusión: Los resultados iniciales de la imagenología con NM404 indicaron una absorción llamativa y una retención prolongada en todos los gliomas, que oscilaron en 3-5 mm de diámetro. La radiactividad en el tejido cerebral normal fue mínima en los animales de control operados de manera simulada (Fig. 4A y 4B), mientras NM404 se concentró intensamente en los gliomas (Fig. 4A'-D'). Las proporciones tumor / cerebro (% de dosis inyectada/g) en las ratas que albergaban gliomas C6 fueron 10,5, 12,2, y 6,7 a las 24, 48, y 96 h, respectivamente. Como se ha observado en los cultivos celulares previos y los estudios en modelos animales *in vivo*, NM404 aparentemente se metaboliza y se elimina de las células normales, pero queda atrapado metabólicamente en las membranas de las células tumorales. Los experimentos previos de autorradiografía en otros modelos tumorales han sugerido que solamente las células tumorales viables, y no el tejido normal ni los tejidos necróticos, son capaces de acumular NM404. De manera interesante, también se detectaron incluso los tumores pequeños, que midieron unos pocos mm de diámetro, tras la administración de NM404. Estos hallazgos preliminares sugieren que CLR1404 también puede ser útil para la visualización de pequeños focos tumorales invasivos.

30 Conclusión:

Como ha sido el caso en todos los modelos tumorales examinados previamente, NM404 mostró una retención selectiva y prolongada en los gliomas C6 de rata evaluados en este estudio.

Ejemplo 5 - Absorción de ^{124}I -CLR1404 en diversos tumores malignos

Materiales y Métodos:

35 Todos los estudios en animales descritos se llevaron a cabo según protocolos para animales aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales. Se usaron ratones atímicos hembra (Hsd:Athymic Nude-Foxn1nu o Cr1:NU-Foxn1nu, Charles River Laboratories) de alrededor de 4 a 5 semanas de edad, 16 a 18 g (n = 6), para los estudios de xenoinjertos tumorales humanos. Los ratones se anestesiaron con isoflurano y se les inyectaron de manera subcutánea células tumorales viables en 100 μl de PBS de Dulbecco (o, para las células de glioma, 50 ml de PBS) en el flanco derecho. Los tamaños de los inóculos fueron 1×10^6 (para los modelos renales, ováricos, de glioma, pancreáticos, de próstata, y de NSCLC), 2×10^6 (para los modelos colorrectales y uterinos), o 3×10^6 (de mama).

Resultados:

45 Se ensayó ^{124}I -CLR1404 radioyodado en xenoinjertos subcutáneos y ortotópicos de 60 líneas de células malignas y tipos de tumor diferentes espontáneos, transgénicos, humanos, y de roedor. Tras la administración intravenosa, ^{124}I -CLR1404 se localizó en casi todos los tumores malignos primarios y metastásicos, independientemente de la ubicación anatómica. Los ejemplos representativos son de tumores humanos (Fig. 5A-5I) y de roedor (Fig. 5J-M).

Tabla 1. Absorción de ^{124}I -CLR1404 en una amplia diversidad de tipos de cáncer

	Modelo de tumor	Especie	Categoría	Absorción*
1	Próstata PC-3	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
2	Pulmón A-549 (NSCLC)	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
3	Pulmón NCI H-69 (células de avena)	Ratón SCID	Carcinoma microcítico	Sí
4	Suprarrenal H-295	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
5	Suprarrenal RL-251	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
6	Colon-51	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
7	Colon LS180	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
8	Colon DLD1	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
9	Colon HT-29	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
10	Colon LS-180	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
11	Glioblastoma U87	Ratón atímico y NOD-SCID	Glioma	Sí
12	Melanoma A-375	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
13	Mieloma múltiple MM.1 S	Ratón atímico	Mieloma	Sí
14	Neuroblastoma SK-N-AS	Ratón atímico	Neuroblastoma	Sí
15	Neuroblastoma NB1691	Ratón atímico	Neuroblastoma	Sí
16	Neuroblastoma CHLA-20	Ratón atímico	Neuroblastoma	Sí
17	Neuroblastoma Lan5	Ratón atímico	Neuroblastoma	Sí
18	Ovárico HTB-77	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
19	Ovárico Ovcar-3	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
20	Pancreático BXPC3	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
21	Pancreático Mia Paca-2	Ratón atímico	Carcinoma	Sí
22	Pancreático Capan-1	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí
23	Células renales Caki-2	Ratón atímico (ortotópico)	Carcinoma de células claras	Sí
24	Células renales ACHN	Ratón atímico (ortotópico)	Adenocarcinoma	Sí
25	Sarcoma (Meth-A)	Ratón atímico	Fibrosarcoma	Sí
26	Cabeza y cuello SCC1	Ratón atímico	Carcinoma de células escamosas	Sí
27	Cabeza y cuello SCC6	Ratón atímico	Carcinoma de células escamosas	Sí
28	Próstata LNCap	Ratón	Adenocarcinoma	Sí
29	Próstata LuCap	Ratón	Adenocarcinoma	Sí
30	Mama MCF-7	Rata	Adenocarcinoma	Sí
31	Mama triple negativo MDA-MB231	Ratón atímico	Adenocarcinoma	Sí

ES 2 811 367 T3

32	Uterino MES SA/Dx5	Ratón atímico	Sarcoma	Sí
33	Glioblastoma 22 GSC	Ratón NOD-SCID (ortotópico)	Glioma	Sí
34	Glioblastoma 105 GSC	Ratón NOD-SCID (ortotópico)	Glioma	Sí
35	Mama 4T1	Ratón endógeno (ortotópico)	Adenocarcinoma	Sí
36	Vejiga SV40	Ratón (ortotópico)	Adenocarcinoma	Sí
37	Próstata MatLyLu	Rata	Adenocarcinoma	Sí
38	Walker256	Rata	Carcinosarcoma	Sí
39	TRAMP próstata	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
40	Colon CT26	Ratón SCID	Adenocarcinoma	Sí
41	Colon Pirc	Rata Pirc autóctona	Adenocarcinoma	Sí
42	Intestinal de ratón Min	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
43	Melanoma	Ratón	Adenocarcinoma	Sí
44	Mamario SCC	Ratón <i>Apc^{Min/+}</i>	Carcinoma de células escamosas	Sí
45	Mamario AC	Ratón <i>Apc^{Min/+}</i>	Adenocarcinoma	Sí
46	Carcinoma hepatocelular	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
47	Glioma L9	Xenoinjerto en rata	Glioma	Sí
48	Glioma C6	Xenoinjerto en rata	Glioma	Sí
49	Glioma CNS1	Xenoinjerto en rata	Glioma	Sí
50	Glioma RG2	Xenoinjerto en rata	Glioma	Sí
51	Retinoblastoma	Ratón endógeno	Blastoma	Sí
52	Pancreático c-myc	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
53	Pancreático Kras	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
54	Cervicouterino HPV	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
55	Esofágico	Ratón endógeno	Adenocarcinoma	Sí
56	Pólipo intestinal	Ratón endógeno	Adenoma (benigno)	No
57	Hiperplasia alveolar mamaria	Ratón endógeno	Hiperplasia (benigna)	No
58	Hepatoma Hep-3B	Ratón atímico	Carcinoma	No
59	Hepatoma Hep-G2	Ratón atímico	Carcinoma	No
60	Adenoma de colon de rata Pirc	Rata Pirc	Adenoma	No

* La absorción tumoral se consideró positiva si la proporción tumor:músculo fue mayor de 3. Una proporción tumor:músculo menor o igual a 2 se consideró negativa.

Ejemplo 6 - Ensayo clínico de evaluación de pacientes con carcinoma de pulmón no microcítico ("NSCLC") mediante el uso de CLR1404

- 5 Aunque CLR1404 ha mostrado una retención tumoral selectiva y prolongada en 55/60 modelos en roedores por xenoinjerto y espontáneos, un IND patrocinado por un médico inició la evaluación clínica del agente en pacientes de NSCLC humanos en estadio 4 para determinar si exhibiría o no una absorción tumoral y propiedades de retención similares en los seres humanos. Hasta la fecha, se han obtenido imágenes de dos pacientes con NSCLC avanzado

tras una inyección de <1 mCi de ^{131}I -CLR1404. Se recogieron muestras de sangre y orina a tiempos predeterminados, y se llevó a cabo la imagenología gamma en varios puntos temporales tras la administración. En ambos pacientes, se demostró una absorción tumoral y retención de CLR1404 significativas en el tumor pulmonar primario, como se observa en la Fig. 6. Respecto de los valores elevados de absorción hepática observados previamente con su predecesor de primera generación, NM324, las actividades hepática y abdominal son mucho menores con CLR1404, lo que sugiere la viabilidad de evaluar este agente en otros cánceres abdominales, que incluyen el pancreático, de colon, y de próstata.

Materiales y Métodos: Tras la inyección intravenosa de CLR1404 marcado con yodo-131 (1 mCi/20 μg), los pacientes con NSCLC avanzado se escanearon a las 3, 6, 24, 48, 96 h y a los 7 y 11 días en un escáner de SPECT de doble cabezal GE Maxxus. Se recogieron muestras de sangre y orina para el análisis farmacocinético, así como para el bioanálisis clínico hematológico, renal, y hepático.

Resultados: Los resultados iniciales de imagenología cualitativa indican que el CLR1404 marcado con yodo-131 se localiza claramente en las masas pulmonares bilaterales ya a las 24 h tras la inyección, y se retiene selectivamente en estos tumores más de 11 días. Además, la radiactividad de fondo en la región hepática y abdominal inferior, que incluye la vejiga urinaria, los riñones, y los intestinos fue significativamente menor que la observada previamente con su predecesor, NM324. No se observaron reacciones adversas en ninguno de los pacientes.

Conclusiones: Estos hallazgos preliminares sugieren que CLR1404 exhibe una absorción tumoral y propiedades de retención similares en NSCLC humano, tal como se observó previamente en los modelos de roedores. Aunque se basa solamente en dos pacientes en este momento, parece que CLR1404 de hecho se localiza y experimenta una retención tumoral selectiva y prolongada en el cáncer de pulmón no microcítico humano.

Paciente 1: Hombre de 55 años con NSCLC bilateral en el lóbulo izquierdo de 3 cm y en el lóbulo derecho infiltrante, y una metástasis cerebral y un pequeña masa suprarrenal derecha. Ha participado en numerosos regímenes de tratamiento convencionales y experimentales. Las imágenes se muestran en la Fig. 6A-C.

Paciente 2: Hombre de 70 años con un diagnóstico reciente de un carcinoma de pulmón no microcítico en el lóbulo superior de 6 cm, una masa hepática de 5 mm, una micrometástasis en el hueso ilíaco y una metástasis cerebral muy pequeña. Había completado recientemente una quimioterapia con carboplatino/taxol a dosis baja y radioterapia paliativa de las metástasis ilíaca y cerebral la semana antes de iniciar el ensayo con CLR1404. Las imágenes se muestran en la Fig. 6D-G.

Ejemplo 7 - Detección de 3 metástasis tumorales cerebrales previamente desconocidas en un paciente de NSCLC mediante el uso de ^{124}I -CLR1404

Materiales y Métodos:

Se obtuvieron barridos TEP cerebrales humanos en un escáner TEP/TC de 64 cortes (Discovery VCT, General Electric) en múltiples puntos temporales tras la inyección de alrededor de 5 mCi de ^{124}I -CLR1404 mediante el uso de una secuencia de adquisición dinámica de 90 min (2D, nueve fotogramas a 10 min cada uno, modo de lista VIP activado) y se reconstruyeron [Advantage Workstation versión AW4.4, General Electric, 30 cm DFOV (campo de visión de pantalla), 128 \times 128, OSEM VUE Point, 10 subgrupos con dos iteraciones, eje z estándar, corrección de la atenuación y corrección del tiempo muerto, dispersión, y desintegración].

Resultados:

Se obtuvieron resultados preliminares en un paciente de NSCLC sin síntomas neurológicos mediante el uso de TEP/TC con ^{124}I -CLR1404. La imagenología reveló tres lesiones cerebrales previamente desconocidas muy sospechosas de metástasis que se confirmaron posteriormente con IRM realizada con gadolinio (Fig. 7).

Ejemplo 8 - Detección de la recidiva tumoral de una metástasis en la hoz cerebral derecha mediante el uso de ^{124}I -CLR1404

Metástasis cerebral recurrente en una mujer de 60 años con melanoma maligno. La resonancia magnética ("RM") (Fig. 8A) y las imágenes de TEP con ^{124}I -CLR1404 (Fig. 8B) y las imágenes 8 meses tras la radiocirugía estereotáctica para la recidiva tumoral de una metástasis en la hoz cerebral frontal derecha (Fig. 8C) muestran un foco de actividad anormal con CLR1404 (flecha). El foco realizado correspondiente sobre la imagenología de RM inicial se interpretó como necrosis por radiación frente a una posible recidiva. La imagenología de RM posterior mostró un incremento adicional del tamaño de la lesión realizada inespecífica, acoplado a un edema perilesional incrementado, lo que indica una recidiva del tumor maligno. Estos resultados indican que ^{124}I -CLR1404 fue captado por las células cancerosas que fueron resistentes a la radiocirugía y finalmente establecieron un tumor recidivante.

Los compuestos de la presente invención incluyen fármacos de quimioterapia unidos a la molécula central de CLR1404. Estos compuestos son capaces de seleccionar como objetivo las células cancerosas y las células madre cancerosas, que incluyen las células cancerosas cerebrales, de forma que el fármaco de quimioterapia es captado y retenido por la célula cancerosa. Estos compuestos proporcionan el primer tratamiento selectivo del cáncer capaz de

adaptarse a administrar de manera específica una diversidad de fármacos de quimioterapia a células cancerosas para tratar el cáncer y prevenir la metástasis y la recidiva.

Ejemplo 9 - Conjugados de paclitaxel y CI50 para diversas líneas de células cancerosas

Método

5 Las líneas de células cancerosas, que incluyen MDA-MB-468 (Mama), NCI-H1299 (Pulmón), NCI-H460 (Pulmón), Capan-2 (Páncreas), MiaPaCa-1 (Páncreas), HT29 (Colorrectal), HCT116 (Colorrectal) y PC-3 (Próstata) se trataron con concentraciones en serie de paclitaxel y conjugados CLR1404-paclitaxel (es decir, CLR1601, CLR1602 y CLR1603). Las líneas celulares se midieron después con respecto a la viabilidad celular, y se informó como la CI50 para cada tratamiento.

10 Resultados

CLR1601 y CLR1603 fueron capaces de reducir la viabilidad celular para cada una de las líneas de células cancerosas, MDA-MB-468 (Mama), NCI-H1299 (Pulmón), NCI-H460 (Pulmón) Capan-2 (Páncreas), MiaPaCa-1 (Páncreas), HT29 (Colorrectal), HCT116 (Colorrectal) y PC-3 (Próstata). Véanse las Figuras 9-16, respectivamente. Las CI50s para cada conjugado paclitaxel-1404 (es decir, CLR1601 y CLR1603) y paclitaxel se informan en la Tabla 2. No se muestra la CI50 para CLR1602, sin embargo CLR1602 no fue capaz de reducir significativamente la viabilidad de las líneas de células cancerosas debido a que CLR1602 no es hidrolizable. *In vivo*, el paclitaxel libre es captado por las células tumorales a una velocidad mucho menor debido a la naturaleza inespecífica de la absorción de paclitaxel. Por tanto, *in vivo*, la cantidad de conjugado EFL-paclitaxel necesaria para la muerte de las células cancerosas debería ser equivalente o menor que para paclitaxel, y puede dar como resultado una toxicidad enormemente reducida para las células no cancerosas.

Tabla 2. CI50 para CLR1601, CLR1603 y Paclitaxel

	CLR1601	CLR1603	Paclitaxel
MDA-MB-468 (Mama)	3,77 nM	3,42 nM	1,9 nM
NCI-H1299 (Pulmón)	60,3 nM	108 nM	1,82 nM
NCI-H460 (Pulmón)	29,5 nM	171,1 nM	1,66 nM
Capan-2 (Páncreas)	56,7 nM	83,6 nM	7,91 nM
MiaPaCa-1 (Páncreas)	37,3 nM	38,9 nM	1,32 nM
HT29 (Colorrectal)	92,2 nM	70,6 nM	1,07 nM
HCT116 (Colorrectal)	7,6 nM	11 nM	0,87 nM
PC-3 (Próstata)	34,4 nM	29,5 nM	0,9 nM

Ejemplo 10 - Ensayos de citometría de flujo

Métodos

25 Se utilizó la tinción con anexina V y PI (fosfatidilinosítido) mediante citometría de flujo para determinar los porcentajes de células vivas, apoptóticas tempranas, apoptóticas tardías, y necróticas. Brevemente, las células se trataron con agentes citotóxicos y se tiñeron con un kit de marcaje con Anexina V/PI (Life Technologies). Las células se analizaron en un citómetro de flujo LSRII (BD Biosciences). Como se muestra en las Tablas 3-9, las células se clasificaron como: Vivas (negativas para Anexina V, negativas para PI), apoptóticas tempranas (positivas para Anexina V, negativas para PI), apoptóticas tardías (positivas para Anexina V, positivas para PI), y necróticas (negativas para Anexina V, positivas para PI). Se muestra un gráfico de dispersión representativo en la Figura 17 para células MDA-MB-468 tratadas con 5 µM de CLR1601 durante 72 horas. La anexina V se muestra (unida a AlexaFluor 488) en el eje x, mientras PI se muestra en el eje y. El cuadrante izquierdo inferior indica las células vivas, el cuadrante izquierdo superior indica las células necróticas, el cuadrante derecho superior indica las células apoptóticas tardías y el cuadrante derecho inferior indica las células apoptóticas tempranas. Los restos celulares se eliminaron de este análisis.

Resultados

Las células MDA-MB-468, una línea de células de cáncer de mama triple negativo, se trataron con conjugados de CLR (CLR1601 y CLR1603) durante 72 horas y con paclitaxel ("PTX") durante 24 horas. Véase la Tabla 3. Las células MDA-MB-468 también se trataron con conjugados de CLR (CLR1606 y CLR1607) durante 72 horas y con geldanamycin ("GEL") durante 48 horas. Véase la Tabla 4. Para los conjugados de PTX, la viabilidad celular se redujo del 61,1% (sin tratamiento con el fármaco) al 17,0%, 17,8%, 22,2%, 19,7%, 53,8%, y 48,9% tras el tratamiento con

CLR1601 1 μM , CLR1601 5 μM , CLR1603 1 μM , CLR1603 5 μM , PTX 100 nM, y PTX 1 μM , respectivamente. Véase la Tabla 3. Para los conjugados de GEL, la viabilidad celular se redujo del 61,1% al 58,8%, 42,7%, 52,7%, 56,9%, y 26,2% tras el tratamiento con CLR1606 1 μM , CLR1606 10 μM , CLR1607 1 μM , CLR1607 10 μM , y GEL 1 μM , respectivamente. Véase la Tabla 4.

5 Tabla 3. MDA-MB-468 tratadas con conjugados de Paclitaxel durante 72 horas

MDA-MB-468 (% de las células totales)	72 h sin fármaco	CLR1601 (1 μM)	CLR1601 (5 μM)	CLR1603 (1 μM)	CLR1603 (5 μM)	PTX (100 nM)	PTX (1 μM)
Vivas	61,1	17	17,8	22,2	19,7	53,8	48,9
Necróticas	2,83	15,8	21,6	22	22,5	8,89	10,8
Apoptóticas tardías	20,5	57,5	57,9	49,1	55,2	31,4	34,8
Apoptóticas tempranas	15,5	9,83	2,71	6,74	2,65	5,9	5,5

Tabla 4. Células MDA-MB-468 tratadas con conjugados de Geldanamicina durante 72 horas

MDA-MB-468 (% de las células totales)	72 h sin fármaco	CLR1606 (1 μM)	CLR1606 (10 μM)	CLR1607 (1 μM)	CLR1607 (10 μM)	GEL (1 μM)
Vivas	61,1	58,8	42,7	52,7	56,9	26,2
Necróticas	2,83	2,31	19,4	1,62	1,63	16,3
Apoptóticas tardías	20,5	25,7	33,8	25,1	26,4	37,9
Apoptóticas tempranas	15,5	13,2	4,13	20,6	15,1	19,6

10

Se trataron células COLO 829, una línea celular de melanoma, con conjugados de GEL (CLR1606 y CLR1607) durante 72 h y GEL durante 48 horas. Véase la Tabla 5. La viabilidad celular se redujo del 80,8% (sin tratamiento con el fármaco) al 70,4%, 21,1%, 67,9%, 54,3%, 32,4%, y 18,6% tras el tratamiento con CLR1606 1 μM , CLR1606 10 μM , CLR1607 1 μM , CLR1607 10 μM , GEL 100 nM, y GEL 1 μM , respectivamente. Véase la Tabla 5.

15 Tabla 5. Células COLO 829 tratadas con conjugados de Geldanamicina durante 72 horas

COLO 829 (% de las células totales)	72 h sin fármaco	CLR1606 (1 μM)	CLR1606 (10 μM)	CLR1607 (1 μM)	CLR1607 (10 μM)	GEL (100 nM)	GEL (1 μM)
Vivas	80,8	70,4	21,1	67,9	54,3	32,4	18,6
Necróticas	1,74	1,59	28,6	2,36	16,1	4,9	6,42
Apoptóticas tardías	4,18	6,7	40,1	9,05	20,9	40,8	53,7
Apoptóticas tempranas	13,3	21,3	10,2	20,7	8,69	21,9	21,4

20

Se trataron células PANC-1, una línea celular de cáncer pancreático, con conjugados de GEL (CLR1606 y CLR1607) durante 72 h y GEL durante 48 horas. Véase la Tabla 6. La viabilidad celular se redujo del 44,2% (sin tratamiento con el fármaco) al 42,0%, 21,5%, 44,0%, 33,0%, 23,3%, y 18,9% tras el tratamiento con CLR1606 1 μM , CLR1606 10 μM , CLR1607 1 μM , CLR1607 10 μM , GEL 100 nM, y GEL 1 μM , respectivamente. Véase la Tabla 6.

Tabla 6. Células PANC-1 tratadas con conjugados de Geldanamicina durante 72 horas

PANC-1 (% de las células totales)	72 h sin fármaco	CLR1606 (1 μM)	CLR1606 (10 μM)	CLR1607 (1 μM)	CLR1607 (10 μM)	GEL (100 nM)	GEL (1 μM)
Vivas	44,2	42	21,5	44	33	23,3	18,9
Necróticas	47,9	46,8	65,3	48,1	54,7	59,4	66,4
Apoptóticas tardías	5,65	8,63	12,6	4,83	9,81	12,6	12,8

Apoptóticas tempranas 2,23 2,59 0,63 3,1 2,43 4,68 1,93

5 Se trataron células 22RV1, una línea celular de cáncer de próstata, con conjugados de GEL (CLR1606 y CLR1607) durante 72 h y GEL durante 48 horas. Véase la Tabla 7. La viabilidad celular fue del 20,3%, 21,3%, 16,0%, 21,9%, 15,7%, 19,4%, y 28,1% tras el tratamiento sin el fármaco, con CLR1606 1 µM, CLR1606 10 µM, CLR1607 1 µM, CLR1607 10 µM, GEL 100 nM, y GEL 1 µM, respectivamente. Véase la Tabla 7. La muerte basal de células fue alta con esta línea celular; las células no respondieron bien al método de recogida de células.

Tabla 7. Células 22RV1 tratadas con Geldanamicina durante 72 horas

22RV1 (% de las células totales)	72 h sin fármaco	CLR1606 (1 µM)	CLR1606 (10 µM)	CLR1607 (1 µM)	CLR1607 (10 µM)	GEL (100 nM)	GEL (1 µM)
Vivas	20,3	21,3	16	21,9	15,7	19,4	28,1
Necróticas	49,5	51,7	57,7	55,2	59,1	47,1	46,6
Apoptóticas tardías	26,2	23,4	22,9	20,7	23,1	28,4	19,1
Apoptóticas tempranas	4,1	3,63	3,44	2,27	2,19	5,09	6,22

10 Los conjugados de CLR parecen requerir un periodo de tratamiento más largo con las células para inducir la muerte celular. El tratamiento de las células MDA-MB-468 con CLR1601 1 µM y CLR1603 1 µM durante 48 horas dio como resultado una reducción de la viabilidad celular del 86,2% (sin tratamiento con el fármaco) al 79,4% y 81,4%, respectivamente. Véase la Tabla 8. El tratamiento de las células COLO 829 con CLR1606 1 µM y CLR1607 1 µM durante 48 horas dio como resultado una reducción de la viabilidad celular del 91,7% (sin tratamiento con el fármaco) al 90,1% y 82,7%, respectivamente. Véase la Tabla 9.

15 Tabla 8. MDA-MB-468 tratadas con conjugados de Paclitaxel durante 48 horas

MDA-MB-468 (% de las células totales)	48 h sin fármaco	CLR1601 (1 µM)	CLR1603 (1 µM)	PTX (100 nM)	PTX (1 µM)
Vivas	86,2	79,4	81,4	77,9	73,3
Necróticas	2,87	13,1	12,4	14,1	15,6
Apoptóticas tardías	8,33	6	4,78	5,54	9,18
Apoptóticas tempranas	2,56	1,49	1,4	2,47	1,97

Tabla 9. Células COLO 829 tratadas con conjugados de Geldanamicina durante 48 horas

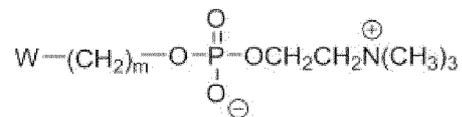
COLO 829 (% de las células totales)	48 h sin fármaco	CLR1606 (1 µM)	CLR1607 (1 µM)	GEL (100 nM)	GEL (1 µM)
Vivas	91,7	90,1	82,7	36,1	24,6
Necróticas	5,96	6,91	8,94	22,7	22,7
Apoptóticas tardías	1,67	2,2	5,54	29	38,3
Apoptóticas tempranas	0,72	0,79	2,77	12,2	14,4

Globalmente, los conjugados EFL-paclitaxel y EFL-geldanamicina mostraron ser capaces de reducir la viabilidad de las células tumorales, lo que incluye inducir la muerte celular para una diversidad de tipos de tumor.

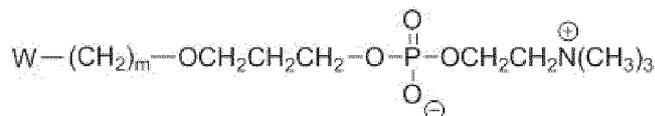
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto terapéutico que comprende la fórmula A-B-D, en donde:

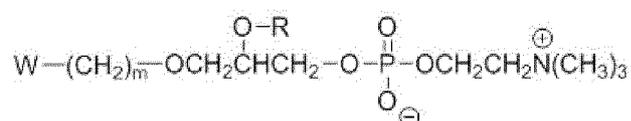
A es al menos un compuesto de fórmula (I),



5 (I), al menos un compuesto de fórmula (II),



(II), al menos un compuesto de fórmula (III)



(III), o una combinación de los mismos,

10 en donde W se selecciona del grupo que consiste en un arilo, un alquilo C₁-C₆, un alqueniilo, un cicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente y un heterocicloalquilo C₃-C₆ sustituido opcionalmente, en donde R es H o un alquilo y en donde m es un número entero de 12 a 24;

B es un compuesto ligador; y

D es un fármaco de quimioterapia,

15 en donde la proporción de A respecto de D es de 1:2 a 2:1.

2. El compuesto terapéutico de la reivindicación 1, en donde el compuesto ligador es un enlace o un compuesto de fórmula (IV), Y-(CH₂)_n-Z (IV), en donde:

Y está unido a A;

Z está unido a D;

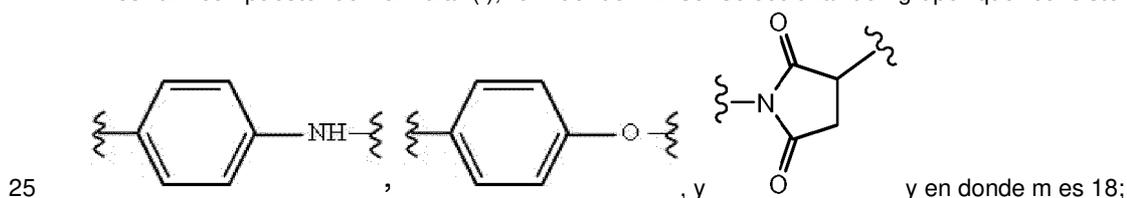
20 Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace, O, NH, C=O, NHSO₂O, y OC(=O)O;

Z se selecciona del grupo que consiste en O, NH, C=O, C(=O)O, C(=O)NH, SO₂, OC(=O)OCH₂, y -S-S-; y

n es un número entero de 0 a 6.

3. El compuesto terapéutico de la reivindicación 1, en donde:

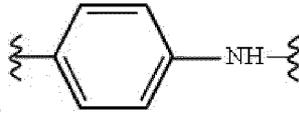
A es un compuesto de fórmula (I), en donde W se selecciona del grupo que consiste en un alquilo C₁,



B es un compuesto ligador seleccionado de un enlace y un compuesto de fórmula (IV), Y-(CH₂)_n-Z (IV), en donde n es un número entero de 0 a 6, Y está unido a A, Z está unido a D, Y se selecciona del grupo que consiste en un enlace y C=O y Z se selecciona del grupo que consiste en NH, C=O, C(=O)NH y C(=O)O; y

30 D se selecciona del grupo que consiste en paclitaxel, irinotecano, topotecano, gemcitabina, cisplatino, geldanamicina y mertansina.

4. El compuesto terapéutico de la reivindicación 3, en donde:



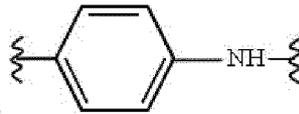
A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es y m es 18;

B es un compuesto de fórmula (IV), en donde Y es C=O y Z es C=O, C(=O)NH o C(=O)O y n es 3 o 4; y

D es paclitaxel,

en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

5. El compuesto terapéutico de la reivindicación 3, en donde:



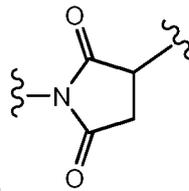
A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es y m es 18;

B es un enlace o un compuesto de fórmula (IV), en donde Y es C=O, Z es NH y n es 1 o 3; y

D es geldanamicina,

en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

10. 6. El compuesto terapéutico de la reivindicación 3, en donde:



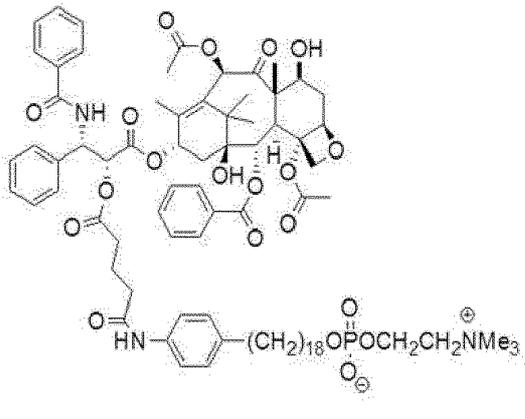
A es un compuesto de fórmula (I), en donde W es y m es 18;

B es un enlace; y

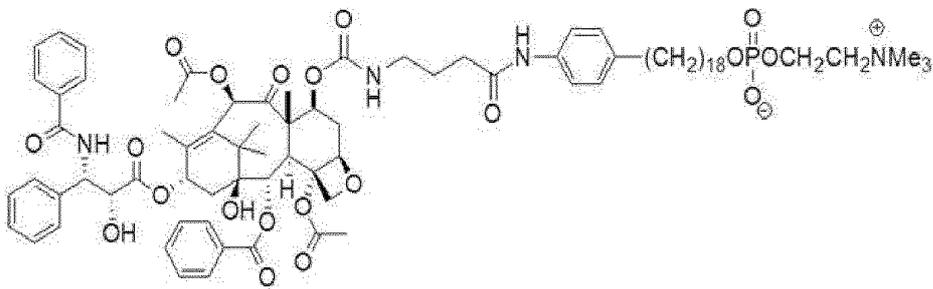
D es mertansina,

en donde la proporción de A respecto de D es 1:1.

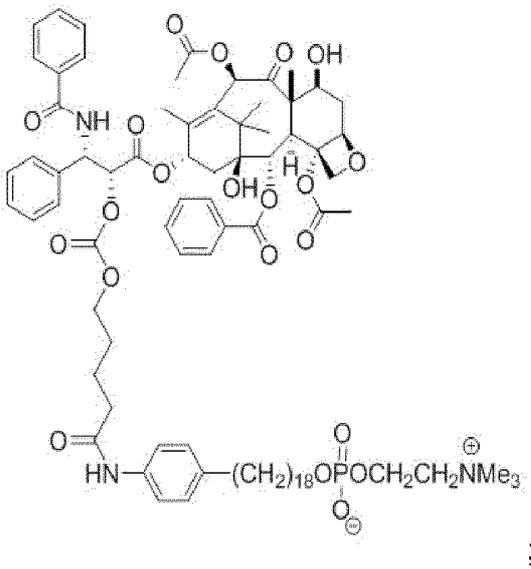
15. 7. Un compuesto terapéutico seleccionado del grupo que consiste en:



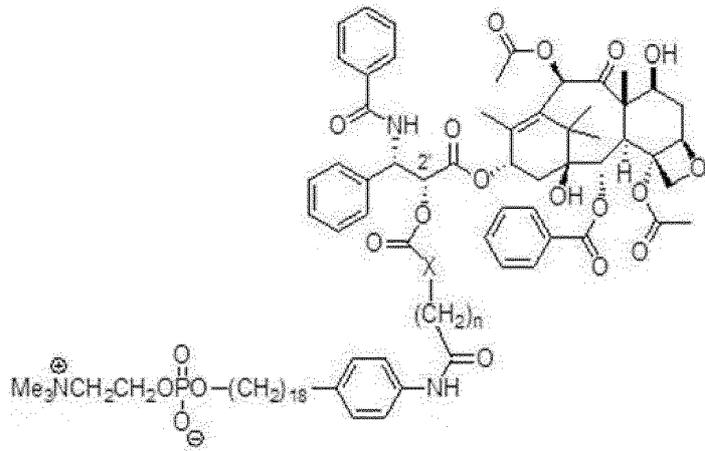
;



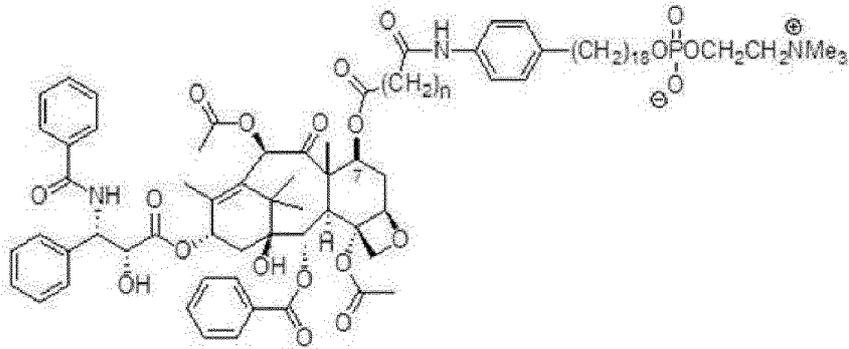
;



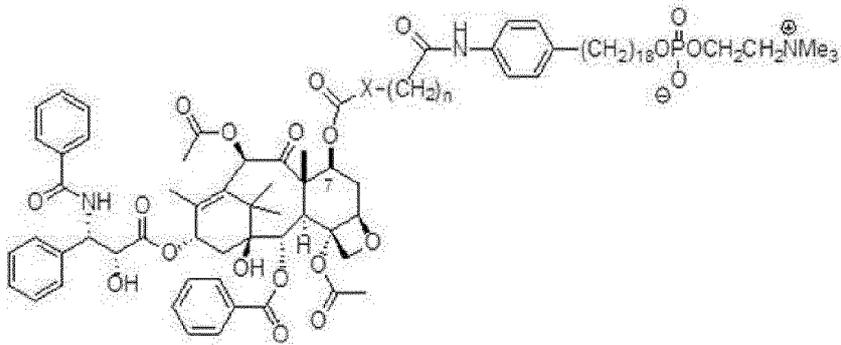
;



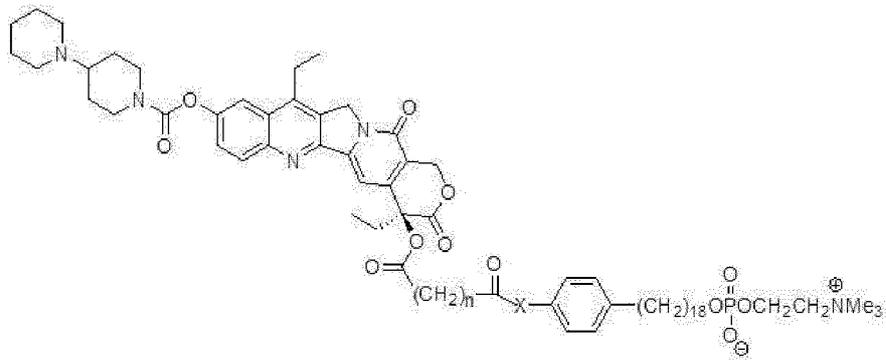
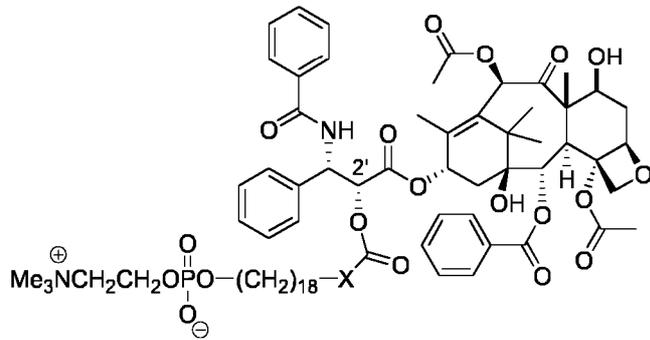
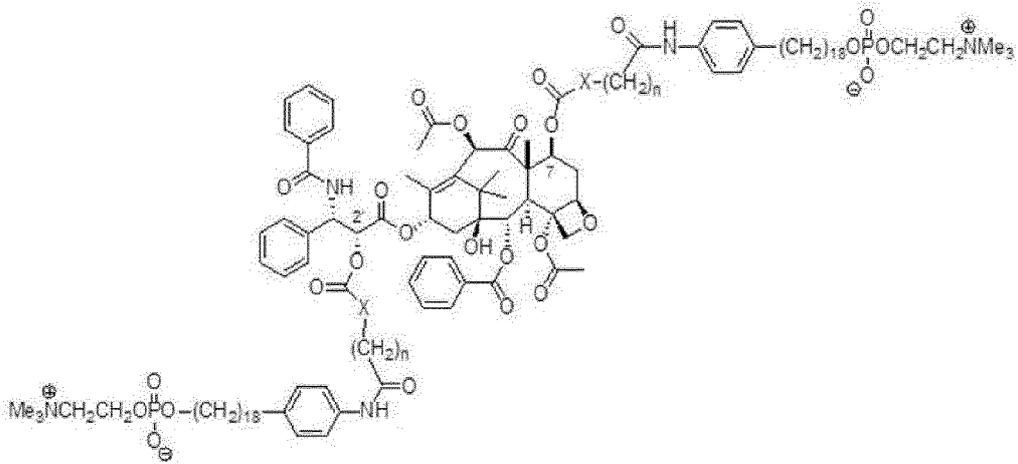
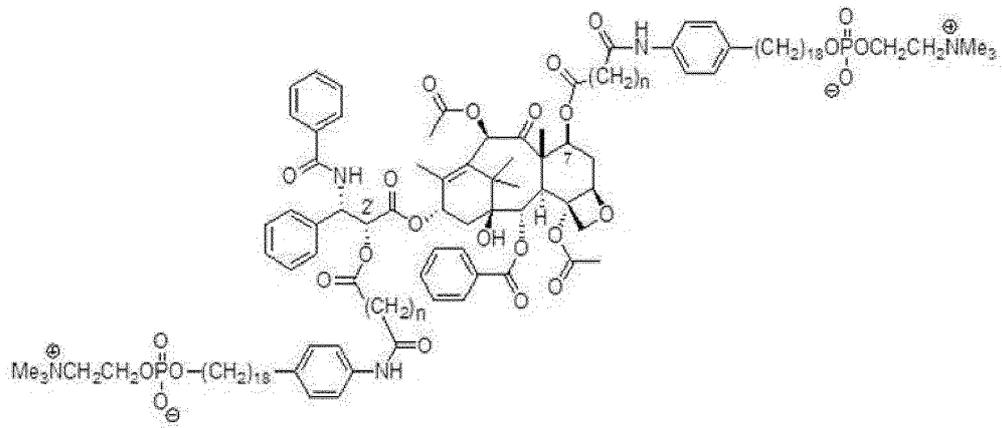
;

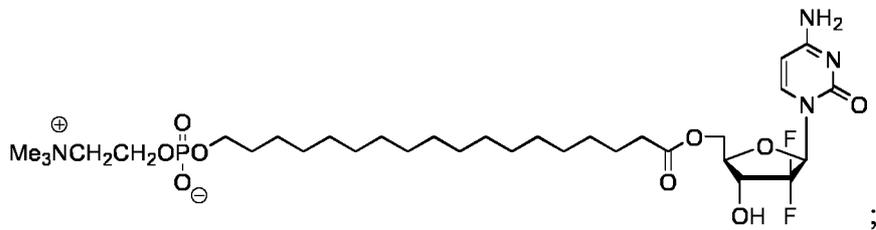
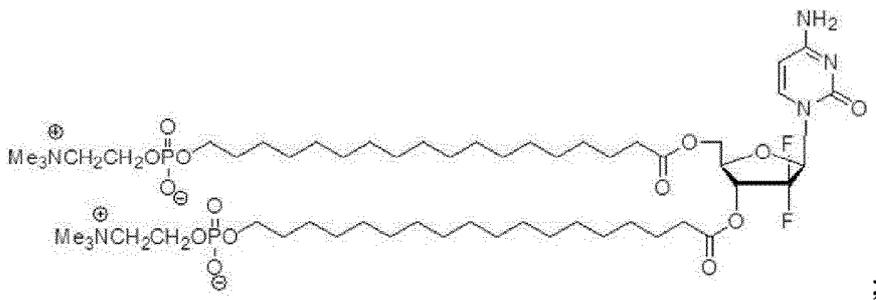
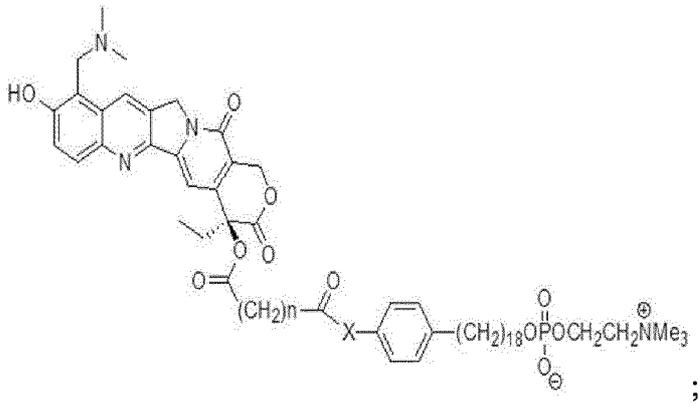
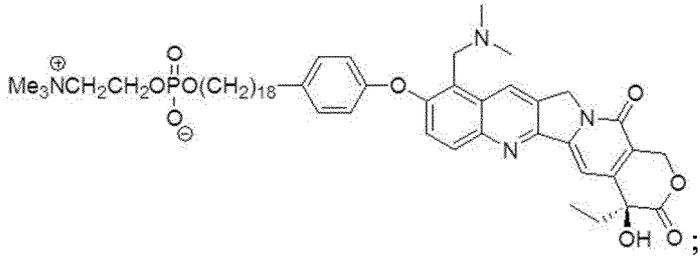
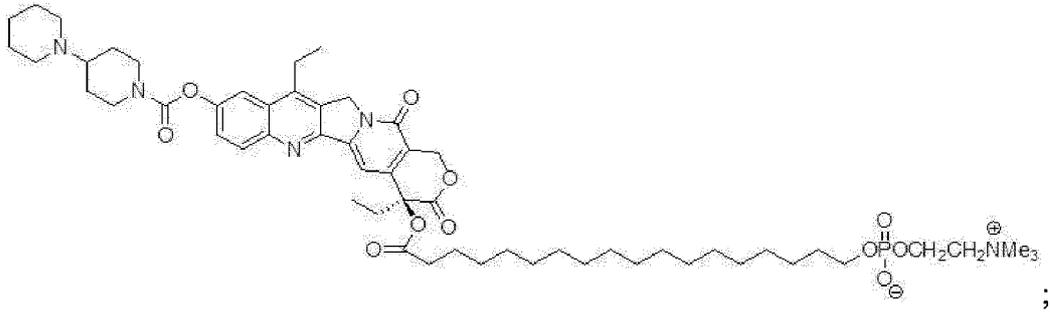


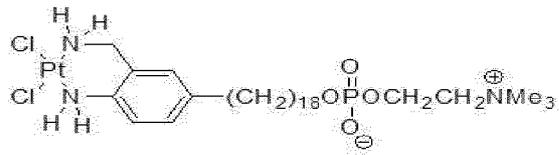
;



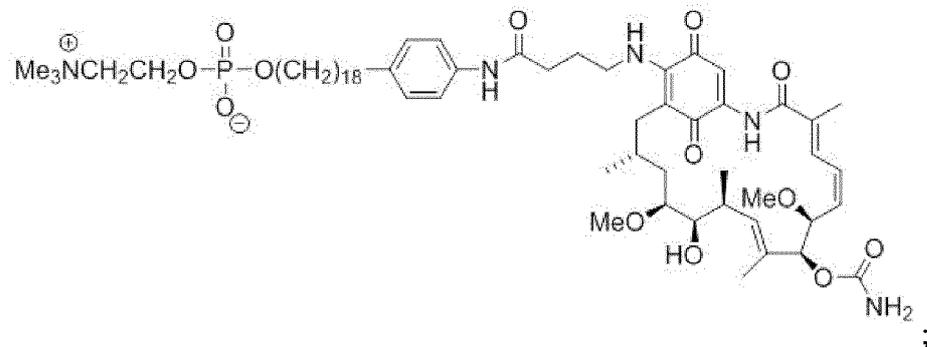
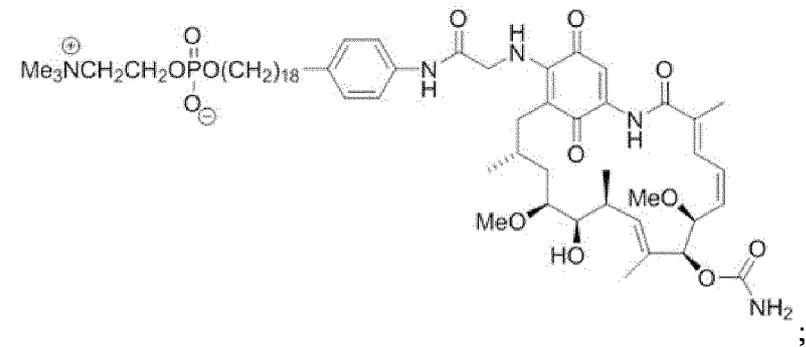
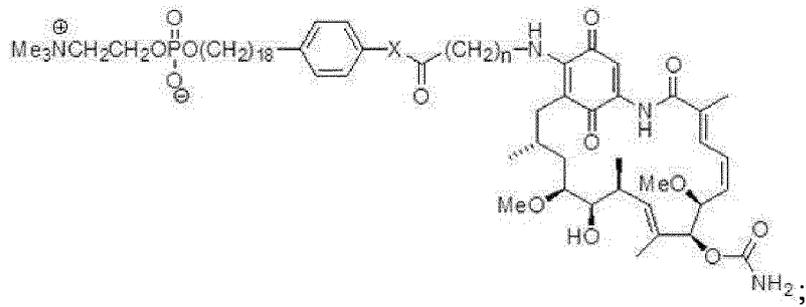
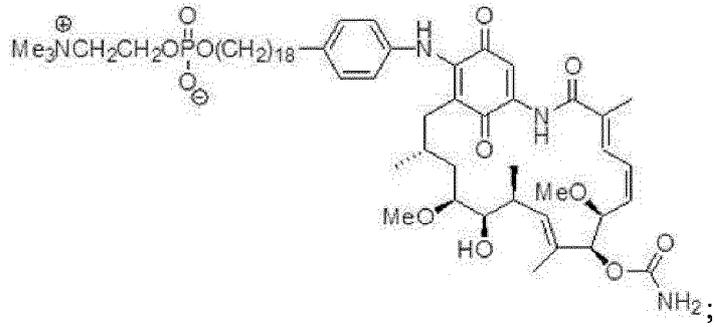
;

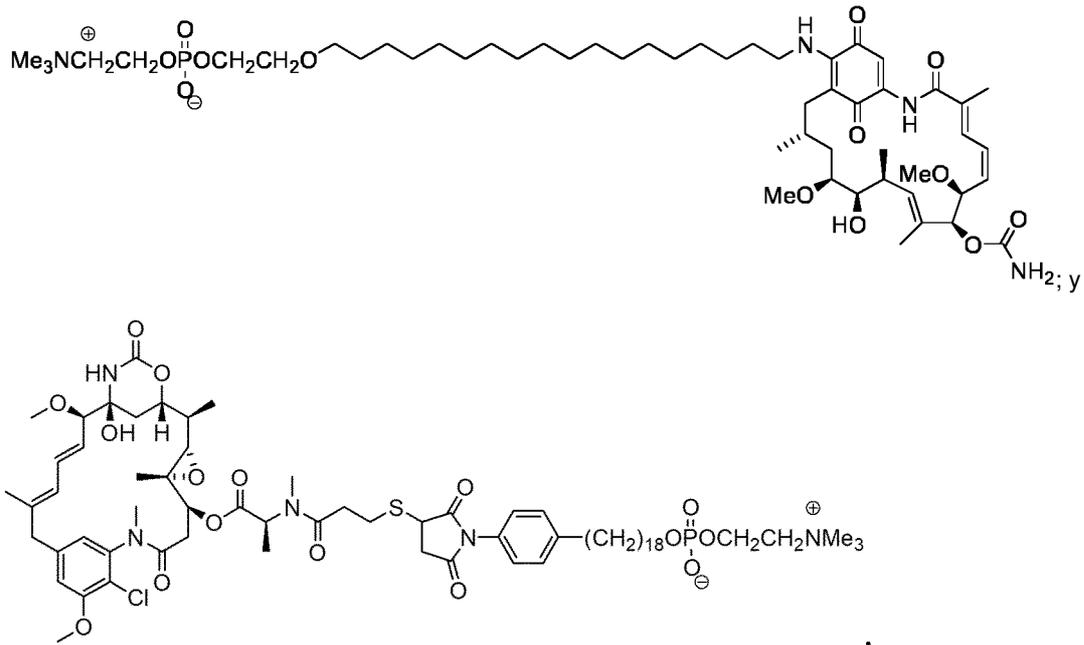






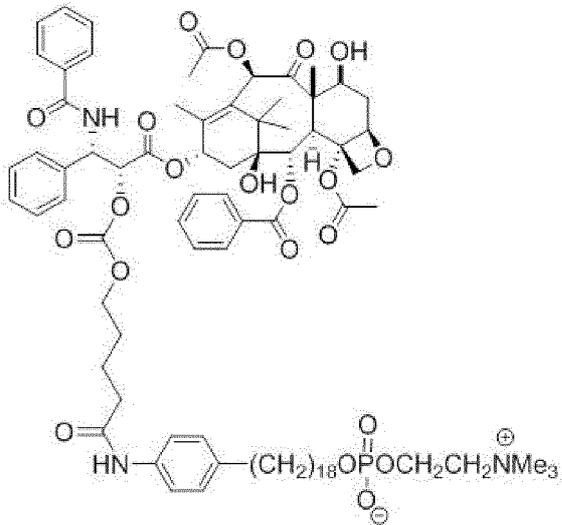
;





en donde n es un número entero de 0 a 6 y X es O o NH.

8. Un compuesto terapéutico de Fórmula (V),



5

(V).

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto terapéutico de las reivindicaciones 1, 7 o 8 y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.

10. Un compuesto terapéutico de las reivindicaciones 1, 7 o 8 para el uso en el tratamiento del cáncer.

10 11. Un compuesto terapéutico para el uso según la reivindicación 10, en donde el cáncer comprende células madre cancerosas.

12. Un compuesto terapéutico para el uso según la reivindicación 10, en donde el cáncer es recurrente.

Fig. 1

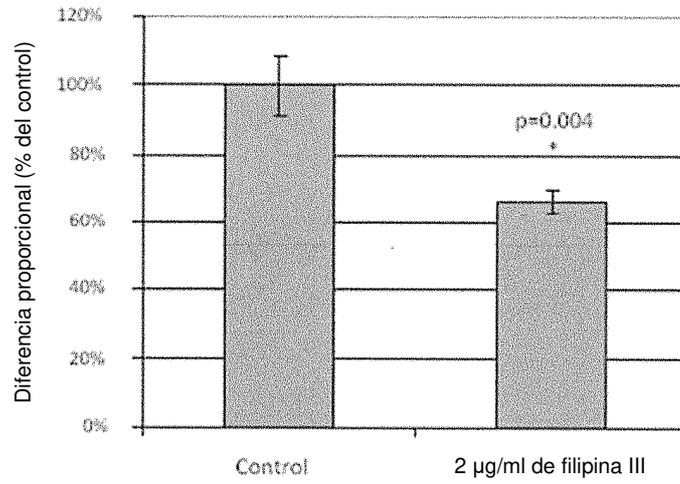


Fig. 2

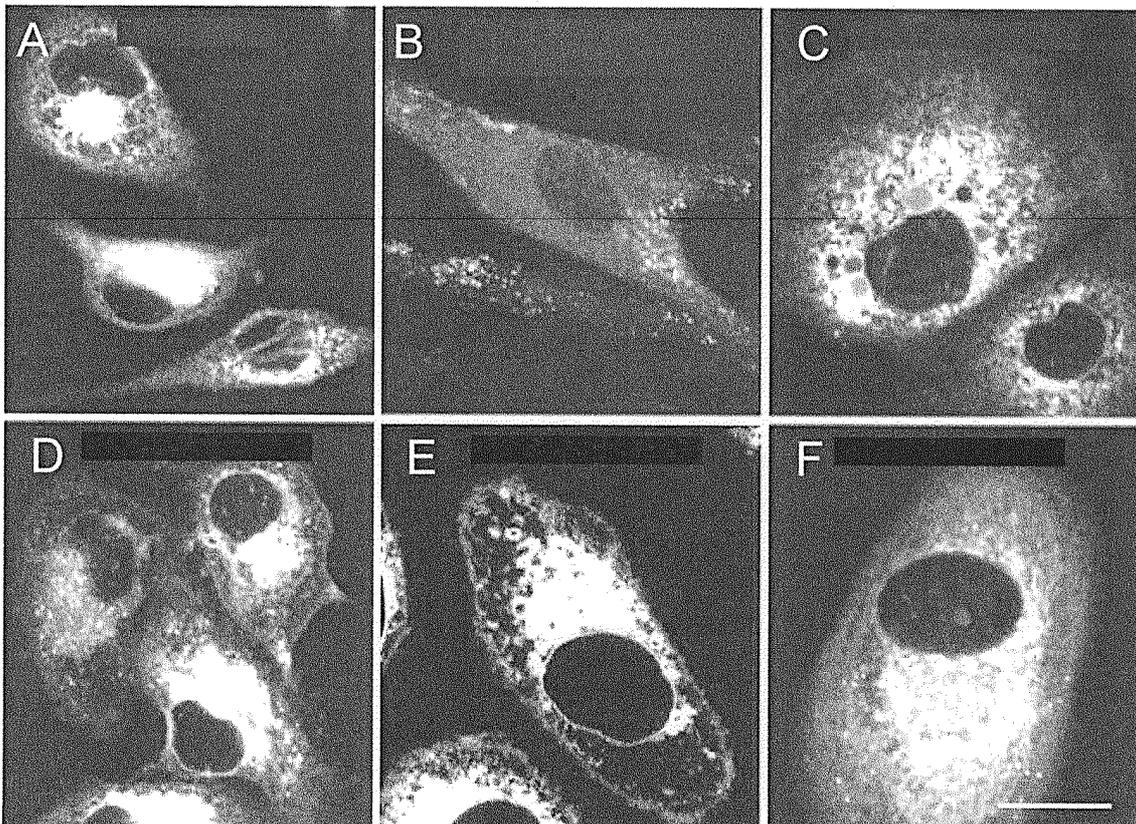


Fig. 3

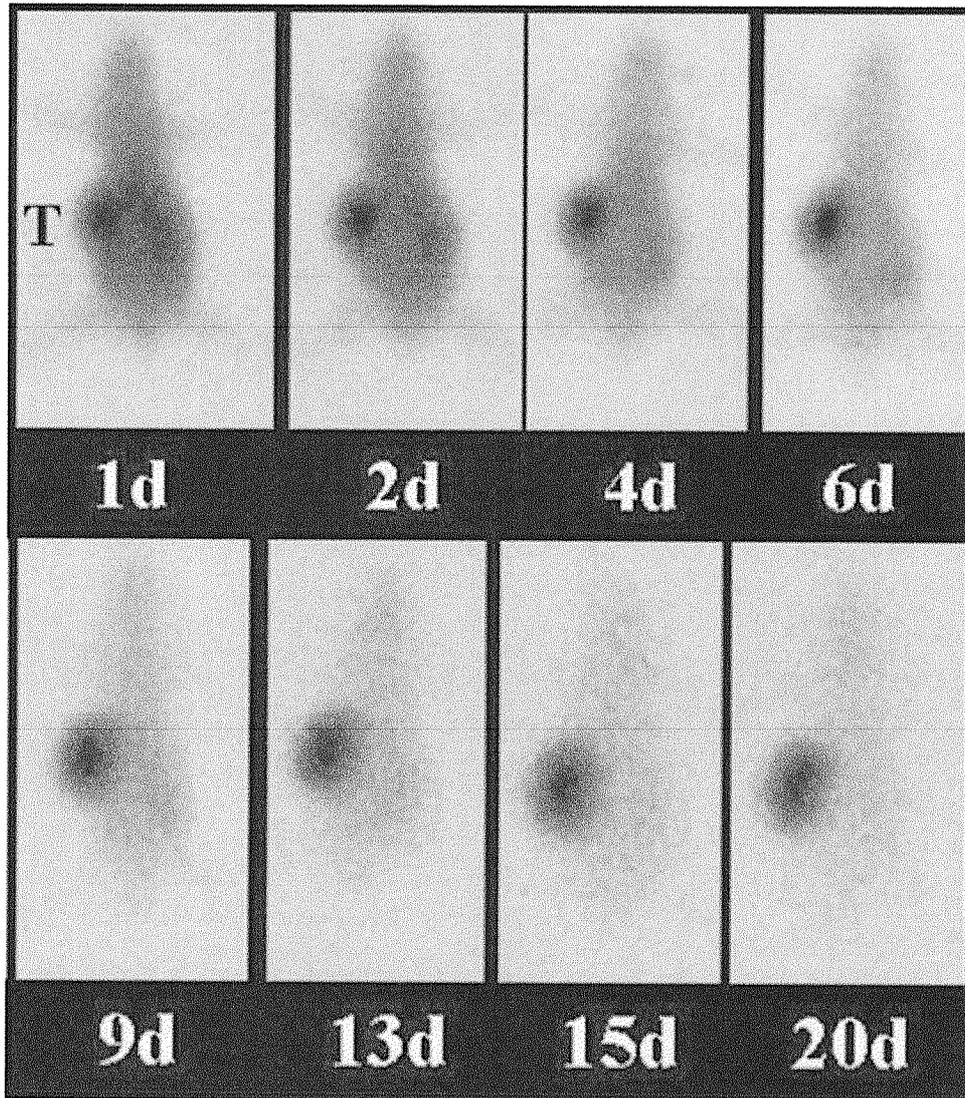


Fig. 4

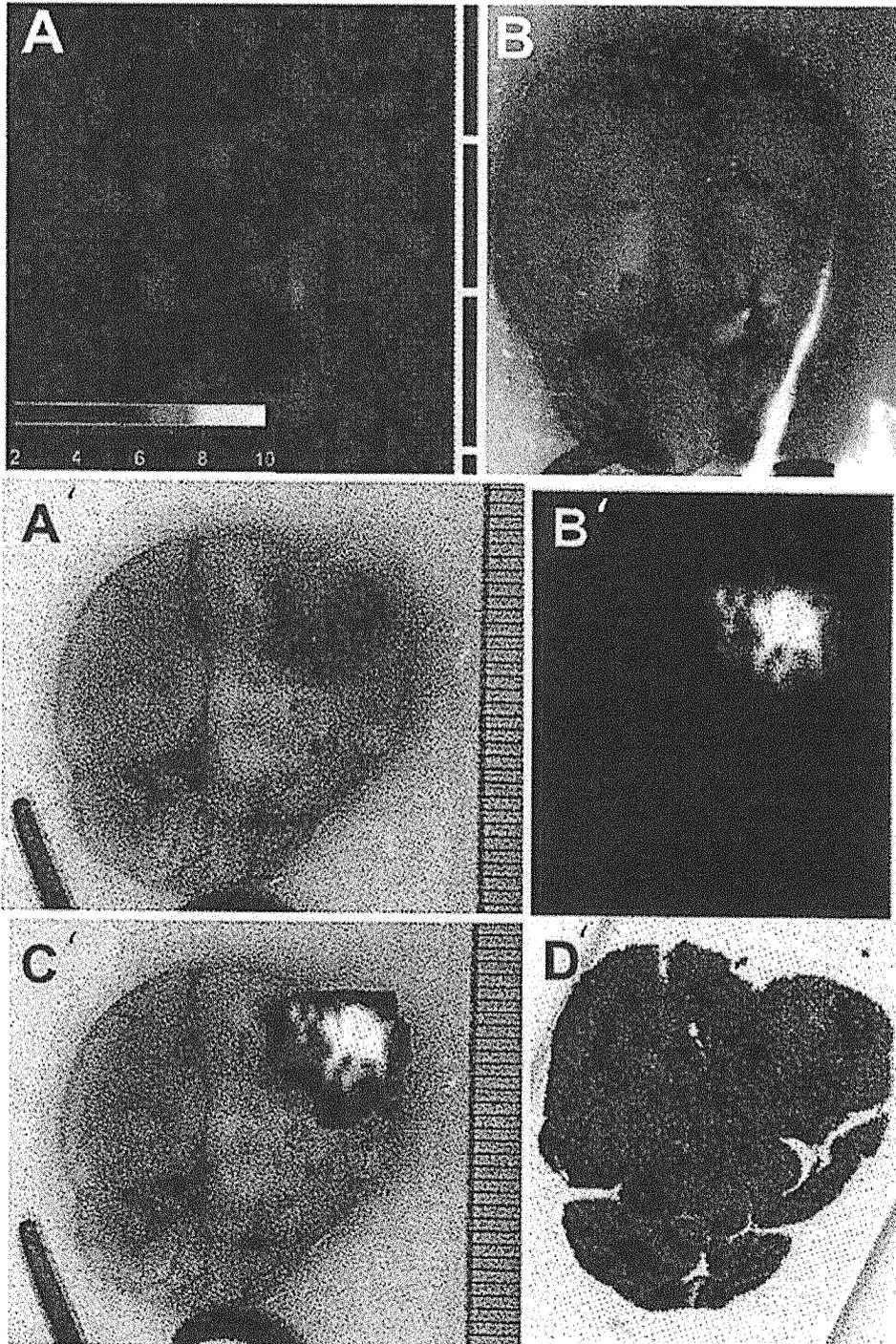


Fig. 5

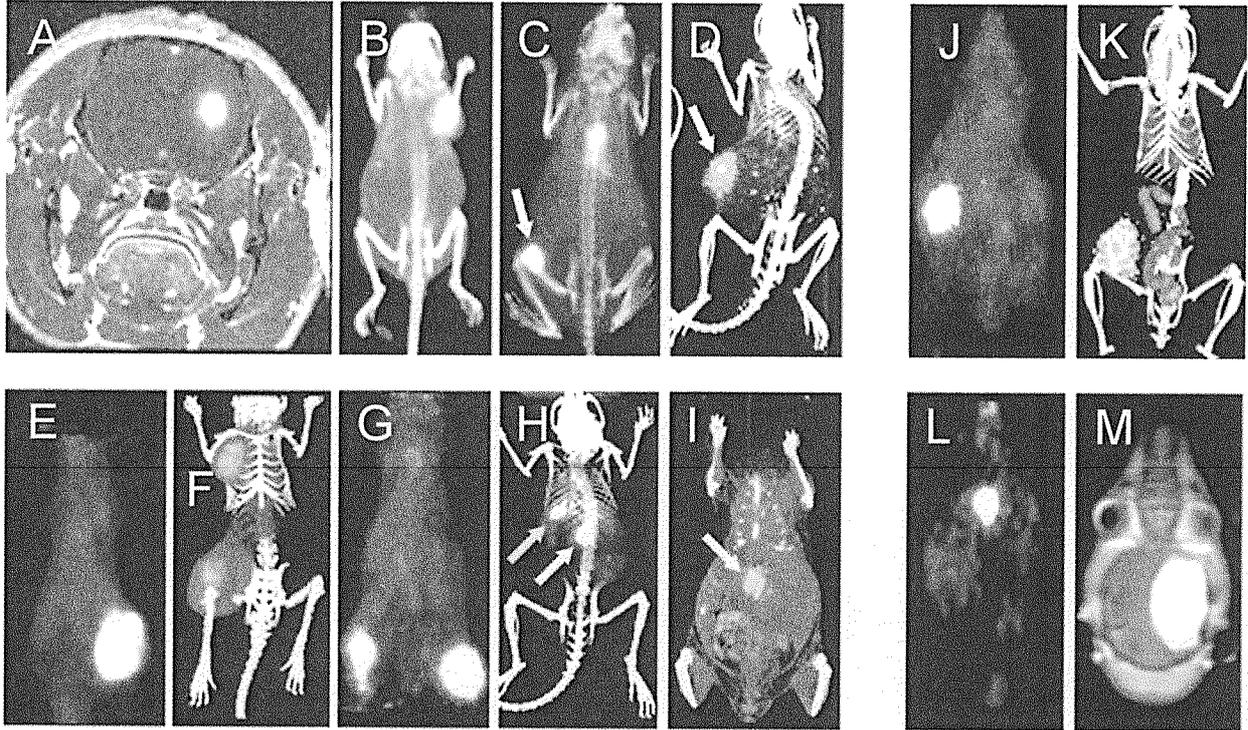


Fig. 6

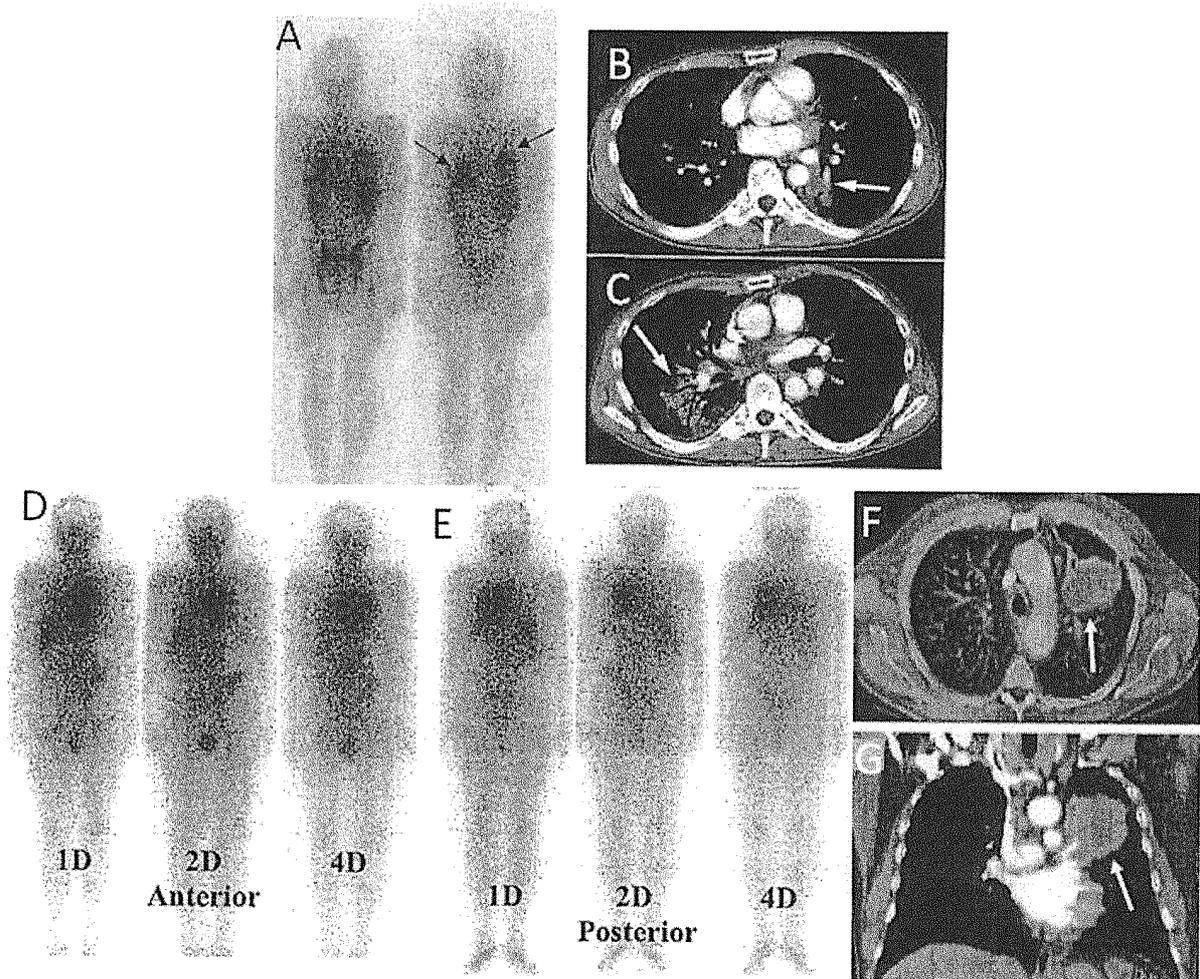


Fig. 7

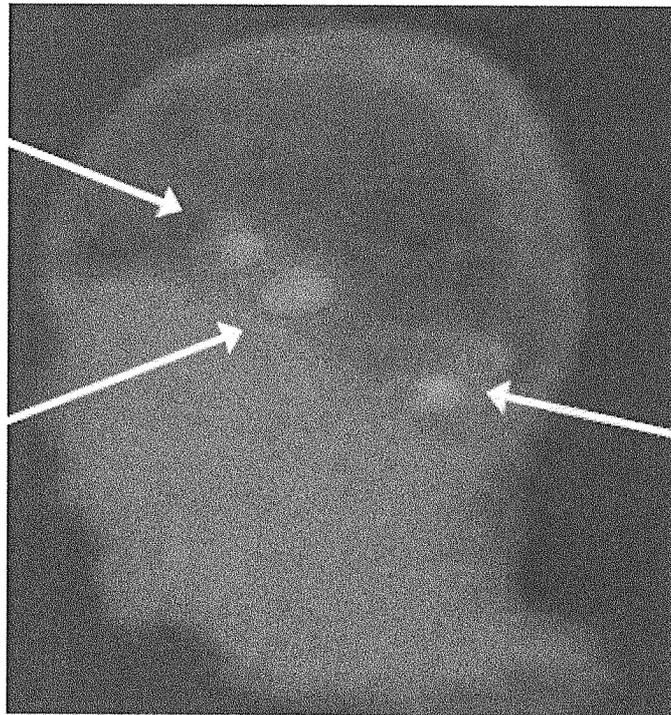


Fig. 8

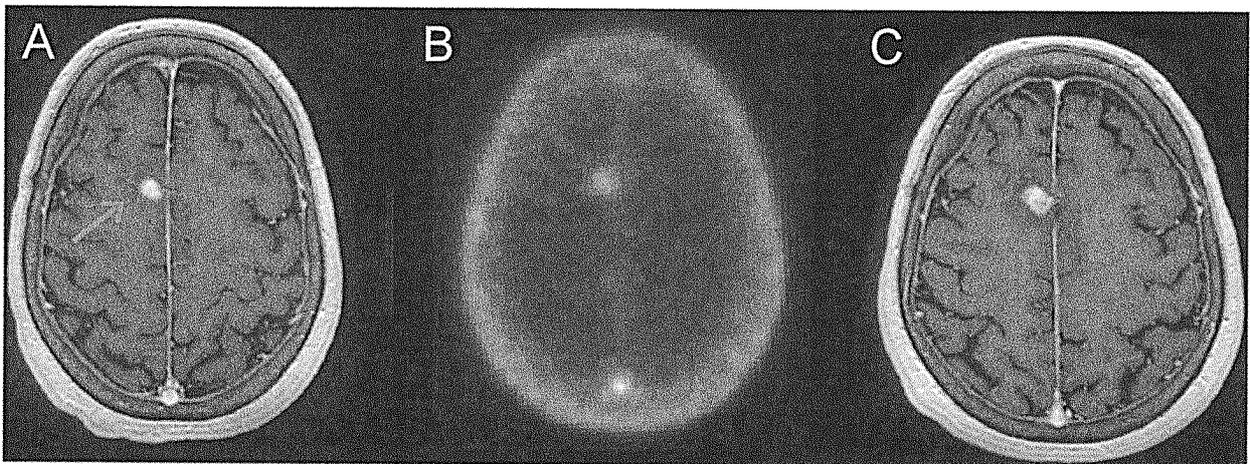


Fig. 9

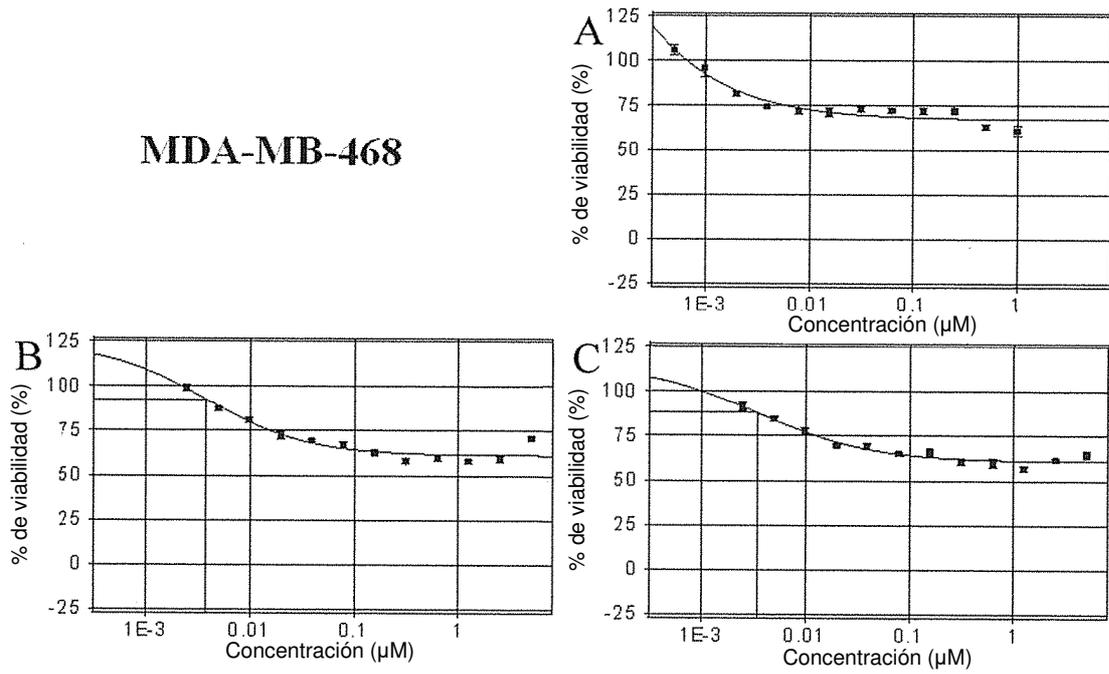


Fig. 10

NCI-H1299

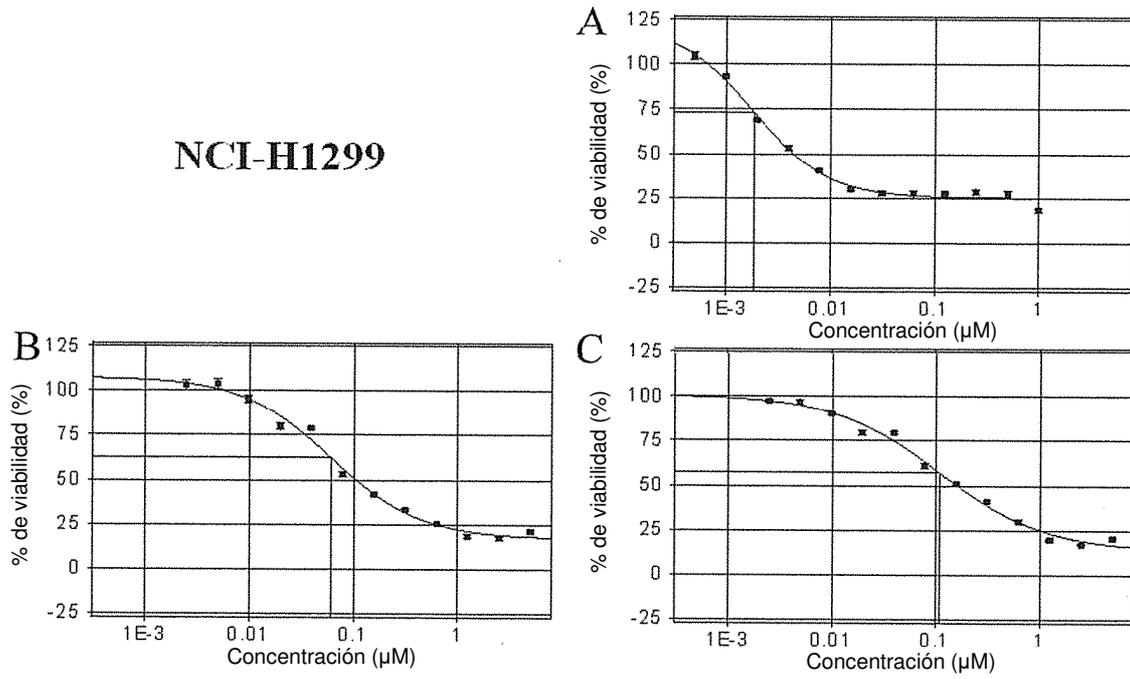


Fig. 11

NCI-H460

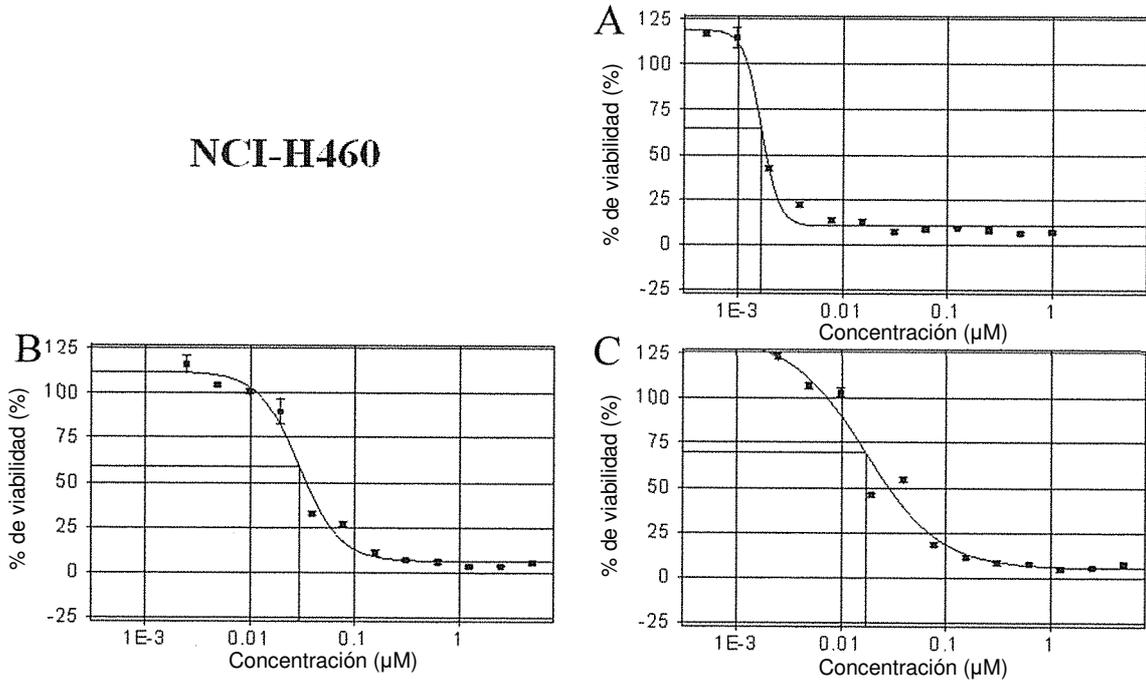


Fig. 12

Capan-2

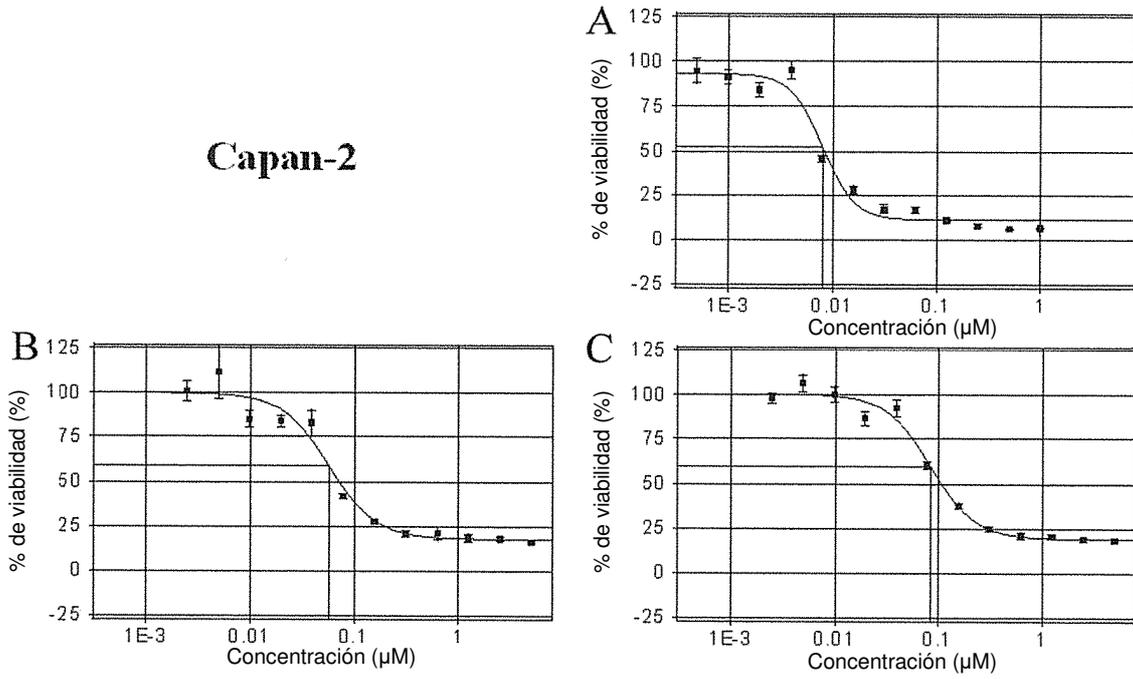


Fig. 13

MiaPaCa-1

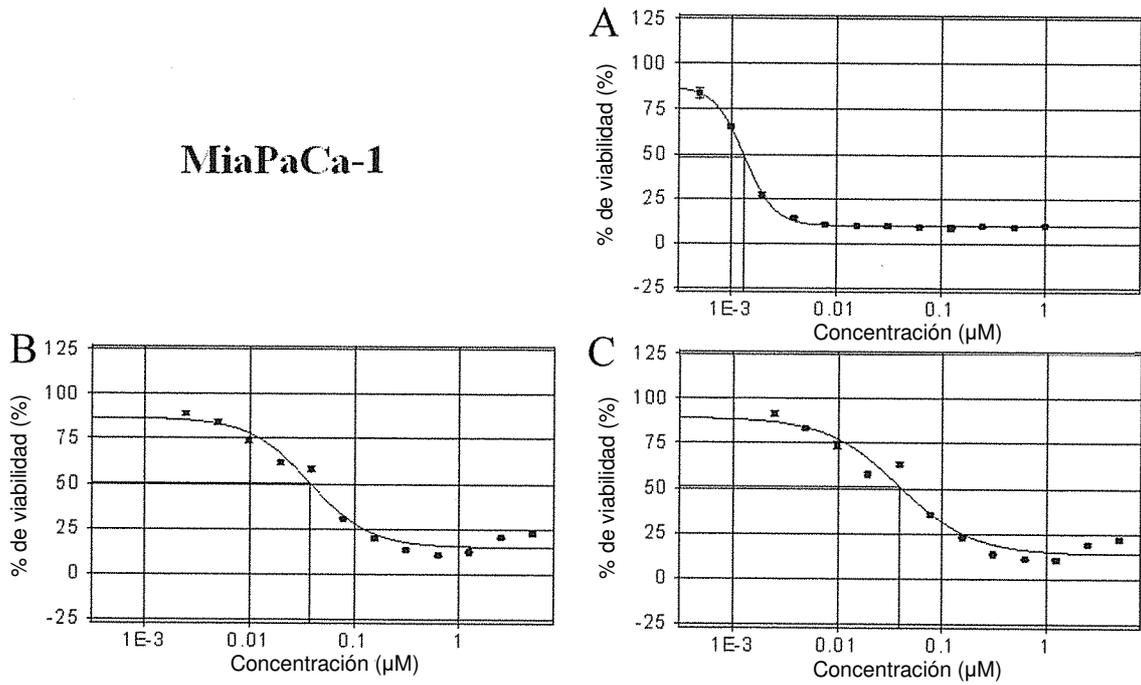


Fig. 14

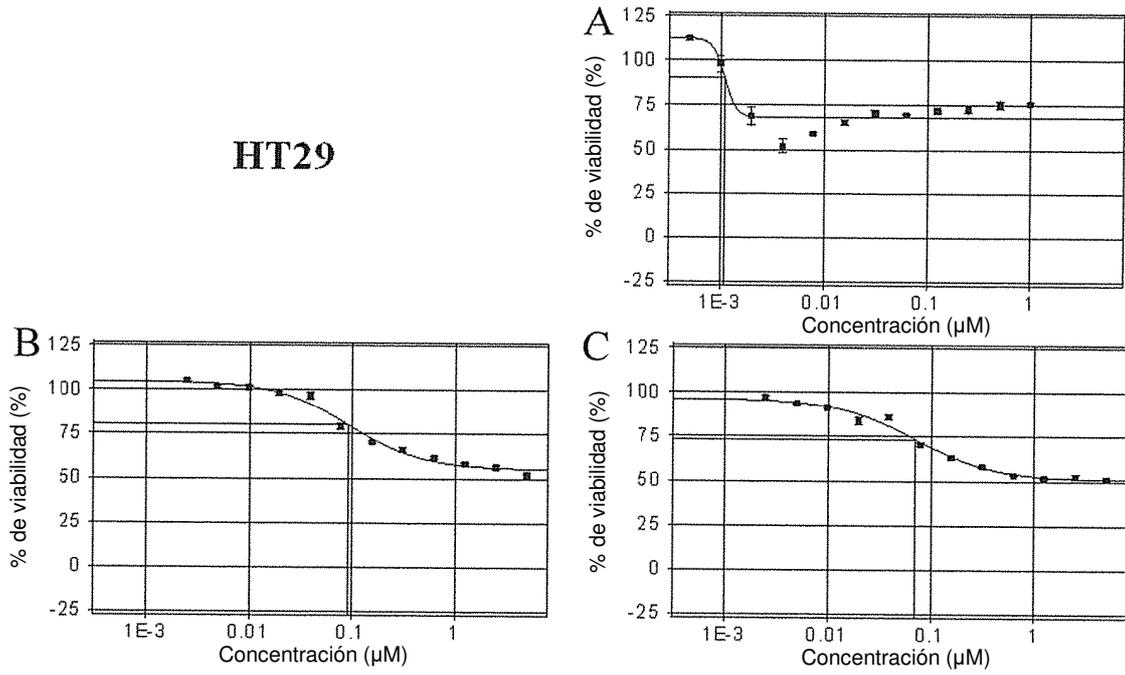


Fig. 15

HCT116

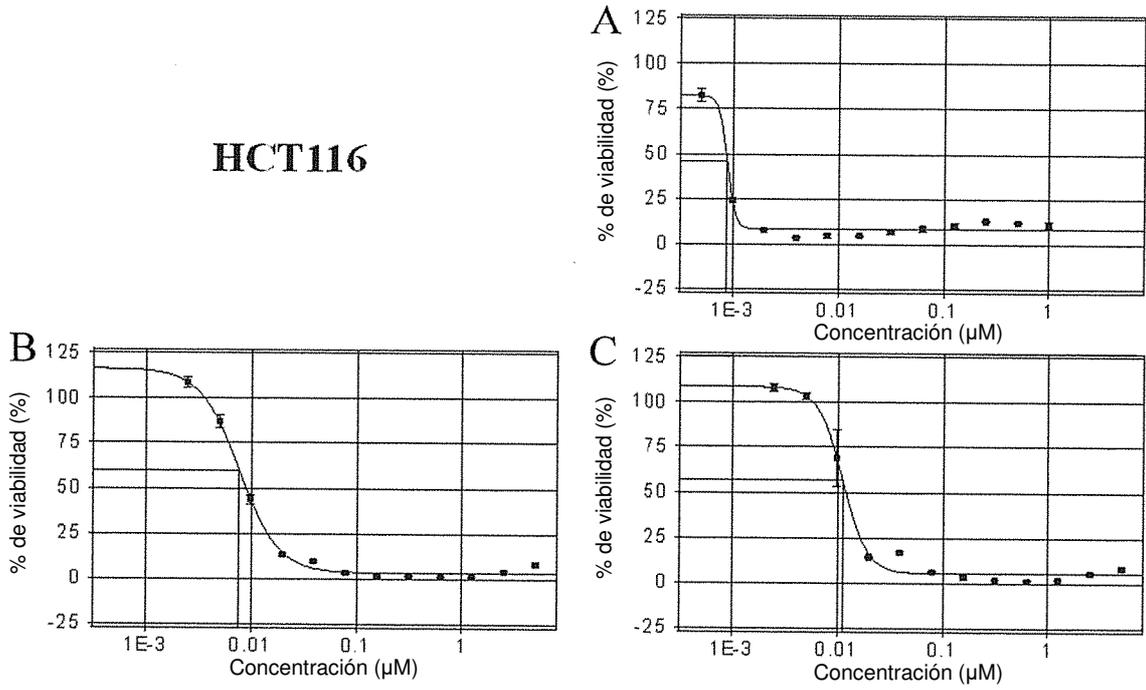


Fig. 16

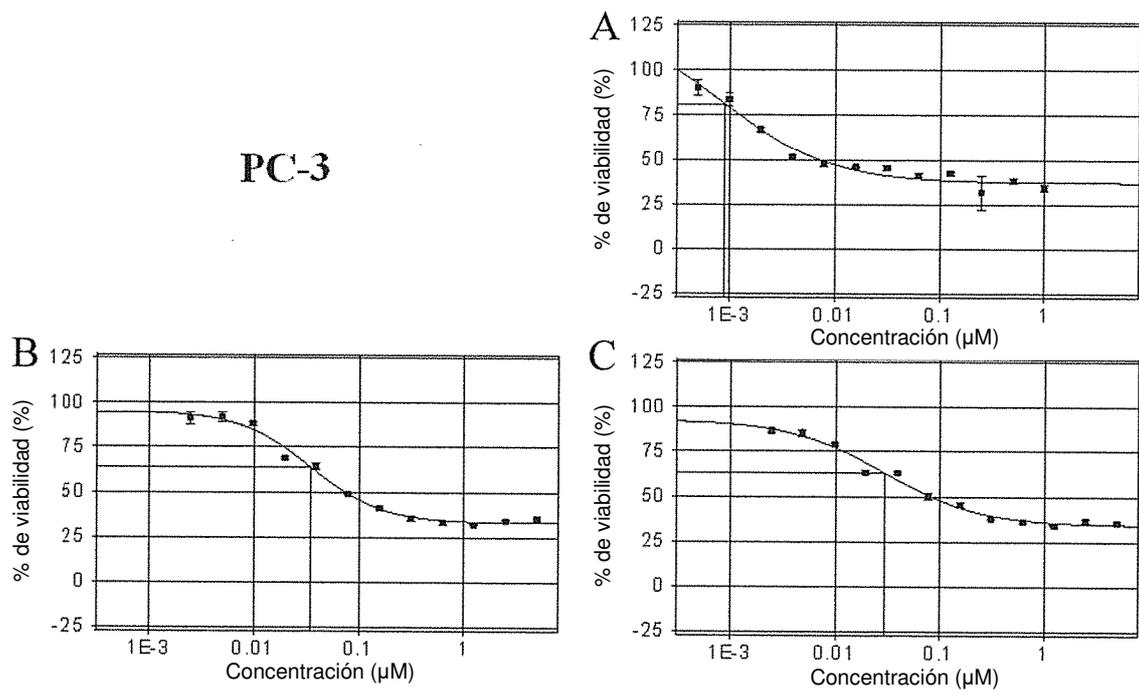


Fig. 17

