

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 951 596**

(51) Int. Cl.:

A61K 47/54 (2007.01) **A61K 31/7068** (2006.01)
A61K 47/64 (2007.01) **A61P 29/00** (2006.01)
A61K 31/337 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)
A61K 31/4375 (2006.01)
A61K 31/4545 (2006.01)
A61K 31/517 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/69 (2006.01)
A61K 31/704 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2015 PCT/US2015/035798**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.12.2015 WO15192123**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2015 E 15807049 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.07.2023 EP 3154594**

(54) Título: **Agentes terapéuticos activados por FAP y usos relacionados con los mismos**

(30) Prioridad:

13.06.2014 US 201462011989 P
16.09.2014 US 201462051033 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.10.2023

(73) Titular/es:

BACH BIOSCIENCES, LLC (100.0%)
31 Echo Landing
Moultonborough, NH 03254, US

(72) Inventor/es:

BACHOVCHIN, WILLIAM, W.;
LAI, HUNG-SEN;
SANFORD, DAVID, G.;
POPLAWSKI, SARAH, E. y
WU, WENGEN

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

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

ES 2 951 596 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

Agentes terapéuticos activados por FAP y usos relacionados con los mismos

Aplicaciones relacionadas

Esta aplicación reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de los Estados Unidos No. 62/051,033, presentada el 16 de septiembre de 2014, y la Solicitud de Patente Provisional de Estados Unidos No. 62/011,989, presentada el 13 de junio de 2014.

Antecedentes

El cáncer se caracteriza por la proliferación celular sin regulación normal por señales externas, y el potencial de hacer metástasis e invadir otros tejidos. Durante muchos años, la quimioterapia ha sido el pilar del tratamiento de diversos tipos de cáncer. La quimioterapia convencional funciona esencialmente envenenando las células que se dividen rápidamente. Como tal, tiene una selectividad relativamente baja para las células cancerosas. *per se*, resultando en los efectos secundarios familiares de pérdida de cabello, diarrea y otras formas de malestar gastrointestinal y supresión de la médula. Tales efectos secundarios fuera del objetivo con frecuencia se vuelven limitantes de la dosis y, por lo general, imponen una restricción en la eficacia del tratamiento.

Por ejemplo, la doxorrubicina, también conocida como hidroxidaunorrbicina, es un fármaco que se usa en la quimioterapia contra el cáncer. Es un antibiótico de antraciclina, estrechamente relacionado con el producto natural daunomicina. Como todas las antraciclinas, funciona mediante la intercalación del ADN, y el efecto adverso más grave es el daño cardíaco potencialmente mortal. La doxorrubicina se usa comúnmente en el tratamiento de una amplia gama de cánceres, incluidas las neoplasias malignas hematológicas, muchos tipos de carcinoma y sarcomas de tejidos blandos.

La terapia contra el cáncer mejoraría mucho si se dirigiera selectivamente a las células cancerosas. Se han propuesto y desarrollado muchos enfoques con el objetivo de lograr el direccionamiento selectivo de los agentes de tratamiento del cáncer. Por ejemplo, los agentes citotóxicos se han unido a anticuerpos monoclonales y fragmentos específicos de antígenos de los mismos que son capaces de unirse específicamente a ciertos antígenos tumorales.

El efecto de la doxorrubicina liposomal dirigida al folato (FTL-Dox) ha sido bien caracterizado en tumores que sobreexpresan el receptor de folato (FR) *in vitro*, particularmente en células de carcinoma humano KB. Riviere et al. J Drug Targeting 19(1):14-24 (2011) investigaron la actividad antitumoral de FTL-Dox inyectado por vía intravenosa en ratones con tumores KB. A los ratones se les administró una única inyección intravenosa de Dox libre, Dox liposomal PEGilado no dirigido (PL-Dox) o FTL-Dox. FTL y PL se acumularon de manera similar en el tejido tumoral, a pesar de la eliminación más rápida de FTL de la circulación. Los ratones tratados con FTL-Dox (20 mg/kg) mostraron una mayor inhibición del crecimiento tumoral y casi un 50 por ciento de aumento en la esperanza de vida, en comparación con los ratones que recibieron PL-Dox (20 mg/kg). Riviere et al. llegaron a la conclusión de que, si bien los FTL administrados sistémicamente tienen el potencial de potenciar la administración de fármacos contra el cáncer *in vivo*, su eliminación por los tejidos normales que expresan FR puede tener que ser bloqueada si se quieren obtener los beneficios de la orientación al tumor.

Las proteasas unidas a la membrana han surgido recientemente como mediadores críticos de la tumorigénesis, la angiogénesis y la metástasis. La proteína de activación de fibroblastos alfa (FAP α , o simplemente FAP; EC 3.4.21.-), también conocida como seprasa o gelatinasa unida a la membrana del melanoma de 170 kDa, es una proteína de membrana integral homodimérica que pertenece a la familia de las serina proteasas. Scanlan et al. (1994) Proc Natl Acad Sci USA 91:5657-61; y WO 97/34927.

Los tejidos adultos normales generalmente no expresan cantidades detectables de FAP. Por el contrario, FAP se expresa en fibroblastos estromales reactivos de cánceres epiteliales, tejido de granulación de heridas en procedimiento de cicatrización y células malignas de sarcomas óseos y de tejidos blandos. Se cree que la FAP está implicada en el control del crecimiento de fibroblastos o en las interacciones epiteliales-mesenquimatosas durante el desarrollo, la reparación de tejidos y la carcinogénesis epitelial. Significativamente, los tipos más comunes de cánceres epiteliales, que incluyen más del 90 por ciento de los carcinomas de mama, pulmón de células no pequeñas y colorrectal, contienen fibroblastos estromales que expresan FAP. Scanlan et al. Proc Natl Acad Sci USA 91:5657-61 (1994). Debido a que en adultos su expresión está restringida a sitios patológicos, incluidos el cáncer, la fibrosis, la artritis, las heridas y la inflamación, la FAP puede proporcionar especificidad de diana a los agentes terapéuticos.

La Patente de los Estados Unidos No. 6,613,879 de Firestone et al. divulga un profármaco que es capaz de convertirse en un fármaco citotóxico o citostático mediante la acción catalítica de FAP humana. El profármaco incluye un sitio de escisión que es reconocido por FAP.

La Publicación PCT WO 2013/033396 divulga un profármaco de un inhibidor de proteasoma activado por FAP, en el que el inhibidor de proteasoma está unido a un sustrato de FAP, de modo que cuando el inhibidor de proteasoma se libera del profármaco como resultado de la escisión por FAP, el inhibidor de proteasoma inhibe la actividad proteolítica de un proteasoma con una Ki de 500 nM o menos.

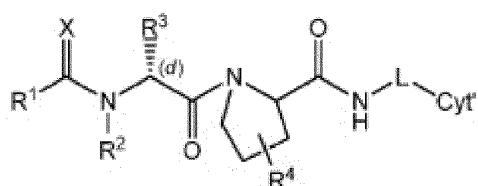
El documento WO 2013/033396A2 se refiere a inhibidores de proteasoma, profármacos de inhibidores de proteasoma activados por FAP y sales farmacéuticamente aceptables de los inhibidores y profármacos. El documento US 2003/232742 A1 se refiere a un profármaco que es capaz de convertirse en un fármaco mediante la acción catalítica de la proteína de activación de fibroblastos humanos (FAPalfa). Estados Unidos 6613879 B1 se refiere a un profármaco que es capaz de convertirse en un fármaco mediante la acción catalítica de la proteína de activación de fibroblastos humanos (FAPalfa).

5

Sumario de la invención

La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier tema que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos.

10 En un primer aspecto de la invención, se proporciona un profármaco como se define en la reivindicación 1: Un profármaco representado por la fórmula general



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

15 R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁.C₁₀), alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)- alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilo alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), en la que cualquier R¹ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R³ representa alquilo (C₁-C₆);

20 R⁴ está ausente o representa un alquilo (C₁-C₆), -OH, -NH₂, o uno o dos halógenos;

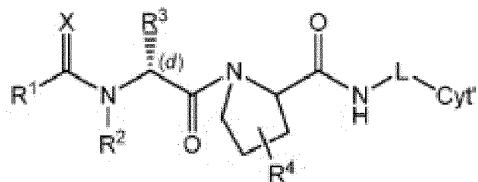
X representa O o S;

Cyt' representa una unidad estructural de antraciclina; y

L representa un enlace o -N(H)-L representa un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar la unidad estructural de antraciclina,

25 en la que el profármaco se convierte selectivamente en una antraciclina activa por células estromales FAP⁺.

En un segundo aspecto de la invención, se proporciona un profármaco como se define en la reivindicación 2: Un profármaco representado por la fórmula general



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

30 R¹ representa heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R³ es metilo;

R⁴ está ausente;

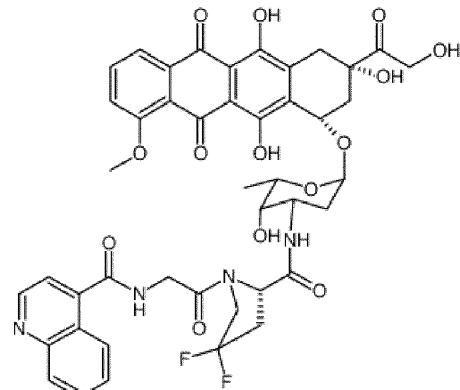
35 X es O;

Cyt' representa una unidad estructural de antraciclina; y

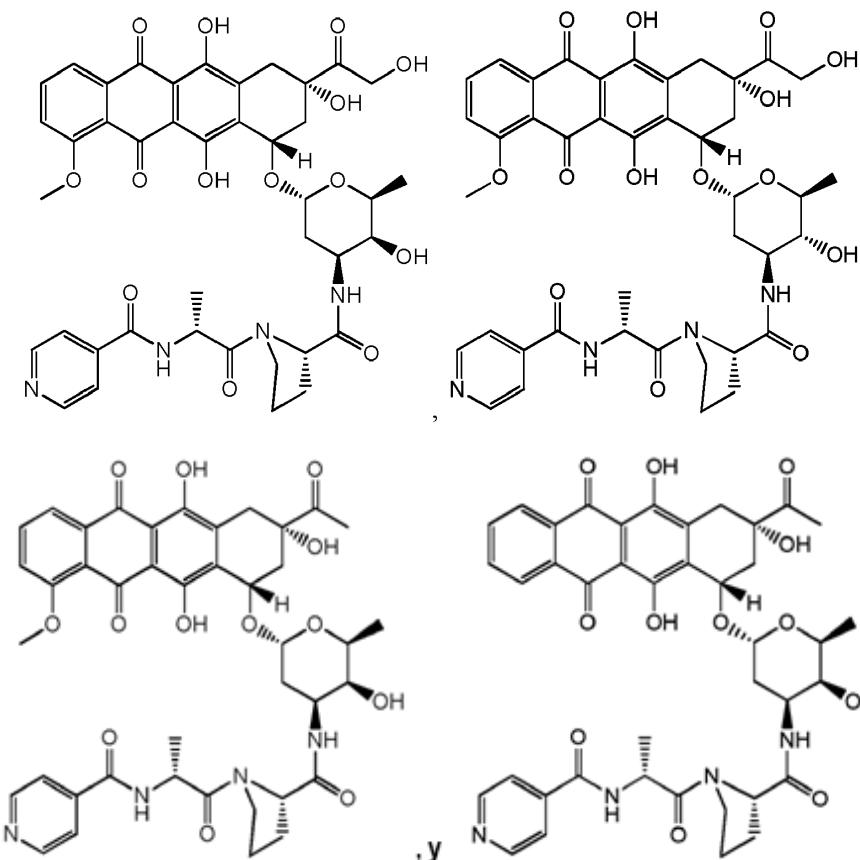
L representa un enlace o -N(H)-L representa un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar la unidad estructural de antraciclina,

en la que el profármaco se convierte selectivamente en una antraciclina activa por células estromales FAP⁺.

En un tercer aspecto de la invención, se proporciona un profármaco como se define en la reivindicación 4: Un profármaco representado por la fórmula:



En un cuarto aspecto de la invención, se proporciona un profármaco como se define en la reivindicación 5: Un profármaco seleccionado del grupo que consiste en:



La solicitud se refiere en general a profármacos de diversos agentes, cuyos profármacos son escindidos selectivamente por la proteína activadora de fibroblastos (FAP) para liberar los agentes. La solicitud se refiere a profármacos de agentes terapéuticos, tales como compuestos citotóxicos y citostáticos, que son escindidos y activados selectivamente por la proteína activadora de fibroblastos (FAP). La solicitud se refiere a profármacos de agentes de formación de imágenes que se escinden selectivamente mediante FAP para liberar un agente de formación de imágenes funcional que se acumulará en las proximidades de la activación de FAP.

La solicitud proporciona un profármaco para la liberación de un agente dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente a través de un enlace o un

enlazante autoinmolativo. Tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el profármaco libera el agente en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa.

La solicitud proporciona un profármaco para la liberación de un agente dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo, en el que el agente es un fármaco. Tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el

5 profármaco libera el agente en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa. El profármaco tiene menos de 50 % de la actividad terapéutica de la forma activa del agente, y más preferiblemente menos de 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso 98 %. El sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por prolil endopeptidasa (EC3.4.21.26; PREP), e incluso más preferiblemente al menos 100 veces, 1000 veces, 5000 veces o incluso 10,000 veces mayor k_{cat}/K_m . En ciertas realizaciones, el profármaco se puede caracterizar además por una o más de las siguientes características:

• el profármaco tiene un índice terapéutico que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente solo, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor;

10 • un mayor porcentaje del agente activo se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del agente solo, cuando se compara sobre una base de dosis equivalente, es decir, la proporción de agente activo localizado en el tejido diana en relación con otro tejido (tal como sangre, hígado o corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;

15 • la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;

20 • la permeabilidad celular del profármaco es al menos un 50 % menor que la permeabilidad celular del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o

25 • la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.

En la solicitud, el fármaco comprende una amina libre a la que se puede acoplar directamente el sustrato de FAP mediante un enlace covalente con el carbonilo C-terminal de la unidad estructural del sustrato de FAP, para crear un enlace amida entre las dos unidades estructurales; o al que se puede acoplar un enlazante autoinmolativo como puente entre el sustrato de FAP y las unidades estructurales del agente.

30 En la solicitud, la unidad estructural del agente comprende un grupo funcional distinto de una amina a la que se puede acoplar un enlazante autoinmolable, o que de otro modo puede formar un enlace con el carbonilo C-terminal del sustrato FAP, cuyo enlace covalente resultante puede ser escindido por FAP.

35 En ciertas realizaciones, el sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por al menos una enzima de mamíferos "homólogos de estructura y/o actividad DPP IV" (DASH), tal como DPP-2, DPP-4, DPP-7, DPP-8, y/o DPP-9, y aún más preferiblemente al menos 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor.

La solicitud proporciona un profármaco para la liberación dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP) de un agente farmacológico activo, que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente farmacológico a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo. Tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el

40 fármaco se libera en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa. El profármaco tiene menos de 50 % de la actividad terapéutica de la forma activa del fármaco, y más preferiblemente menos de 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso 98 %. El sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por prolil endopeptidasa (EC 3.4.21.26; PREP), e incluso más preferiblemente al menos 100 veces, 1000 veces, 5000 veces o incluso 10,000 veces mayor k_{cat}/K_m . En ciertas realizaciones, el profármaco se puede caracterizar además por una o más de las siguientes características:

45 • el profármaco tiene un índice terapéutico que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor;

50 • un mayor porcentaje del fármaco activo se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del fármaco solo, en comparación con una base de dosis equivalente, es decir, la proporción del fármaco activo localizado en el tejido diana en relación con otro tejido (tal como la sangre, el hígado o el corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;

• la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;

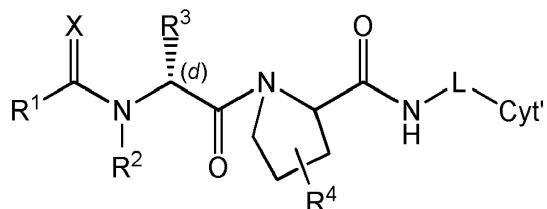
- la permeabilidad celular del profármaco es al menos un 50 % menor que la permeabilidad celular del agente, e incluso más preferiblemente al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o
 - la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.
- 5 En la solicitud, el fármaco comprende una amina libre a la que se puede acoplar directamente el sustrato de FAP mediante un enlace covalente con el carbonilo C-terminal de la unidad estructural del sustrato de FAP, para crear un enlace amida entre las dos unidades estructurales; o al que se puede acoplar un enlazante autoinmolativo como puente entre el sustrato de FAP y las unidades estructurales del agente farmacológico.
- 10 En la solicitud, la unidad estructural del fármaco comprende un grupo funcional distinto de una amina al que se puede acoplar un enlazante autoinmolable, o que de otro modo puede formar un enlace con el carbonilo C-terminal del sustrato de FAP, cuyo enlace covalente resultante puede ser escindido por FAP.
- 15 En ciertas realizaciones, el sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por al menos otra enzima homóloga de estructura y/o actividad de DPP IV (DASH) de mamíferos, como DPP-2, DPP-4, DPP-7, DPP-8 y/o DPP-9, e incluso más preferiblemente al menos 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10.000 veces mayor.
- 20 En ciertas realizaciones, el sustrato de FAP es un oligopéptido. En ciertas realizaciones, el oligopéptido comprende una prolina C-terminal unida covalentemente al agente, a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo. Preferiblemente, el enlace es un enlace que puede romperse mediante la actividad proteolítica de FAP, por ejemplo, un enlace amida. Preferiblemente un enlazante que contribuya a la especificidad P_{1'} de FAP (es decir, es reconocido por FAP como un residuo P_{1'}). En ciertas realizaciones, el oligopéptido comprende un grupo bloqueante N-terminal.
- 25 En ciertas realizaciones, el profármaco incluye un enlazante autoinmolativo, tal como una unidad estructural heterocíclica autoinmolativo. Los enlazantes autoinmolantes de ejemplo incluyen His-Ala, p-aminobenciloxicarbonilo (PABC) y 2,4-bis(hidroximetil)anilina.
- 30 En la solicitud, el agente es un agente anticancerígeno.
- 35 En la solicitud, el agente no es un péptido ni una unidad estructural peptídica.
- 40 En la solicitud, el agente no es un inhibidor del proteasoma.
- 45 La solicitud proporciona un profármaco para la liberación de un agente dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente mediante un enlace o un enlazante autoinmolativo, en el que el agente es un fármaco citotóxico o citolítico. Tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el agente citotóxico o citolítico se libera en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa. El profármaco tiene menos del 50 % de la actividad terapéutica de la forma activa del agente citotóxico o citolítico solo, y más preferiblemente menos de 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso 98 %. El sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por prolil endopeptidasa (EC 3.4.21.26; PREP), e incluso más preferiblemente al menos 100 veces, 1000 veces, 5000 veces o incluso 10,000 veces mayor k_{cat}/K_m . En ciertas realizaciones, el profármaco se puede caracterizar además por una o más de las siguientes características:
- el profármaco tiene menos de 50 % de la actividad citotóxica o citolítica contra las células tumorales en relación con el agente solo, e incluso más preferiblemente al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, 99.9 %, o incluso 99.99 % menos de actividad citotóxica o citolítica;
 - el profármaco tiene un índice terapéutico para tratar tumores que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente solo, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor que;
 - un mayor porcentaje del agente se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del agente solo, en comparación con una base de dosis equivalente, es decir, la proporción de agente activo localizado en el tejido diana relativo a otro tejido (tal como sangre, hígado o corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
 - la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
 - la permeabilidad celular del profármaco es al menos 50 % menor que la permeabilidad celular del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o

- la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.

- 5 La solicitud proporciona un profármaco para la liberación dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP) de un agente citotóxico o citolítico, que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente farmacológico a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo. Tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el agente citotóxico o citolítico se libera en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa. El profármaco tiene menos de 50 % de la actividad terapéutica de la forma activa del agente citotóxico o citolítico, y más preferiblemente menos de 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 % o incluso 98 %. El sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por prolil endopeptidasa (EC 3.4.21.26; PREP), e incluso más preferiblemente al menos 100 veces, 1000 veces, 5000 veces o incluso 10,000 veces mayor k_{cat}/K_m . En ciertas realizaciones, el profármaco se puede caracterizar además por una o más de las siguientes características:
- 10 • el profármaco tiene menos del 50 % de la actividad citotóxica o citolítica contra las células tumorales en relación con el agente, e incluso más preferiblemente al menos el 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, 99.9 %, o incluso un 99.99 % menos de actividad citotóxica o citolítica;
- 15 • el profármaco tiene un índice terapéutico que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor;
- 20 • un mayor porcentaje del fármaco activo se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del fármaco solo, en comparación con una base de dosis equivalente, es decir, la proporción del fármaco activo localizado en el tejido diana en relación con otro tejido (tal como la sangre, el hígado o el corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
- 25 • la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
- 30 • la permeabilidad celular del profármaco es al menos un 50 % menor que la permeabilidad celular del agente, e incluso más preferiblemente al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o • la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.

Para ilustrar mejor, el agente se selecciona del grupo que comprende antraciclinas

La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula general



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 35 R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₁₀) (por ejemplo, tert-butiloxi), alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilo alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), en la que cualquier R¹ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH); o -C(=X)R¹ representa un residuo de aminoácido alfa bloqueado en el extremo N y X es O;
- 40 R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);
- R³ representa H o un alquilo (C₁-C₆);
- R⁴ está ausente o representa uno, dos o tres sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente del grupo que consiste en alquilo (C₁-C₆), -OH, -NH₂ y halógeno;

X representa O o S;

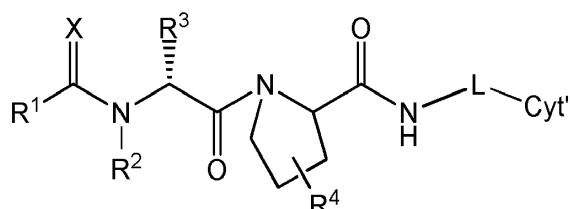
- Cyt', solo o en combinación con -L-NH, representa un compuesto citotóxico o compuesto citostático, menos un átomo de hidrógeno; y
- 5 L representa un anillo de 4 a 8 miembros o un gran grupo hidrofóbico que es parte del compuesto citotóxico o compuesto citostático y es reconocido por FAP como un residuo P'₁; o L es un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar Cyt', en la que el profármaco se convierte selectivamente en el compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺. En ciertas realizaciones, el profármaco se convierte selectivamente *in vivo* al compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺.
- 10 La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula general
-
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:
- R¹ representa una unidad estructural de heteroarilo policíclica;
- R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);
- 15 Cyt', solo o en combinación con -L-NH, representa un compuesto citotóxico o compuesto citostático, menos un átomo de hidrógeno; y
- L representa un anillo de 4 a 8 miembros o un gran grupo hidrofóbico que es parte del compuesto citotóxico o compuesto citostático y es reconocido por FAP como residuo P'₁; o L es un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar Cyt', en la que el profármaco se convierte selectivamente en el compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺. En ciertas realizaciones, el profármaco se convierte selectivamente *in vivo* al compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺.
- 20 La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula general
-
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:
- R¹ representa una unidad estructural de heteroarilo;
- R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);
- 25 Cyt', solo o en combinación con -L-NH, representa un compuesto citotóxico o compuesto citostático, menos un átomo de hidrógeno; y
- L representa un anillo de 4 a 8 miembros o un gran grupo hidrofóbico que es parte del compuesto citotóxico o compuesto citostático y es reconocido por FAP como residuo P'₁; o L es un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar Cyt', en la que el profármaco se convierte selectivamente en el compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺. En ciertas realizaciones, el profármaco se convierte selectivamente *in vivo* al compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺.
- 30 La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula general
-
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:
- R¹ representa una unidad estructural de heteroarilo;
- R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);
- 35 Cyt', solo o en combinación con -L-NH, representa un compuesto citotóxico o compuesto citostático, menos un átomo de hidrógeno; y
- L representa un anillo de 4 a 8 miembros o un gran grupo hidrofóbico que es parte del compuesto citotóxico o compuesto citostático y es reconocido por FAP como residuo P'₁; o L es un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar Cyt', en la que el profármaco se convierte selectivamente en el compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺.

En ciertas realizaciones, el profármaco se convierte selectivamente *in vivo* al compuesto citotóxico o compuesto citostático por células estromales FAP⁺.

En ciertas realizaciones, la invención proporciona profármacos de antraciclinas citotóxicas (tales como doxorrubicina) y otros agentes terapéuticos que son escindidos y activados selectivamente por FAP. En ciertas realizaciones, la invención proporciona profármacos de antraciclinas citotóxicas (tales como la doxorrubicina) y otros agentes terapéuticos que son escindidos y activados selectivamente por FAP en relación con (es decir, pero no por) prolil endopeptidasa EC 3.4.21.26 (PREP).

Sin pretender vincularse a ninguna teoría o mecanismo de acción en particular, los inventores creen que los profármacos no citotóxicos y no citostáticos divulgados en este documento se escinden *in situ* por FAP para liberar compuestos citotóxicos o citostáticos precursores, que luego experimentan una transformación espontánea en compuestos citotóxicos o citostáticos, logrando así la entrega dirigida a las células que expresan FAP de los compuestos citotóxicos o citostáticos.

La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula I



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₁₀) (por ejemplo, tert-butiloxi), alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilo alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), en el que cualquier R¹ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R³ representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R⁴ está ausente o representa un alquilo (C₁-C₆), -OH, -NH₂, o halógeno;

X representa O o S;

L representa un enlace, o -N(H)-L- representa un enlazante autoinmolativo; y

Cyt' representa un residuo de un compuesto citotóxico o compuesto citostático.

Un aspecto de la invención es una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 7, que comprende un profármaco de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

Un aspecto de la invención es un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método de tratamiento de un trastorno caracterizado por la regulación al alza de la proteína de activación de fibroblastos (FAP).

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP se selecciona del grupo que consiste en cáncer (por ejemplo, tumores sólidos), fibrosis e inflamación.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 representa 3099DOX y su activación por FAP.

La figura 2 es un gráfico que representa *in vitro* cinética enzimática de la activación de 3099DOX por FAP y PREP.

La figura 3 es un gráfico que representa la tasa de actividad de FAP recombinante en profármacos de doxorrubicina. GP-DOX se refiere a z-GP-DOX que se muestra a modo de comparación.

La figura 4 es un gráfico de barras que representa la especificidad de la activación de 3099DOX por FAP.

La figura 5 es un gráfico que representa *in vitro* activación de 3099DOX y z-GP-DOX en plasma de ratón.

La figura 6 es un gráfico de barras que representa *in vitro* estabilidad de 3099DOX en lisado de músculo de ratón normal. Los datos de z-GP-DOX se muestran a modo de comparación. Los datos que se muestran siguen una digestión de 12 h a 37 °C.

5 La figura 7 es un gráfico que representa la farmacocinética de 3099DOX ("Profármaco") y doxorrubicina ("Ojiva") después de la administración única de 20 mg/kg de 3099DOX por inyección iv en ratones normales.

La figura 8 es un gráfico que representa *in vivo* concentraciones en plasma de doxorrubicina (DOX) después de la inyección de 20 mg/kg de 3099DOX (triángulos) u 8 mg/kg de doxorrubicina (círculos). mpk, mg/kg.

10 La figura 9 es un gráfico que representa *in vivo* distribución tisular de doxorrubicina (DOX; "Ojiva") y 3099DOX ("Profármaco") en ratones usados en el estudio del modelo de tumor HEK-FAP descrito en los ejemplos. Las muestras se obtuvieron 1 hora después de la dosificación iv con 6 mg/kg de 3099DOX.

La figura 10 es un gráfico que representa *in vivo* crecimiento tumoral en el estudio del modelo tumoral HEK-FAP descrito en los ejemplos. ***, p < 0.05 frente al vehículo; ns, no significativo frente a vehículo; mpk, mg/kg.

La figura 11 es un gráfico que representa la supervivencia en el estudio del modelo de tumor HEK-FAP descrito en los ejemplos; mpk, mg/kg.

15 La figura 12 muestra la estructura de un profármaco de gemcitabina (no según la invención), y un gráfico que muestra que el profármaco de gemcitabina es activado selectivamente por FAP en comparación con PREP.

La figura 13 muestra las estructuras de dos profármacos inhibidores de Akt (no según la invención), y un gráfico que muestra que los profármacos inhibidores de Akt son activados selectivamente por FAP en comparación con PREP.

20 La figura 14 muestra la estructura del profármaco de doxorrubicina 5057DOX, y un gráfico que muestra que el profármaco de doxorrubicina es activado selectivamente por FAP en comparación con PREP.

La figura 15 muestra la estructura de dos inhibidores de Akt activados por FAP (no según la invención), denominados ARI-5173 (Figura 15A) y ARI-5174 (Figura 15B). Ambos profármacos parecen estar activados por la FAP expresada por las células HEK-mFAP. La adición del inhibidor de FAP 5057 bloquea esta activación.

25 La figura 16 es un par de gráficos que representan la cinética de activación por FAP de ARI-5173 (Figura 16A) y ARI-5174 (Figura 16B) (no según la invención).

La figura 17A es un gráfico que representa la actividad de FAP en metástasis de hígado de ratón.

La figura 17B es un gráfico que representa la actividad de FAP en metástasis de hígado de ratón.

La figura 18A es un gráfico que representa la cinética de activación de 3099DOX.

La figura 18B es un gráfico que representa la cinética de activación de 5057DOX.

30 La figura 19 es un gráfico que representa la farmacodinámica de la inhibición de la actividad de FAP en plasma por 3099DOX y 5057DOX. Círculos, 20 mg/kg de 3099DOX; cuadrados, 80 mg/kg de 3099DOX; triángulos, 20 mg/kg de 5057DOX; triángulos invertidos, 80 mg/kg de 5057DOX.

La figura 20A es un gráfico que representa la farmacocinética plasmática del profármaco en ratones normales tratados con las dosis indicadas de 5057DOX o 3099DOX; mpk, mg/kg.

35 La figura 20B es un gráfico que representa la farmacocinética plasmática de "ojiva" en ratones normales tratados con las dosis indicadas de 5057DOX o 3099DOX; mpk, mg/kg.

La figura 21 son cuatro gráficos que representan la distribución tisular de 5057DOX y la "ojiva" en ratones HEK-FAP portadores de tumores en los tiempos indicados después de la inyección intravenosa con 2 mg/kg de 5057DOX. Las líneas discontinuas representan concentraciones en plasma aproximadas de 5057DOX u "ojiva" derivadas de estudios farmacocinéticos en ratones normales.

40 La figura 22 es un gráfico que representa la eficacia de 9 mg/kg de 5057DOX frente al vehículo en ratones HEK-FAP, donde los animales con tumores >200 mm³ en el día 33 después de la inoculación (es decir, al comienzo del tratamiento) están excluidos.

45 La figura 23 es un gráfico que representa la eficacia de 9 mg/kg de 5057DOX (cuadrados) frente a vehículo y la eficacia de 9 mg/kg de 3099DOX (triángulos invertidos) frente a ratones HEK-FAP con vehículo, donde los animales con tumores >200 mm³ en el día 33 después de la inoculación (es decir, al comienzo del tratamiento) están excluidos.

Descripción detallada de la invención

La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier tema que quede fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos.

- 5 La proteína de activación de fibroblastos (FAP) es una serina proteasa de escisión posterior al prolilo que pertenece a la subfamilia similar a la dipeptidil peptidasa (DPP-IV). FAP y prolil endopeptidasa (PREP; EC 3.4.21.26) son las únicas proteasas de mamíferos conocidas que pueden escindirse en el lado C-terminal de un residuo de prolina interno. La especificidad de escisión de P₄-P₁ de FAP requiere prolina en P₁, y glicina o un D-aminoácido en P₂, prefiere pequeños aminoácidos sin carga en P₃, y tolera la mayoría de los aminoácidos en P₄. PREP, a diferencia de FAP, se expresa de manera constitutiva y ubicua.
- 10 La invención explota la actividad enzimática y la especificidad de FAP, y las propiedades de los enlazantes autoinmolativos, para proporcionar profármacos no citotóxicos y no citostáticos que son capaces de dirigir la administración de compuestos citotóxicos o citostáticos a células que expresan FAP, por ejemplo, fibroblastos estromales reactivos de cánceres epiteliales, tejido de granulación de heridas en cicatrización y células malignas de sarcomas de huesos y tejidos blandos.
- 15 La solicitud proporciona un profármaco para la liberación de un agente dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo, en el que el agente es un fármaco; tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el profármaco libera el agente en su forma activa o en una forma que se metaboliza fácilmente a su forma activa; el profármaco tiene menos del 50 % de la actividad terapéutica de la forma activa del agente; y el sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por prolil endopeptidasa (EC 3.4.21.26; PREP).
- 20 En ciertas realizaciones, el profármaco se puede caracterizar además por una o más de las siguientes características:
- el profármaco tiene un índice terapéutico que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente solo, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor;
 - un mayor porcentaje del agente activo se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del agente solo, cuando se compara sobre una base de dosis equivalente, es decir, la proporción de agente activo localizado en el tejido diana en relación con otro tejido (tal como sangre, hígado o corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
 - la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
 - la permeabilidad celular del profármaco es al menos un 50 % menor que la permeabilidad celular del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o
 - la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.
- 30 La solicitud proporciona un profármaco para la liberación de un agente dependiente de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende un sustrato de FAP unido covalentemente a un agente a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo, en el que el agente es un fármaco citotóxico o citolítico; tras la escisión por FAP del sustrato de FAP, el profármaco libera el agente citotóxico o citolítico; el sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que la escisión por prolil endopeptidasa (EC 3.4.21.26; PREP); y el profármaco puede caracterizarse además por una o más de las siguientes características:
- el profármaco tiene menos de 50 % de la actividad citotóxica o citolítica contra las células tumorales en relación con el agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, 99.9 %, o incluso 99.99 % menos de actividad citotóxica o citolítica;
 - el profármaco tiene un índice terapéutico para tratar tumores que es al menos 2 veces mayor que el índice terapéutico del agente solo, y más preferiblemente al menos 5, 10, 50, 100, 250, 500, 1000, 5000 o incluso 10,000 veces mayor que;
 - un mayor porcentaje del agente se localiza en el tejido diana, es decir, el tejido que expresa FAP, en relación con la administración del agente solo, en comparación con una dosis equivalente, es decir, la proporción de agente activo localizado en el tejido diana relativo a otro tejido (como sangre, hígado o corazón) es al menos 2 veces mayor para una dosis equivalente del profármaco en relación con el agente solo, y preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
 - la dosis máxima tolerada del profármaco es al menos 2 veces mayor que la dosis máxima tolerada del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 5, 10, 100 o incluso 1000 veces mayor;
- 40
- 45
- 50

- la permeabilidad celular del profármaco es al menos un 50 % menor que la permeabilidad celular del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos un 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o incluso 99.9 % menos; y/o
 - la semivida en circulación del profármaco es al menos un 25 % más larga que la semivida en circulación del agente solo, e incluso más preferiblemente al menos 50 %, 75 %, 100 %, 150 %, 200 %, 500 %, 750 %, o incluso 1000 % más.
- 5

En ciertas realizaciones, el sustrato FAP tiene una k_{cat}/K_m para la escisión por FAP al menos 10 veces mayor que para la escisión por al menos una enzima homóloga de estructura y/o actividad de DPP IV de mamífero (DASH).

En la solicitud, el agente es un agente anticancerígeno. El agente anticancerígeno se selecciona del grupo que comprende antraciclinas,

- 10 En ciertas realizaciones, el sustrato de FAP es un oligopéptido.

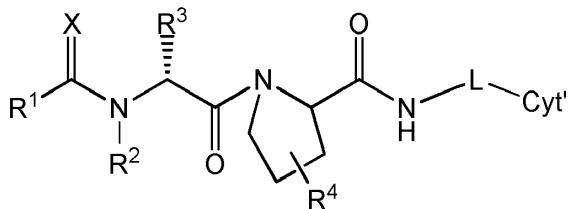
En ciertas realizaciones, el oligopéptido comprende una prolina C-terminal unida covalentemente al agente, a través de un enlace o un enlazante autoinmolativo. Preferiblemente, el enlace es un enlace que puede escindirse mediante la actividad proteolítica de FAP, por ejemplo, un enlace amida. Preferiblemente, el enlazante es un enlazante que contribuye a la P_{1'} especificidad de FAP (es decir, es reconocido por FAP como un residuo P_{1'}).

- 15 En ciertas realizaciones, el oligopéptido comprende un grupo bloqueante N-terminal.

En ciertas realizaciones, el sustrato de FAP se une covalentemente mediante un enlazante autoinmolativo al agente.

En ciertas realizaciones, el enlazante autoinmolativo se selecciona del grupo que consiste en His-Ala, *p*-aminobenciloxicarbonilo (PABC) y 2,4-bis-hidroximetil)anilina.

La solicitud proporciona un profármaco representado por la fórmula I



- 20 (I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₁₀) (por ejemplo, tert-butiloxi), alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilo alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), en el que cualquier R¹ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R³ representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R⁴ está ausente o representa un alquilo (C₁-C₆)alquilo, -OH, -NH₂, o uno o dos halógenos;

X representa O o S;

- 30 L representa un enlace, o -N(H)-L- representa un enlazante autoinmolativo (por ejemplo, -NH-(CH₂)₄-C(O)- o -NH-(CH₂)₃-CO-); y

Cyt' representa un residuo de un compuesto citotóxico o un residuo de un compuesto citostático.

- 35 Cyt' representa un residuo de un compuesto citotóxico que es capaz de matar o dañar una célula o una población de células. De acuerdo con la invención, Cyt' representa una unidad estructural de antraciclina. Las antraciclinas y sus análogos incluyen específicamente, por ejemplo, doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina, pirarubicina, valrubicina, aclarubicina, mitoxantrona, actinomicina, bleomicina, plicamicina y mitomicina. En ciertas realizaciones, Cyt' representa un residuo de una antraciclina o un análogo de la misma. En ciertas realizaciones, Cyt' representa una unidad estructural de doxorubicina.

- 40 En ciertas realizaciones, Cyt' representa un residuo de un compuesto citostático. Un compuesto citostático es un compuesto capaz de inhibir la proliferación de una célula o una población de células, generalmente sin matar o dañar la célula o la población de células.

En ciertas realizaciones, L representa un enlace.

En ciertas realizaciones, -N(H)-L- representa un enlazante autoinmolativo. Por ejemplo, en una realización, el enlazante autoinmolativo es -NH-(CH₂)₄-CO)-. En una realización, el enlazante autoinmolativo es -NH-(CH₂)₃-CO)-.

En ciertas realizaciones, el enlazante autoinmolativo es p-aminobenciloxicarbonilo (PABC).

- 5 En ciertas realizaciones, el enlazante autoinmolativo es 2,4-bis(hidroximetil)anilina.

En ciertas realizaciones, R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

10 En ciertas realizaciones, R¹ representa alcoxi (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R¹ representa metoxi. Como otro ejemplo, en ciertas realizaciones, R¹ representa *tert*-butiloxi.

En ciertas realizaciones, R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

15 En ciertas realizaciones, R¹ representa cilcoalquilo (C₃-C₈), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R¹ representa ciclopropilo.

20 En ciertas realizaciones, R¹ representa cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

En ciertas realizaciones, R¹ representa arilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R¹ representa fenilo.

25 En ciertas realizaciones, R¹ representa arilo alquilo (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R¹ representa bencilo.

En ciertas realizaciones, R¹ representa heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

30 En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo que contiene N, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo que contiene O, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo que contiene S, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

35

En ciertas realizaciones, R¹ representa heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀) que contiene N, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀) que contiene O, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH). En ciertas realizaciones, R¹ representa un heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀) que contiene S, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH).

40 En ciertas realizaciones, R¹ representa un radical de una unidad estructural aromática cíclica, preferiblemente mono, bi o tricíclico que incluye desde 5-12 átomos en el anillo, y es preferiblemente un heteroaromático cíclico que incluye, por ejemplo, 1 a 4 átomos de nitrógeno, e incluso más preferiblemente es una unidad estructural heteroaromática cíclica básica que incluye al menos un par solitario de electrones que no forma parte del sistema aromático (es decir, puede extenderse en el plano del anillo), tal como la quinolina y la isoquinolina, aunque también puede ser un anillo heteroaromático que contiene átomos de nitrógeno básicos así como no básicos, por ejemplo, imidazol o purina.

45 En ciertas realizaciones, R¹ representa un radical de una unidad estructural aromática cíclica, preferiblemente mono, bi o tricíclico que incluye desde 5-12 átomos en el anillo, y es preferiblemente un heteroaromático cíclico que incluye, por ejemplo, 1 a 4 átomos de nitrógeno, e incluso más preferiblemente es una unidad estructural heteroaromática cíclica básica que incluye al menos un par solitario de electrones que no forma parte del sistema aromático (es decir, puede extenderse en el plano del anillo), tal como la quinolina y la isoquinolina, aunque también puede ser un anillo heteroaromático que contiene átomos de nitrógeno básicos así como no básicos, por ejemplo, imidazol o purina.

50 En ciertas realizaciones, R¹ representa quinolinilo.

En ciertas realizaciones, R¹ representa isoquinolinilo.

En ciertas realizaciones, R² representa H

En ciertas otras realizaciones, R² representa un alquilo (C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R² representa metilo.

En ciertas realizaciones, R³ representa H

5 En ciertas otras realizaciones, R³ representa un alquilo (C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R³ representa metilo, etilo, propilo o isopropilo. En ciertas realizaciones, R³ es metilo.

En ciertas realizaciones, R⁴ está ausente.

En ciertas otras realizaciones, R⁴ representa un alquilo (C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R⁴ representa metilo.

En ciertas realizaciones, R⁴ representa -OH.

10 En ciertas realizaciones, R⁴ representa -NH₂.

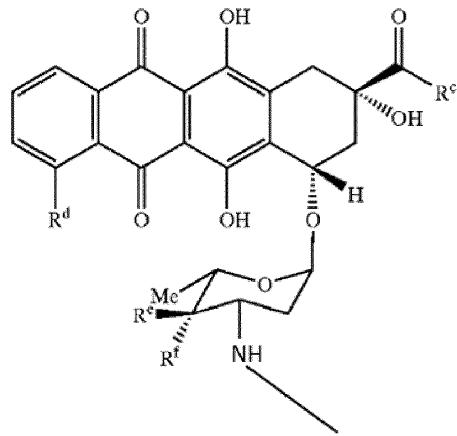
En ciertas realizaciones, R⁴ representa uno o dos halógenos. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R⁴ representa una única sustitución F del anillo, o dos sustituciones F en otras realizaciones. Como otro ejemplo, en ciertas realizaciones, R⁴ representa una única sustitución de Cl del anillo, o dos sustituciones de Cl en otras realizaciones.

En ciertas realizaciones, X representa O.

15 En ciertas otras realizaciones, X representa S.

En ciertas realizaciones, el compuesto citotóxico o el compuesto citostático es una antraciclina y L es un enlace.

Por ejemplo, la unidad estructural de antraciclina se puede representar mediante la fórmula



en la que,

20 R^c representa alquilo (C₁-C₆), hidroxialquilo (C₁-C₆), o alcanoiloxi (C₁-C₆) alquilo (C₁-C₆), en particular metilo, hidroximetilo, dietoxiacetoximetilo o butiriloximetilo;

R^d representa hidrógeno, hidroxilo o alcoxi (C₁-C₆), en particular metoxi;

uno de R^e y R^f representa un átomo de hidrógeno; y el otro representa un átomo de hidrógeno o un grupo hidroxi o tetrahidropiran-2-oxi (OTHP).

25 Por ejemplo, en diversas realizaciones, la antraciclina se selecciona del grupo que consiste en doxorubicina, daunorubicina, detorubicina, carminorubicina, epirubicina, esorubicina, idarrubicina, pirarrubicina, aclarubicina, mitoxantrona, actinomicina, bleomicina, plicamicina y mitomicina.

En ciertas realizaciones, la antraciclina es doxorubicina.

30 Haciendo referencia a la fórmula I, en ciertas realizaciones, -C(X)R¹ es una unidad estructural que, a pH fisiológico, reduce la permeabilidad celular del profármaco en relación con el compuesto citotóxico o el compuesto citostático. Por ejemplo, en diversas realizaciones, la permeabilidad celular para el profármaco es menos de: 10 por ciento, 20 por ciento, 30 por ciento, 40 por ciento, 50 por ciento, 60 por ciento, 70 por ciento, 75 por ciento, 80 por ciento, 85 por ciento, 90 por ciento o 95 por ciento de la permeabilidad celular para el compuesto citotóxico o compuesto citostático. En ciertas realizaciones, la permeabilidad celular para el profármaco es menos de 50 por ciento de la permeabilidad celular para el compuesto citotóxico o el compuesto citostático.

35 En ciertas realizaciones, la permeabilidad celular para el compuesto citotóxico o el compuesto citostático.

Haciendo referencia a la fórmula I, en ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ comprende uno o más grupos funcionales que se ionizan a pH fisiológico.

Haciendo referencia a la fórmula I, en ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es un acilo aquilo (C_1-C_{10}) sustituido con uno o más grupos funcionales que se ionizan a pH fisiológico.

- 5 Haciendo referencia a la fórmula I, en ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ está representado por la fórmula HO_2C -alquilo (C_1-C_{10})- $C(O^-)$.

Por ejemplo, en ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ está representado por la fórmula $HO_2C-(CH_2)_2-CO^-$.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ se selecciona del grupo que consiste en formilo, dansilo, acetilo, benzoílo, trifluoroacetilo, succinilo y metoxisuccinilo.

- 10 En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es formilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es dansilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es acetilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es benzoílo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es trifluoroacetilo.

- 15 En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es succinilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es metoxisuccinilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ se selecciona del grupo que consiste en arilo acilo (C_1-C_6) y heteroarilo acilo (C_1-C_6).

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es un arilo acilo (C_1-C_6).

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es un heteroarilo acilo (C_1-C_6).

- 20 En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con un arilo seleccionado del grupo que consiste en bencilo, naftalenilo, fenantrenilo, fenolilo y anilinilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con bencilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con naftalenilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con fenantrenilo.

- 25 En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con fenolilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con anilinilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con un arilo seleccionado del grupo que consiste en bencilo, naftalenilo, fenantrenilo, fenolilo y anilinilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con bencilo.

- 30 En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con naftalenilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con fenantrenilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con fenolilo.

En ciertas realizaciones, el arilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1) sustituido con anilinilo.

En ciertas realizaciones, $-C(X)R^1$ es un heteroarilo acilo (C_1-C_6).

- 35 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con un heteroarilo seleccionado del grupo que consiste en pirril, furilo, tiofenilo (también conocido como tienilo), imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, triazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo y pirimidinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con pirril.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con furilo.

- 40 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C_1-C_6) es un acilo (C_1-C_6) sustituido con tiofenilo (también conocido como tienilo).

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con imidazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con oxazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con tiazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con triazolilo.

5 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con pirazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con piridinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con pirizinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con piridazinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁-C₆) sustituido con pirimidinilo.

10 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con un heteroarilo seleccionado del grupo que consiste en piril, furilo, tiofenilo (también conocido como tienilo), imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, triazolilo, pirazolilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo y pirimidinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con piril.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con furilo.

15 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con tiofenilo (también conocido como tienilo).

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con imidazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con oxazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con tiazolilo.

20 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con triazolilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con pirazolilo.

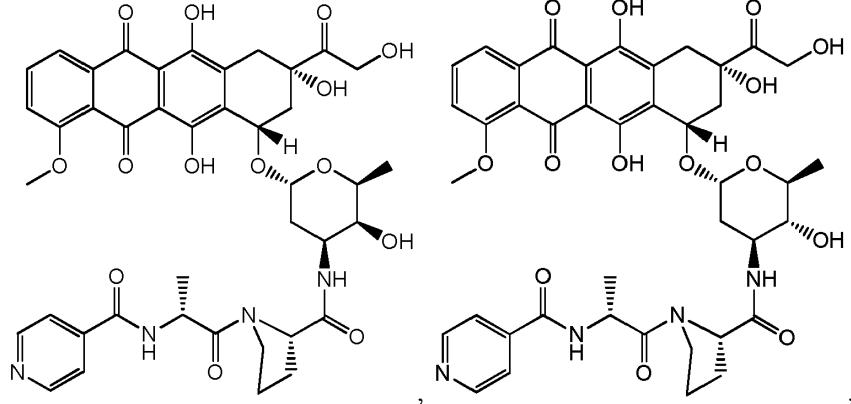
En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con piridinilo.

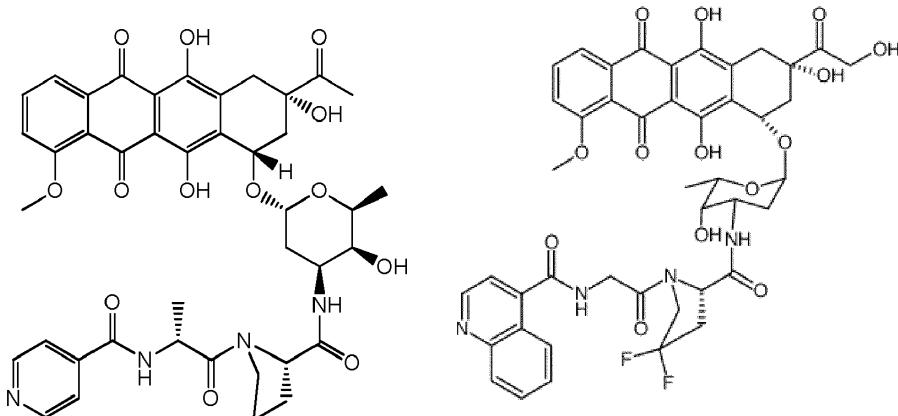
En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con pirizinilo.

En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con piridazinilo.

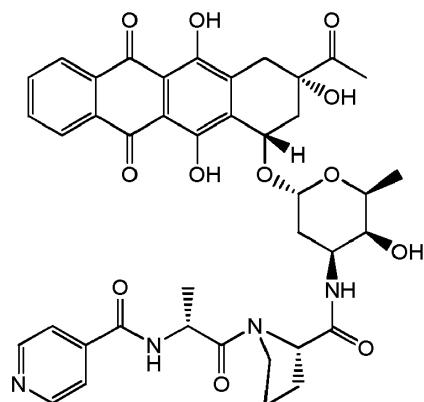
25 En ciertas realizaciones, el heteroarilo acilo (C₁-C₆) es un acilo (C₁) sustituido con pirimidinilo.

En una realización, el profármaco está representado por una fórmula seleccionada del grupo que consiste en:

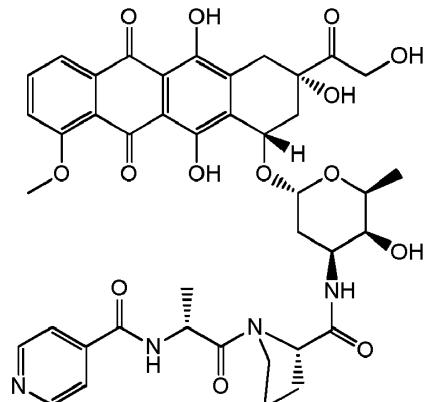




y



En una realización, el profármaco está representado por la fórmula



5

En una realización, el profármaco es *N*-((*R*)-1-((*R*)-2-(((2*S*,3*S*,4*S*,6*R*)-3-hidroxi-2-metil-6-(((1*S*,3*S*)-3,5,12-trihidroxi-3-(2-hidroxiacetil)-10-metoxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il)oxi)tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamoil)pirrolidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)isonicotinamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En una realización, el profármaco es *N*-((*R*)-1-((*R*)-2-(((2*S*,3*R*,4*S*,6*R*)-3-hidroxi-2-metil-6-(((1*S*,3*S*)-3,5,12-trihidroxi-3-(2-hidroxiacetil)-10-metoxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il)oxi)tetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamoil)pirrolidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)isonicotinamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el profármaco es *N*-((*R*)-1-((*R*)-2-(((2*S*,3*S*,4*S*,6*R*)-6-(((1*S*,3*S*)-3-acetyl-3,5,12-trihidroxi-10-metoxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il)oxi)-3-hidroxi-2-metiltetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamoil)pirrolidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)isonicotinamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En una realización, el profármaco es *N*-((*R*)-1-((*R*)-2-(((2*S*,3*S*,4*S*,6*R*)-6-(((1*S*,3*S*)-3-acetyl-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il)oxi)-3-hidroxi-2-metiltetrahidro-2*H*-piran-4-il)carbamoil)pirrolidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)isonicotinamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende un profármaco de la invención y un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, la composición farmacéutica comprende dos o más profármacos de la invención.

5 La solicitud proporciona un método de preparación de una composición farmacéutica de la invención. El método incluye la etapa de combinar un compuesto de la invención con un portador farmacéuticamente aceptable. En una realización, el método incluye además la etapa de formular la composición farmacéutica para una vía particular de administración, por ejemplo, para administración oral o para administración intravenosa.

10 La solicitud proporciona un producto farmacéutico envasado, que comprende un profármaco descrito en este documento formulado en un excipiente farmacéuticamente aceptable, junto con instrucciones (escritas y/o pictóricas) que describen la dosis recomendada y/o la administración de la formulación a un paciente.

15 La solicitud proporciona un profármaco para su uso en un método de tratamiento de un trastorno caracterizado por la regulación al alza de la proteína de activación de fibroblastos (FAP), que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de la invención. Los trastornos caracterizados por la regulación al alza de FAP incluyen, sin limitación, cáncer (por ejemplo, tumores sólidos), proliferación celular anormal, fibrosis e inflamación. En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP se selecciona del grupo que consiste en cáncer, fibrosis e inflamación.

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es cáncer (por ejemplo, un tumor sólido).

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es un carcinoma de mama.

20 En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es un carcinoma de pulmón de células no pequeñas.

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es un carcinoma colorrectal.

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es fibrosis

En una realización, el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP es la inflamación.

25 En ciertas realizaciones, el método de tratamiento de un trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP comprende además administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente quimioterapéutico.

En ciertas realizaciones, el método de tratamiento de un trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP comprende además administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente antiinflamatorio.

30 La solicitud proporciona un profármaco para su uso en un método de tratamiento del cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de la invención.

En una realización, el cáncer es un carcinoma de mama.

En una realización, el cáncer es un carcinoma de pulmón de células no pequeñas.

En una realización, el cáncer es un carcinoma colorrectal.

35 La solicitud proporciona un profármaco para su uso en un método de tratamiento del cáncer que comprende además administrar al sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente quimioterapéutico.

Definiciones

40 En el contexto de esta invención, un "fármaco" significará un compuesto químico que puede administrarse a seres humanos o animales como ayuda en el tratamiento de enfermedades. En particular, un fármaco es un agente farmacológico activo.

El término "compuesto citotóxico" significará un compuesto químico que es tóxico para las células vivas, en particular un fármaco que destruye o mata las células. El término "compuesto citostático" significará un compuesto que suprime el crecimiento y la multiplicación celular y, de este modo, inhibe la proliferación de células.

45 Como se usa en este documento, "pH fisiológico" significa un pH tisular o sanguíneo compatible con la vida. El pH fisiológico es por lo general de 6.8 a 8.4. En una realización, el pH fisiológico es de 7.0 a 8.0. En una realización, el pH fisiológico es de 7.2 a 7.8.

El término "tratar" o "tratamiento" como se usa en este documento significa prevenir, ralentizar o detener la progresión de, reducir al menos un síntoma y/o eliminar una enfermedad o afección de un sujeto. En una realización, "tratar" o

"tratamiento" significa retrasar o detener la progresión, reducir al menos un síntoma y/o eliminar una enfermedad o afección de un sujeto.

El término "sujeto", como se usa en este documento, se refiere a un mamífero vivo. En una realización, un sujeto es un ratón, rata, hámster, conejillo de indias, conejo, gato, perro, cabra, oveja, cerdo, caballo, vaca o primate no humano.

5 En otra realización, un sujeto es un ser humano.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto con respecto al uso en el tratamiento, se refiere a una cantidad del compuesto en una preparación que, cuando se administra como parte de un régimen de dosificación deseado (a un mamífero, preferiblemente a un ser humano) alivia un síntoma, mejora una condición o retarda la aparición de condiciones de enfermedad de acuerdo con estándares clínicamente aceptables para el trastorno o afección que se va a tratar o el propósito cosmético, por ejemplo, en una proporción razonable de beneficio/riesgo aplicable a cualquier tratamiento médico.

10 El término "enlazante de autoeliminación" o "enlazante autoinmolativo" se refiere a una unidad de extensión, espaciadora o marcadora de posición temporal que une dos o más moléculas mediante enlaces químicos que se escinden en condiciones definidas para liberar las dos moléculas. En general, un enlazante de autoeliminación o 15 autoinmolativo puede ser lineal o ramificado, y puede unir dos o más moléculas iguales, o puede unir dos o más moléculas diferentes. Una unidad estructural autoinmolativa puede definirse como un grupo químico bifuncional que es capaz de unir covalentemente dos unidades estructurales químicas espaciadas en una molécula normalmente estable, liberando una de dichas unidades estructurales químicas espaciadas de la molécula por medio de escisión enzimática; y después de dicha escisión enzimática, la escisión espontánea de resto del grupo químico bifuncional 20 para liberar la otra de dichas unidades estructurales químicas espaciadas. De acuerdo con la presente invención, la unidad estructural autoinmolativa se une covalentemente en uno de sus extremos, directa o indirectamente a través de una unidad espaciadora, al sustrato FAP mediante un enlace amida y se une covalentemente en su otro extremo a un sitio reactivo químico (grupo funcional) pendiente del fármaco. El conjugado está en ausencia de una enzima (es decir, FAP) capaz de escindir el enlace amida de la unidad estructural autoinmolativa. El enlazante de autoeliminación o 25 autoinmolativo puede degradarse, descomponerse o fragmentarse, por ejemplo, en condiciones fisiológicas, condiciones ácidas, condiciones básicas o en presencia de agentes químicos específicos. Los ejemplos de enlazantes autoeliminados incluyen, pero no se limitan a, *p*-aminobenciloxicarbonilo (PABC) y 2,4-bis(hidroximetil)anilina. Los enlazantes autoinmolativos de ejemplo se pueden encontrar, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 7,754,681.

30 El término "profármaco", como se usa en este documento, abarca compuestos que, en condiciones fisiológicas, se convierten en agentes terapéuticamente activos. Un método común para hacer un profármaco es incluir unidades estructurales seleccionadas que se hidrolizan en condiciones fisiológicas para revelar la molécula deseada. En otras realizaciones, el profármaco se convierte mediante una actividad enzimática del animal huésped. En una realización, un profármaco tiene menos del 10 por ciento de actividad en relación con el fármaco libre o activo derivado o liberado 35 del mismo. En una realización, un profármaco tiene menos del 5 por ciento de actividad en relación con el fármaco libre o activo derivado o liberado del mismo. En una realización, un profármaco tiene menos del 1 por ciento de actividad en relación con el fármaco libre o activo derivado o liberado del mismo.

Como se usa en este documento, un "profármaco de la invención" o un "compuesto de la invención" se refiere a un profármaco según las reivindicaciones.

40 El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier sal de adición de ácido inorgánico u orgánico relativamente no tóxica del (de los) profármaco (s). Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento final y la purificación del (de los) profármaco(s), o haciendo reaccionar por separado un(los) profármaco(s) purificado(s) en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico apropiado, y aislando la sal formada de este modo. Las sales representativas incluyen sales bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. Véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19.

50 En otros casos, los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más grupos funcionales ácidos y, de este modo, son capaces de formar sales farmacéuticamente aceptables con bases farmacéuticamente aceptables. El término "sal farmacéuticamente aceptable" en estos casos se refiere a cualquier sal de adición de base inorgánica u orgánica relativamente no tóxica del (de los) profármaco (s). Estas sales también se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento final y la purificación del (de los) profármaco(s), o haciendo reaccionar por separado los profármacos purificados en su forma de ácido libre con una base apropiada, tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoniaco, o con una amina primaria, secundaria o terciaria orgánica farmacéuticamente aceptable. Las sales alcalinas o alcalinotérreas representativas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación 55 de sales de adición de base incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (véase, por ejemplo, Berge et al., supra).

- La frase "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "portador farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento, significa un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un agente de carga líquido o sólido, un diluyente, un excipiente, un disolvente o un material de encapsulación, involucrado en llevar o transportar el producto químico en cuestión de un órgano o parte del cuerpo a otro órgano o parte del cuerpo.
- 5 Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, no perjudicial para el paciente y sustancialmente no pirógeno. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) polvo de trágacanto; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco;
- 10 (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propileneglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietleneglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18)
- 15 solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones reguladoras de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la presente invención no son pirogénicas, es decir, no inducen elevaciones significativas de la temperatura cuando se administran a un paciente.
- El término tratamiento "profiláctico o terapéutico" se reconoce en la técnica e incluye la administración al huésped de una o más de las composiciones en cuestión. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico (es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección no deseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, mejorar o estabilizar la afección no deseada existente o los efectos secundarios de la misma).
- 25 El término "residuo de aminoácido" o "aminoácido" pretende abarcar todos los compuestos, ya sean naturales o sintéticos, que incluyen tanto una funcionalidad amino como una funcionalidad ácida, incluidos los análogos y derivados de aminoácidos. En ciertas realizaciones, los aminoácidos contemplados en la presente invención son los aminoácidos naturales que se encuentran en las proteínas, o los productos anabólicos o catabólicos naturales de tales aminoácidos, que contienen grupos amino y carboxilo.
- 30 Los aminoácidos de origen natural se identifican en todo momento mediante las abreviaturas convencionales de tres letras y/o de una letra, correspondientes al nombre trivial del aminoácido, de acuerdo con la siguiente lista. Las abreviaturas se aceptan en la técnica de los péptidos y son recomendadas por la comisión IUPAC-IUB en nomenclatura bioquímica.

Aminoácidos	Tres letras	Una letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Asparagina	Asn	N
Ácido aspártico	Asp	D
Cisteína	Cys	C
Ácido glutámico	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Glicina	Gly	G
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lys	K

Aminoácidos	Tres letras	Una letra
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Phe	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Triptófano	Trp	W
Tirosina	Tyr	Y
Valina	Val	V
Desconocido u "otro" Xaa		X

El término "residuo de aminoácido" incluye además análogos, derivados y congéneres de cualquier aminoácido específico mencionado en este documento, así como derivados de aminoácidos protegidos en el C-terminal o N-terminal (por ejemplo, modificados con un grupo protector N-terminal o C-terminal).

- 5 El término "péptido", como se usa en este documento, se refiere a una secuencia de residuos de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos o por enlaces peptídicos modificados. El término "péptido" pretende abarcar análogos de péptidos, derivados de péptidos, peptidomiméticos y variantes de péptidos. Se entiende que el término "péptido" incluye péptidos de cualquier longitud. Las secuencias peptídicas establecidas en este documento se escriben según la convención generalmente aceptada por lo que el aminoácido N-terminal está a la izquierda y el aminoácido C-terminal está a la derecha.

10 El término "análogo de péptido", como se usa en este documento, se refiere a un péptido que comprende uno o más aminoácidos de origen no natural. Los ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen, pero no se limitan a, D-aminoácidos (es decir, un aminoácido de una quiralidad opuesta a la forma natural), N-α-metilaminoácidos, C-α-metilaminoácidos, β-metilaminoácidos, β-alanina (β-Ala), norvalina (Nva), norleucina (Nle), ácido 4-aminobutírico (γ-Abu), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), ácido 6-aminohexanoico (ε-Ahx), ornitina (orn), hidroxiprolina (Hyp), sarcosina, citrulina, ácido cisteico, ciclohexilalanina, ácido α-aminoisobutírico, t-butilglicina, t-butilalanina, ácido 3-aminopropiónico, ácido 2,3-diaminopropiónico (2,3-diAP), D- o L-fenilglicina, D- o L-2-naftilanina (2-Nal), ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico (Tic), D- o L-2-tienilanina (Thi), D- o L-3-tienilanina, D- o L-1-, 2-, 3- o 4-pirenilanina, D- o L-(2-piridinilo)-alanina, D- o L-(3-piridinil)-alanina, D- o L-(2-pirazinil)-alanina, D- o L-(4-isopropil)-fenilglicina, D-(trifluorometil)-fenilglicina, D-(trifluorometil)-fenilanina, D-p-fluorofenilanina, D- o L-p-bifenilanina, D- o L-p-metoxibifenilanina, sulfóxido de metionina (MSO) y homoarginina (Har). Otros ejemplos incluyen D- o L-2-indol(alquil)alaninas y D- o L-alquilalaninas, en las que alquilo es metilo, etilo, propilo, hexilo, butilo, pentilo, isopropilo, iso-butilo o iso-pentilo sustituido o no sustituido y fosfono- o sulfatados (por ejemplo, -SO₃H) aminoácidos no carboxilatos.

- 15 25 Otros ejemplos de aminoácidos no naturales incluyen 3-(2-clorofenil)-alanina, 3-clorofenilanina, 4-cloro-fenilanina, 2-fluoro-fenilanina, 3-fluoro-fenilanina, 4-fluoro-fenilanina, 2-bromo-fenilanina, 3-bromo-fenilanina, 4-bromo-fenilanina, homofenilanina, 2-metil-fenilanina, 3-metil-fenilanina, 4-metil-fenilanina, 2,4-dimetil-fenilanina, 2-nitro-fenilanina, 3-nitro-fenilanina, 4-nitro-fenilanina, 2,4-dinitro-fenilanina, ácido 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina-3-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetrahidronorharman-3-carboxílico, 1-naftilanina, 2-naftilanina, pentafluorofenilanina, 2,4-dicloro-fenilanina, 3,4-dicloro-fenilanina, 3,4-difluoro-fenilanina, 3,5-difluoro-fenilanina, 2,4,5-trifluorofenilanina, 2-trifluorometil-fenilanina, 3-trifluorometil-fenilanina, 4-trifluorometil-fenilanina, 2-ciano-fenilanina, 3-ciano-fenilanina, 4-ciano-fenilanina, 2-yodo-fenilanina, 3-yodo-fenilanina, 4-yodo-fenilanina, 4-metoxifenilanina, 2-aminometil-fenilanina, 3-aminometil-fenilanina, 4-aminometil-fenilanina, 2-carbamoil-fenilanina, 3-carbamoil-fenilanina, 4-carbamoil-fenilanina, m-tirosina, 4-amino-fenilanina, estirilanina, ácido 2-amino-5-fenil-pentanoico, 9-antrilalanina, 4-tert-butil-fenilanina, 3,3-difenilanina, 4,4'-difenilanina, benzoilfenilanina, α-metil-fenilanina, α-metil-4-fluoro-fenilanina, 4-tiazolilanina, 3-benzotienilanina, 2-tienilanina, 2-(5-bromotienil)-alanina, 3-tienilanina, 2-furilanina, 2-piridilanina, 3-piridilanina, 4-piridilanina, ácido 2,3-diaminopropiónico, ácido 2,4-diaminobutírico, aliglicina, ácido 2-amino-4-bromo-4-pentenoico, propargilglicina, ácido 4-aminociclopent-2-enecarboxílico, ácido 3-aminociclopantanocarboxílico, ácido 7-aminoheptanoico, dipropilglicina, ácido pipecólico, ácido azetidina-3-carboxílico, ciclopropilglicina, ciclopropilalanina,

2-metoxi-fenilglicina, 2-tienilglicina, 3-tienilglicina, α -bencil-prolina, α -(2-fluoro-bencil)-prolina, α -(3-fluoro-bencil)-prolina, α -(4-fluoro-bencil)-prolina, α -(2-cloro-bencil)-prolina, α -(3-cloro-bencil)-prolina, α -(4-cloro-bencil)-prolina, α -(2-bromo-bencil)-prolina, α -(3-bromo-bencil)-prolina, α -(4-bromo-bencil)-prolina, α -fenetil-prolina, α -(2-metil-bencil)-prolina, α -(3-metilbencil)-prolina, α -(4-metil-bencil)-prolina, α -(2-nitro-bencil)-prolina, α -(3-nitrobencil)-prolina, α -(4-nitro-bencil)-prolina, α -(1-naftalenilmethyl)-prolina, α -(2-naftalenilmethyl)-prolina, α -(2,4-dicloro-bencil)-prolina, α -(3,4-dicloro-bencil)-prolina, α -(3,4-difluoro-bencil)-prolina, α -(2-trifluorometil-bencil)-prolina, α -(3-trifluorometil-bencil)-prolina, α -(4-trifluorometil-bencil)-prolina, α -(2-ciano-bencil)-prolina, α -(3-ciano-bencil)-prolina, α -(4-ciano-bencil)-prolina, α -(2-yodo-bencil)-prolina, α -(3-yodo-bencil)-prolina, α -(4-yodo-bencil)-prolina, α -(3-fenil-alil)-prolina, α -(3-fenil-propil)-prolina, α -(4-tert-butil-bencil)-prolina, α -benzihidril-prolina, α -(4-bifenilmethyl)-prolina, α -(4-tiazolilmethyl)-prolina, α -(3-benzo[b]tiofenilmethyl)-prolina, α -(2-tiofenilmethyl)-prolina, α -(5-bromo-2-tiofenilmethyl)-prolina, α -(3-tiofenilmethyl)-prolina, α -(2-furanilmethyl)-prolina, α -(2-piridinilmethyl)-prolina, α -(3-piridinilmethyl)-prolina, α -(4-piridinilmethyl)-prolina, α -alil-prolina, α -propinil-prolina, γ -bencil-prolina, γ -(2-fluoro-bencil)-prolina, γ -(3-fluoro-bencil)-prolina, γ -(4-fluoro-bencil)-prolina, γ -(2-cloro-bencil)-prolina, γ -(3-cloro-bencil)-prolina, γ -(4-cloro-bencil)-prolina, γ -(2-bromo-bencil)-prolina, γ -(3-bromo-bencil)-prolina, γ -(4-bromo-bencil)-prolina, γ -(2-metil-bencil)-prolina, γ -(3-metil-bencil)-prolina, γ -(4-metil-bencil)-prolina, γ -(2-nitro-bencil)-prolina, γ -(3-nitro-bencil)-prolina, γ -(4-nitrobencil)-prolina, γ -(1-naftalenilmethyl)-prolina, γ -(2-naftalenilmethyl)-prolina, γ -(2,4-dicloro-bencil)-prolina, γ -(3,4-dicloro-bencil)-prolina, γ -(3,4-difluoro-bencil)-prolina, γ -(2-trifluorometil-bencil)-prolina, γ -(3-trifluorometil-bencil)-prolina, γ -(4-trifluorometil-bencil)-prolina, γ -(2-ciano-bencil)-prolina, γ -(3-ciano-bencil)-prolina, γ -(4-ciano-bencil)-prolina, γ -(2-yodo-bencil)-prolina, γ -(3-yodo-bencil)-prolina, γ -(4-yodobencil)-prolina, γ -(3-fenil-alil-bencil)-prolina, γ -(3-fenil-propil-bencil)-prolina, γ -(4-tert-butil-bencil)-prolina, γ -benzihidril-prolina, γ -(4-bifenilmethyl)-prolina, γ -(3-benzotioienilmethyl)-prolina, γ -(2-tienilmethyl)-prolina, γ -(3-tienilmethyl)-prolina, γ -(2-furanilmethyl)-prolina, γ -(2-piridinilmethyl)-prolina, γ -(3-piridinilmethyl)-prolina, γ -(4-piridinilmethyl)-prolina, γ -alil-prolina, γ -propinil-prolina, ácido trans-4-fenil-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-fluoro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-fluoro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-fluoro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-cloro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-cloro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-cloro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-bromo-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-bromo-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-metil-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-metil-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-metil-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-nitro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(1-naftil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-naftil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2,5-diclorofenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2,3-dicloro-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-trifluorometil-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-trifluorometilfenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-ciano-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-ciano-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-ciano-fenil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-piridinil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-piridinil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-piridinil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(6-metoxi-3-piridinil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(4-piridinil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-tienil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(3-tienil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-(2-furanil)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido trans-4-isopropil-pirrolidin-3-carboxílico, 4-fosfonometil-fenilalanina, bencil-fosforeonina, (1'-amino-2-fenil-etyl)oxirano, (1'-amino-2-ciclohexiletil)oxirano, (1'-amino-2-[3-bromo-fenil]etyl)oxirano, (1'-amino-2-[4-(benciloxi)fenil]etyl)oxirano, (1'-amino-2-[3,5-difluoro-fenil]etyl)oxirano, (1'-amino-2-[4-carbamoil-fenil]etyl)oxirano, (1'-amino-2-[benciloxi-etyl])oxirano, (1'-amino-2-[4-nitro-fenil]etyl)oxirano, (1'-amino-3-fenil-propil)oxirano, (1'-amino-3-fenil-propil)oxirano, y/o sales y/o variantes de grupos protectores de los mismos.

El término "derivado de péptido", como se usa en este documento, se refiere a un péptido que comprende unidades estructurales químicas o bioquímicas adicionales que normalmente no forman parte de un péptido de origen natural. Los derivados de péptidos incluyen péptidos en los que el extremo amino terminal y/o el extremo carboxi y/o una o más cadenas laterales de aminoácidos se han derivado con un grupo sustituyente químico apropiado, así como péptidos cíclicos, péptidos duales, multímeros de los péptidos, péptidos fusionados con otras proteínas o portadores, péptidos glicosilados, péptidos fosforilados, péptidos conjugados con unidades estructurales lipófilos (por ejemplo, unidades estructurales caproilo, laurilo, estearoilo) y péptidos conjugados con un anticuerpo u otro ligando biológico. Los ejemplos de grupos sustituyentes químicos que se pueden usar para derivar un péptido incluyen, pero no se limitan a, grupos alquilo, cicloalquilo y arilo; grupos acilo, incluidos grupos alcanoilo y aroilo; ésteres; amidas; halógenos; hidroxilos; carbamilos, y similares. El grupo sustituyente también puede ser un grupo bloqueante como Fmoc (fluorenilmethyl-O-CO-), carbobenzoxi (bencil-O-CO-), monometoxisuccinilo, naftil-NH-CO-, acetilamino-caproilo y adamantilo-NH-CO-. Otros derivados incluyen derivados de hidroximetilo C-terminal, derivados O-modificados (por ejemplo, hidroximetilbenciléter C-terminal) y derivados N-modificados terminalmente que incluyen amidas sustituidas tales como alquilamidas e hidrazidas. El grupo sustituyente puede ser un "grupo protector" como se detalla en este documento.

El término "peptidomimético", como se usa en este documento, se refiere a un compuesto que es estructuralmente similar a un péptido y contiene unidades estructurales químicas que imitan la función del péptido. Por ejemplo, si un péptido contiene dos unidades estructurales químicas cargadas que tienen actividad funcional, un mimético coloca dos unidades estructurales químicas cargadas en una orientación espacial y estructura restringida para que la función

química cargada se mantenga en el espacio tridimensional. De este modo, el término peptidomimético pretende incluir isósteros. El término "isostero", como se usa en este documento, se refiere a una estructura química que puede ser sustituida por un péptido porque la conformación estérica de la estructura química es similar, por ejemplo, la estructura se ajusta a un sitio de unión específico para el péptido. Los ejemplos de peptidomiméticos incluyen péptidos que comprenden una o más modificaciones del esqueleto (es decir, miméticos de enlaces amida), que son bien conocidos en la técnica. Los ejemplos de miméticos de enlaces amida incluyen, pero no se limitan a, -CH₂NH-, -CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH- (cis y trans), -COCH₂-, -CH(OH)CH₂-, -CH₂SO-, -CS-NH- y -NH-CO- (es decir, un enlace peptídico inverso) (véase, por ejemplo, Spatola, Vega Data Vol. 1, Issue 3, (1983); Spatola, in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids Peptides and Proteins, Weinstein, ed., Marcel Dekker, New York, p. 267 (1983); Morley, J. S., Trends Pharm. Sci. pp. 463-468 (1980); Hudson et al., Int. J. Pept. Prot. Res. 14:177-185 (1979); Spatola et al., Life Sci. 38:1243-1249 (1986); Hann, J; Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 307-314 (1982); Almquist et al., J. Med. Chem. 23:1392-1398 (1980); Jennings-White et al., Tetrahedron Lett. 23:2533 (1982); Szelke et al., EP 45665 (1982); Holladay et al., Tetrahedron Lett. 24:4401-4404 (1983); y Hruby, Life Sci. 31:189-199 (1982)). Otros ejemplos de peptidomiméticos incluyen péptidos sustituidos con una o más moléculas de benzodiazepina (véase, por ejemplo, James, G. L. et al. (1993) Science 260:1937-1942) y péptidos que comprenden cadenas principales entrecruzadas para formar lactamas u otras estructuras cíclicas.

El término "péptido variante", como se usa en este documento, se refiere a un péptido en el que uno o más residuos de aminoácidos se han suprimido, agregado o sustituido en comparación con la secuencia de aminoácidos a la que corresponde el péptido. Por lo general, cuando una variante contiene una o más sustituciones de aminoácidos, son sustituciones "conservadoras". Una sustitución conservadora implica el reemplazo de un residuo de aminoácido por otro residuo que tiene propiedades de cadena lateral similares. Como se sabe en la técnica, los veinte aminoácidos naturales se pueden agrupar según las propiedades fisicoquímicas de sus cadenas laterales. Los agrupamientos adecuados incluyen: alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, metionina, fenilalanina y triptófano (cadenas laterales hidrofóbicas); glicina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina y glutamina (cadenas laterales polares sin carga); 25 ácido aspártico y ácido glutámico (cadenas laterales ácidas) y lisina, arginina e histidina (cadenas laterales básicas). Otro grupo de aminoácidos es la fenilalanina, el triptófano y la tirosina (cadenas laterales aromáticas). Una sustitución conservadora implica la sustitución de un aminoácido por otro aminoácido del mismo grupo.

En ciertas realizaciones, -C(X)R¹ representa un residuo de aminoácido alfa bloqueado en el extremo N, en el que X es O. Un residuo de aminoácido bloqueado en el extremo N es un residuo de aminoácido modificado por la presencia de un grupo protector unido covalentemente al grupo amino de dicho residuo.

La frase "grupo protector", como se usa en este documento, significa sustituyentes temporales que protegen un grupo funcional potencialmente reactivo de transformaciones químicas no deseadas.

El término "grupo protector de amino" o "grupo protector N-terminal" se refiere a aquellos grupos destinados a proteger el α-N-terminal de un aminoácido o péptido o para proteger de otro modo el grupo amino de un aminoácido o péptido contra reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos N-protectores de uso común se divultan en Greene, Protective Groups In Organic Synthesis, (John Wiley & Sons, New York (1981)). Además, los grupos protectores se pueden usar como profármacos que se escinden fácilmente *in vivo*, por ejemplo, mediante hidrólisis enzimática, para liberar el progenitor biológicamente activo. α-N-los grupos protectores comprenden grupos alcanoilo inferior tales como formilo, acetilo ("Ac"), propionilo, pivaloilo, t-butilacetilo y similares; otros grupos acilo incluyen 2-cloroacetilo, 2-bromoacetilo, trifluoroacetilo, tricloroacetilo, ftalilo, o-nitrofenoxiacetilo, -clorobutirilo, benzoilo, 4-clorobenzoilo, 4-bromobenzoilo, 4-nitrobenzoilo y similares; grupos sulfonilo tales como bencenosulfonilo, p-toluenosulfonilo y similares; grupos formadores de carbamato tales como benciloxicarbonilo, p-clorobenciloxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo, p-bromobenciloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxicarbonilo, 3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, 2,4-dimetoxibenciloxicarbonilo, 4-etoxybenciloxicarbonilo, 2-nitro-4,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, 3,4,5-trimetoxibenciloxicarbonilo, 1-(p-bifenil)-1-metiletoxicarbonilo, α,α-dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, benzhidriloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, diisopropilmotoxicarbonilo, isopropiloxicarbonilo, etoxicarbonilo, metoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, fenoxicarbonilo, 4-nitrofenoxicarbonilo, fluorenil-9-metoxicarbonilo, ciclopentiloxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, ciclohexiloxicarbonilo, feniltiocarbonilo y similares; 50 grupos arilalquilo tales como bencilo, trifenilmetilo, benciloximetilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc) y similares y grupos sililo tales como trimetilsililo y similares. Todavía otros ejemplos incluyen teilo, succinilo, metoxisuccinilo, suberilo, adipilo, azelailo, dansilo, benciloxicarbonilo, metoxiazelalia, metoxiadipilo, metoxisuberilo y 2,4-dinitrofenilo.

El término "grupo protector de carboxi" o "grupo protector C-terminal" se refiere a un grupo éster o amida protector de ácido carboxílico empleado para bloquear o proteger la funcionalidad del ácido carboxílico mientras se realizan las reacciones que implican otros sitios funcionales del compuesto. Los grupos protectores de carboxi se divultan en Greene, Protective Groups in Organic Synthesis pp. 152-186 (1981). Adicionalmente, se puede usar un grupo protector de carboxi como profármaco mediante el cual el grupo protector de carboxi se puede escindir fácilmente *in vivo*, por ejemplo mediante hidrólisis enzimática, para liberar el progenitor biológicamente activo. Tales grupos protectores de carboxi son bien conocidos para los expertos en la técnica, ya que se han usado ampliamente en la protección de grupos carboxilo en los campos de penicilina y cefalosporina como se describe en la Patentes de los Estados Unidos Nos. 3,840,556 y 3,719,667. Los grupos protectores de carboxi representativos son alquilo inferior C₁-Cs (por ejemplo, metilo, etilo o t-butilo y similares); arilalquilo tal como fenetilo o bencilo y derivados sustituidos de los mismos tales

como grupos alcoxibencilo o nitrobencilo y similares; arilalquenilo tal como feniletenilo y similares; arilo y derivados sustituidos del mismo tales como 5-indanilo y similares; dialquilaminoalquilo tal como dimetilaminoetilo y similares); grupos alcanoiloxialquilo tales como acetoximetilo, butiriloximetilo, valeriloximetilo, isobutiriloximetilo, isovaloriloximetilo, 1-(propioniloxi)-1-etilo, 1-(pivaloiloxilo)-1-etilo, 1-metil-1-(propioniloxi)-1-etilo, pivaloiloximetilo, propioniloximetilo y similares; grupos cicloalcanoiloxialquilo tales como ciclopropilcarboniloximetilo, ciclobutilcarboniloximetilo, ciclopentilcarboniloximetilo, ciclohexilcarboniloximetilo y similares; aroloxialquilo tal como benzoiloximetilo, benzoiloxietilo y similares; arilalquilcarboniloxialquilo tal como bencilcarboniloximetilo, 2-bencilcarboniloxietilo y similares; alcoxicarbonilalquilo o cicloalquilocarbonilalquilo tales como metoxicarbonilmetilo, ciclohexiloxicarbonilmetilo, 1-metoxicarbonil-1-etilo y similares; alcoxicarboniloxialquilo o 10 cicloalquilocarboniloxialquilo tal como metoxicarboniloximetilo, t-butiloxicarboniloximetilo, 1-etoxicarboniloxi-1-etilo, 1-ciclohexiloxicarboniloxi-1-etilo y similares; ariloxicarboniloxialquilo tal como 2-(fenoxicarboniloxi)etilo, 2-(5-indaniloxicarboniloxi)etilo y similares; alcoxialquilcarboniloxialquilo tal como 2-(1-metoxi-2-metilpropan-2-oiloxi)etilo y similares; arilalquilocarboniloxialquilo tal como 2-(benciloxicarboniloxi)etilo y similares; arilalqueniloxicarboniloxialquilo tal como 2-(3-fenilpropen-2-iloxicarboniloxi)etilo y similares; alcoxicarbonilaminocalquilo tal como t-butiloxicarbonilaminometilo y similares; alquilaminocarbonilaminocalquilo tal como metilaminocarbonilaminometilo y similares; alcanoilaminoalquilo tal como acetilaminometilo y similares; carboniloxialquilo heterocíclico tal como 4-metilpiperazinilcarboniloximetilo y similares; dialquilaminocarbonilalquilo tal como dimetilaminocarbonilmetilo, dietilaminocarbonilmetilo y similares; (5-(alquilo inferior)-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)alquilo tal como (5-t-butil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo y similares ; y (5-fenil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)alquilo tal como (5-fenil-2-oxo-1,3-dioxolen-4-il)metilo y similares. Los grupos protectores de amida carboxi representativos son los grupos aminocarbonilo y alquilaminocarbonilo inferior. Por ejemplo, el ácido aspártico se puede proteger en el α-C-terminal por un grupo ácido lábil (por ejemplo, t-butilo) y protegido en el β-C-terminal por un grupo lábil a la hidrogenación (por ejemplo, bencilo) y luego desprotegido selectivamente durante la síntesis. Como se mencionó anteriormente, el grupo carboxi protegido también puede ser un éster de alquilo inferior, cicloalquilo o arilalquilo, por ejemplo, éster metílico, éster etílico, éster propílico, éster isopropílico, éster butílico, éster sec-butílico, éster isobutílico, éster amílico, éster isoamílico, éster octílico, éster ciclohexílico, éster feniletílico y similares o un éster alcanoiloxialquilo, cicloalcanoiloxialquilo, aroloxialquilo o arilalquilcarboniloxialquilo.

Una "cadena alifática" comprende las clases de alquilo, alquenilo y alquinilo definidas a continuación. Una cadena alifática lineal está limitada a unidades estructurales de cadena de carbono no ramificados. Como se usa en este documento, el término "grupo alifático" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático de cadena lineal, de cadena ramificada o cíclico e incluye grupos alifáticos saturados e insaturados, tales como un grupo alquilo, un grupo alquenilo o un grupo alquinilo.

"Alquilo" se refiere a una unidad estructural de cadena de carbono cíclico o acíclico, ramificado o no ramificado, completamente saturado que tiene el número de átomos de carbono especificado, o hasta 30 átomos de carbono si no se hace ninguna especificación. Por ejemplo, alquilo de 1 a 8 átomos de carbono se refiere a unidades estructurales tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo y octilo, y aquellas unidades estructurales que son isómeros posicionales de estas unidades estructurales. Alquilo de 10 a 30 átomos de carbono incluye decilo, undecilo, dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo, eicosilo, heneicosilo, docosilo, tricosilo y tetracosilo. En ciertas realizaciones, un alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 30 o menos átomos de carbono en su cadena principal (por ejemplo, C₁-C₃₀ para cadenas rectas, C₃-C₃₀ para cadenas ramificadas), y más preferiblemente 20 o menos.

"Cicloalquilo" significa anillos carbocíclicos saturados mono o bicíclicos o en puente, cada uno de los cuales tiene de 3 a 12 átomos de carbono. Asimismo, los cicloalquilos preferidos tienen de 5 a 12 átomos de carbono en su estructura de anillo, y más preferiblemente tienen de 6 a 10 átomos de carbono en la estructura de anillo.

45 A menos que se especifique lo contrario en el número de carbonos, "alquilo inferior", como se usa en este documento, significa un grupo alquilo, como se define anteriormente, pero que tiene de uno a diez carbonos, más preferiblemente de uno a seis átomos de carbono en su estructura principal, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y tert-butilo. Asimismo, "alquenilo inferior" y "alquinilo inferior" tienen longitudes de cadena similares. A lo largo de la solicitud, los grupos alquilo preferidos son alquilos inferiores. En ciertas realizaciones, un 50 sustituyente designado en este documento como alquilo es un alquilo inferior.

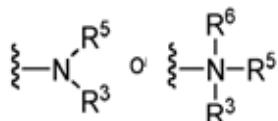
"Alquenilo" se refiere a cualquier unidad estructural de cadena de carbono insaturado, cíclico o acíclico, ramificado o no ramificado, que tiene el número de átomos de carbono especificado, o hasta 26 átomos de carbono si no se especifica limitación en el número de átomos de carbono; y que tiene uno o más dobles enlaces en la unidad estructural. Ejemplos de alquenilo de 6 a 26 átomos de carbono son hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo, undecenilo, dodenilo, tridecenilo, tetradecenilo, pentadecenilo, hexadecenilo, heptadecenilo, octadecenilo, nonadecenilo, eicosenilo, heneicosenilo, docosenilo, tricosenilo y tetracosenilo, en sus diversas formas isoméricas, donde el(los) enlace(s) insaturado(s) puede(n) ubicarse en cualquier parte de la unidad estructural y puede tener la configuración (Z) o (E) sobre el(los) doble(s) enlace(s).

"Alquinilo" se refiere a unidades estructurales hidrocarbilo del alcance de alquenilo, pero que tienen uno o más enlaces triples en la unidad estructural.

El término "alquiltio" se refiere a un grupo alquilo, como se define anteriormente, que tiene una unidad estructural de azufre unido al mismo. En ciertas realizaciones, la unidad estructural "-alquiltio-" está representado por uno de -(S)-alquilo, -(S)-alquenilo, -(S)-alquinilo y -(S)-(CH₂)_m-R¹, en el que m y R¹ se definen a continuación. Los grupos alquiltio representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

- 5 Los términos "alcoxilo" o "alcoxi", como se usan en este documento, se refieren a un grupo alquilo, como se define a continuación, que tiene una unidad estructural de oxígeno unido al mismo. Los grupos alcoxilo representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, tert-butoxi y similares. Un "éter" son dos hidrocarburos unidos covalentemente por un oxígeno. De acuerdo con lo anterior, el sustituyente de un alquilo que convierte al alquilo en un éter es o se parece a un alcoxilo, tal como puede representarse por uno de -O-alquilo, -O-alquenilo, -O-alquinilo, -O-(CH₂)_m-R¹, donde m y R¹ se describen a continuación.

10 Los términos "amina" y "amino" se reconocen en la técnica y se refieren tanto a aminas sustituidas como no sustituidas, por ejemplo, una unidad estructural que puede representarse mediante las fórmulas:



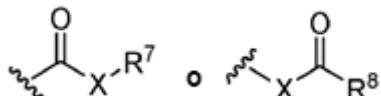
- 15 20 en las que R³, R⁵ y R⁶ cada uno representa independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, -(CH₂)_m-R¹, o R³ y R⁵ tomados junto con el átomo de N al que están unidos, completan un heterociclo que tiene de 4 a 8 átomos en la estructura del anillo; R¹ representa un alquenilo, arilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclico o policíclico; y m es cero o un número entero en el intervalo de 1 a 8. En ciertas realizaciones, solo uno de R³ o R⁵ puede ser un carbonilo, por ejemplo, R³, R⁵, y el nitrógeno juntos no forman una imida. En realizaciones aún más ciertas, R³ y R⁵ (y opcionalmente R⁶) cada uno representa independientemente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o -(CH₂)_m-R¹. De este modo, el término "alquilamina", tal como se usa en este documento, significa un grupo amino, como se definió anteriormente, que tiene un alquilo sustituido o no sustituido unido al mismo, es decir, al menos uno de R₃ y R₅ es un grupo alquilo. En ciertas realizaciones, un grupo amino o una alquilamina es básico, lo que significa que tiene un ácido conjugado con un pK_a ≥ 7.00, es decir, las formas protonadas de estos grupos funcionales tienen pK_as en relación con el agua por encima de aproximadamente 7.00.

- 25 30 El término "arilo" como se usa en este documento incluye grupos aromáticos policíclicos y de un solo anillo sustituidos o no sustituidos de 5 a 12 miembros en los que cada átomo del anillo es carbono (es decir, arilo carbocíclico). Preferiblemente, los grupos arilo incluyen anillos de 5 a 12 miembros, más preferiblemente anillos de 6 a 10 miembros. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es aromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos y/o heterociclos. Los grupos arilo carbocíclicos incluyen benceno, naftaleno, antraceno, fenantreno, fenol, anilina y similares.

- 35 40 El término "heteroarilo", como se usa en este documento, incluye grupos aromáticos policíclicos y de un solo anillo sustituidos o no sustituidos de 5 a 12 miembros en los que uno o más átomos del anillo o sistema de anillos aromáticos son heteroátomos. Preferiblemente, los grupos heteroarilo incluyen anillos de 5 a 12 miembros, más preferiblemente anillos de 6 a 10 miembros. El término "heteroarilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en los que dos o más átomos son comunes a dos anillos contiguos en los que al menos uno de los anillos es heteroaromático, por ejemplo, los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenilos, cicloalquinilos, arilos, heteroarilos y/o heterociclos. Los grupos heteroarilo incluyen estructuras de anillo de 5 a 12 miembros aromáticas sustituidas o no sustituidas, más preferiblemente anillos de 6 a 10 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. Los grupos heteroarilo incluyen, por ejemplo, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina, pirimidina, purina, quinolina, isoquinolina, carbazol y similares.

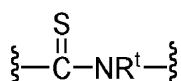
- 45 50 55 El término "heterociclico" o "grupo heterocíclico" se refiere a estructuras de anillo de 3 a 18 miembros, más preferiblemente anillos de 5 a 12 miembros, más preferiblemente anillos de 6 a 10 miembros, cuyas estructuras de anillo incluyen de uno a cuatro heteroátomos. Los heterociclos también pueden ser policíclicos. Los grupos heterociclico incluyen, por ejemplo, tiofeno, tianreno, furano, pirano, isobenzofurano, cromeno, xanteno, fenoxatiina, pirrol, imidazol, pirazol, isotiazol, isoxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazina, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, cininolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, pirimidina, fenantrolina, fenazina, fenarsazina, fenotiazina, furazan, fenoazina, pirrolidina, oxolano, tiolano, oxazol, piperidina, piperazina, morfolina, lactonas, lactamas tales como azetidinonas y pirrolidinonas, sultamas, sultonas y similares. El anillo heterocíclico puede estar sustituido en una o más posiciones con sustituyentes como los descritos anteriormente, como por ejemplo, halógeno, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfato, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, sulfamoilo, sulfinilo, éter, alquiltio, sulfonilo, cetona, aldehído, éster, un heterociclico, una unidad estructural aromática o heteroaromática, -CF₃, -CN y similares.

El término "carbonilo" está reconocido en la técnica e incluye tales unidades estructurales que pueden representarse mediante la fórmula:



- 5 en las que X es un enlace o representa un oxígeno o un azufre, y R⁷ representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, -(CH₂)_m-R¹, o una sal farmacéuticamente aceptable, R⁸ representa un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o -(CH₂)_m-R¹, donde m y R¹ son como se definen arriba. Donde X es un oxígeno y R⁷ o R⁸ no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Donde X es un oxígeno y R⁷ es como se definió anteriormente, la unidad estructural se denomina en este documento grupo carboxilo, y en particular cuando R⁷ es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico". Donde X es un oxígeno y R⁸ es un hidrógeno, la fórmula representa un "formiato". En general, cuando el átomo de oxígeno de la fórmula anterior se reemplaza por un azufre, la fórmula representa un grupo "tiocarbonilo". Donde X es un azufre y R⁷ o R⁸ no es hidrógeno, la fórmula representa un grupo "tioéster". Donde X es un azufre y R⁷ es un hidrógeno, la fórmula representa un grupo "ácido tiocarboxílico". Donde X es un azufre y R⁸ es un hidrógeno, la fórmula representa un grupo "tioformiato". Por otro lado, donde X es un enlace y R⁷ no es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "cetona". Donde X es un enlace y R⁷ es un hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "aldehído".
- 10
- 15

El término "tioxamida", como se usa en este documento, se refiere a una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:

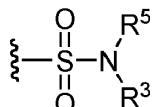


- 20 en la que R^t se selecciona del grupo que consiste en el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, aralquilo o arilo, preferiblemente hidrógeno o alquilo. Además, los compuestos "derivados de tioxamida" o "análogos de tioxamida" se refieren a compuestos en los que uno o más grupos amida han sido reemplazados por uno o más grupos tioxamida correspondientes. Las tioxamidas también se denominan en la técnica "tioamidas".

- 25 Como se usa en este documento, se contempla que el término "sustituido" incluya todos los sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos de compuestos orgánicos. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, por ejemplo, los descritos anteriormente en este documento. Los sustituyentes permitidos pueden ser uno o más e iguales o diferentes para compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de esta invención, los heteroátomos tales como el nitrógeno pueden tener sustituyentes de hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de los compuestos orgánicos descritos en este documento que satisfagan las valencias de los heteroátomos. No se pretende que esta invención esté limitada de ninguna manera por los sustituyentes permisibles de los compuestos orgánicos. Se entenderá que "sustitución" o "sustituido con" incluye la condición implícita de que tal sustitución está de acuerdo con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución da como resultado un compuesto estable, por ejemplo, sufrir transformaciones tales como por reordenamiento, ciclización, eliminación, etc.
- 30
- 35

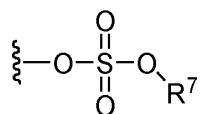
- Como se usa en este documento, el término "nitro" significa -NO₂; el término "halógeno" designa -F, -Cl, -Br o -I; el término "sulfhidrilo" significa -SH; el término "hidroxilo" significa -OH; el término "sulfonilo" significa -SO₃²⁻; el término "azido" significa -N₃; el término "ciano" significa -CN; el término "isocianato" significa -NCO; el término "tiocianato" significa -SCN; el término "isotiocianato" significa -NCS; y el término "cianato" significa -OCN.

- 40 El término "sulfamoilo" se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:



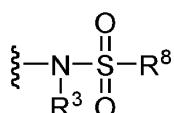
en la que R³ y R⁵ son como se definen arriba.

El término "sulfato" se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:



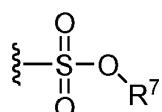
en la que R⁷ es como se define arriba.

El término "sulfonamida" se reconoce en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:



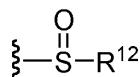
en la que R³ y R⁸ son como se definen arriba.

El término "sulfonato" está reconocido en la técnica e incluye una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:



- 10 en la que R⁷ es un par de electrones, hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o arilo.

Los términos "sulfoxido" o "sulfinilo", tal como se usan en este documento, se refieren a una unidad estructural que se puede representar mediante la fórmula:



- 15 en la que R¹² se selecciona del grupo que consiste en el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclico, aralquilo o arilo.

El término "proteasa de serina DASH" significa actividad de dipeptidil peptidasa (DPP) IV y/o homólogos estructurales de la misma. Estas proteínas son enzimas que están unidas por su mecanismo común de serina dipeptidasa posterior a la escisión de prolina.

- 20 Como se usa en este documento, la definición de cada expresión, por ejemplo, alquilo, m, n, etc., cuando aparece más de una vez en cualquier estructura, pretende ser independiente de su definición en cualquier otra parte de la misma estructura.

Para los fines de esta invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla periódica de los elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 67th ed., 1986-87, cubierta interior.

- 25 Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas geométricas o estereoisoformáticas particulares. La presente invención contempla todos estos compuestos, incluidos los isómeros cis y trans, R- y S-enantiómeros, diastereómeros, (D)-isómeros, (L)-isómeros, las mezclas racémicas de los mismos y otras mezclas de los mismos, que caen dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Se pretende que todos estos isómeros, así como sus mezclas, se incluyan en esta invención.

- 30 Si, por ejemplo, se desea un enantiómero particular de un compuesto de la presente invención, se puede preparar por síntesis asimétrica o por derivación con un auxiliar quiral, donde la mezcla diastereoisomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar el enantiómero puro deseado. Alternativamente, cuando la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, se forman sales diastereoisoméricas con un ácido o base ópticamente activo adecuado, seguido de la resolución de los diastereómeros así formados por cristalización fraccionada o medios cromatográficos bien conocidos en la técnica, y posterior recuperación del enantiómero puro.

Terapia conjunta

- 40 Los compuestos de la invención se pueden combinar con otros agentes terapéuticos. El compuesto de la invención y otro agente terapéutico pueden administrarse simultáneamente o secuencialmente. Cuando los otros agentes terapéuticos se administran simultáneamente, se pueden administrar en la misma formulación o en formulaciones separadas, pero se administran sustancialmente al mismo tiempo. Los otros agentes terapéuticos se administran secuencialmente con

un compuesto de la invención cuando la administración de los otros agentes terapéuticos se separa temporalmente de la administración del compuesto de la invención. La separación en el tiempo entre la administración de estos compuestos puede ser cuestión de minutos o puede ser más larga.

- 5 Los compuestos de la invención también se pueden administrar junto con una terapia contra el cáncer. Las terapias contra el cáncer incluyen medicamentos contra el cáncer, radiación y procedimientos quirúrgicos. Como se usa en este documento, un "medicamento para el cáncer" se refiere a un agente que se administra a un sujeto con el fin de tratar un cáncer. Como se usa en este documento, "tratar un cáncer" incluye prevenir el desarrollo de un cáncer, reducir los síntomas del cáncer y/o inhibir el crecimiento de un cáncer establecido. En una realización, "tratar un cáncer" significa reducir los síntomas del cáncer y/o inhibir el crecimiento de un cáncer establecido, ya sea en un sitio primario o metastásico. En este documento se describen diversos tipos de medicamentos para el tratamiento del cáncer. A los efectos de esta especificación, los medicamentos contra el cáncer se clasifican como agentes quimioterapéuticos, agentes inmunoterapéuticos, vacunas contra el cáncer, terapia hormonal y modificadores de la respuesta biológica.
- 10 Se puede seleccionar un agente quimioterapéutico del grupo que consiste en metotrexato, vincristina, adriamicina, cisplatino, cloroetilnitrosoureas que no contienen azúcar, 5-fluorouracilo, mitomicina C, bleomicina, doxorubicina, dacarbazine, taxol, fragilina, meglamina GLA, valrubicina, carmustaina y poliferosan, MMI270, BAY 12-9566, inhibidor de farnesil transferasa RAS, inhibidor de farnesil transferasa, MMP, MTA/LY231514, LY264618/Lometexol, Glamolec, CI-994, TNP-470, Hycamtin/Topotecan, PKC412, Valspodar/PSC833, Novantrone/Mitroxantrone, Metaret/Suramin, Batimastat, E7070, BCH-4556, CS-682, 9-AC, AG3340, AG3433, Incel/VX-710, VX-853, ZD0101, ISI641, ODN 698, TA 2516/Marmistat, BB2516/Marmistat, CDP 845, D2163, PD183805, DX8951f, Lemonal DP 2202, FK 317, Picibanil/OK-432, AD 32/Valrubicina, Metastron/derivado de estroncio, Temodal/Temozolomida, Evacet/doxorubicina liposomal, Yewtaxan/Paclitaxel, Taxol/Paclitaxel, Xeloda/capecitabina, furtulon/doxifluridina, Cyclopax/paclitaxel oral, taxoide oral, SPU-077/cisplatino, HMR 1275/flavopiridol, CP-358 (774)/EGFR, CP-609 (754)/inhibidor del oncogén RAS, BMS-182751/platino oral, UFT (Tegafur/LTracil), Ergamisol/Levamisol, Eniluracil/potenciador 776C85/5FU, Campot/Levamisol, Camptosar/Irinotecan, Tumodex/Raltrexed, Leustatin/Cladribine, Paxex/Paclitaxel, 20 Doxil/doxorubicina liposomal, Caelyx/liposomal doxorubicina, Fludara/Fludarabina, Farmarrubicina/Epirubicina, DepoCyt, ZD1839, LU 79553/Bis-naftalimida, LU 103793/Dolastain, Caetyx/doxorubicina liposomal, Gemzar/Gemcitabina, ZD 0473/Anormed, YM 116, semillas de yodo, CDK4 y CD inhibidores de K2, inhibidores de PARP, D4809/Dexifosamide, Ifes/Mesnex/Ifosamide, Vumon/Teniposide, Paraplatin/Carboplatin, Plantinol/cisplatino, Vepeside/Etoposide, ZD 9331, Taxotere/Docetaxel, profármaco de arabinósido de guanina, análogo de taxano, 30 nitrosoureas, agentes alquilantes tales como melfelan y ciclofosfamida, aminoglutetimida, asparaginasa, busulfán, carboplatino, clorombucilo, citarabina HCl, dactinomicina, daunorubicina HCl, estramustina fosfato sódico, etopósido (VP16-213), floxuridina, fluorouracilo (5-FU), flutamida, hidroxiurea (hidroxicarbamida), Ifosfamida, interferón alfa-2a, alfa-2b, acetato de leuprolida (análogo del factor liberador de LHRH), lomustina (CCNU), clorhidrato de mecloretamina (mostaza nitrogenada), mercaptopericina, mesna, mitotano (o.p'-DDD), clorhidrato de mitoxantrona, octreótido, 35 plicamicina, clorhidrato de procarbazina, estreptozacina, citrato de tamoxifeno, tioguanina, tiotepa, sulfato de vinblastina, amsacrina (m-AMSA), azacitidina, ertropoyetina, hexametilmelamina (HMM), interleucina 2, mitoguazona (metil-GAG; metilgioxal bis-guanilhidrazona; MGBG), pentostatina (2'desoxicofomicina), semustina (metil-CCNU), tenipósido (VM-26) y sulfato de vindesina, pero no es tan limitado.
- 40 Se puede seleccionar un agente inmunoterapéutico del grupo que consiste en Ributaxin, Herceptin, Quadramet, Panorex, IDEC-Y2B8, BEC2, C225, Oncolym, SMART M195, ATRAGEN, Ovarex, Bexxar, LDP-03, ior t6, MDX-210, MDX -11, MDX-22, OV103, 3622W94, anti-VEGF, Zenapax, MDX-220, MDX-447, MELIMMUNE-2, MELIMMUNE-1, CEACIDE, Pretarget, NovoMAb-G2, TNT, Gliomab-H, GNI-250, EMD-72000, LymphoCide, CMA 676, Monopharm-C, 4B5, ior egf.r3, ior c5, BABS, anti-FLK-2, MDX-260, ANA Ab, SMART 1D10 Ab, SMART ABL 364 Ab e ImmuRAIT- CEA, pero no es tan limitado.
- 45 Una vacuna contra el cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en EGF, vacunas anti-idiotípicas contra el cáncer, antígeno gp75, vacuna contra el melanoma GMK, vacuna conjugada con gangliósido MGV, Her2/neu, Ovarex, M-Vax, O-Vax, L-Vax, STn-KHL theratope, BLP25 (MUC-1), vacuna idiotípica liposomal, melacina, vacunas de antígeno peptídico, vacunas de toxina/antígeno, vacuna basada en MVA, PACIS, vacuna BCG, TA-HPV, TA-CIN, virus DISC e ImmuCyst/ TheraCys, pero no es tan limitado.
- 50 Los compuestos de la invención también se pueden administrar junto con un agente antiinflamatorio. Los agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), oro elemental, adrenocorticosteroides, vitamina D, vitamina E y estatinas (inhibidores de la HMG-Co-A reductasa). Los NSAID incluyen, entre otros, aspirina, salicilato de colina, celecoxib, diclofenaco potásico, diclofenaco sódico, diflunisal, etodolaco, fenoprofeno cálcico, flurbiprofeno, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, salicilato de magnesio, meclofenamato sódico, ácido 55 mefenámico, me洛xicam, nabumetona, naproxeno, naproxeno sodio, oxaprozina, piroxicam, rofecoxib, salsalato, salicilato de sodio, sulindaco, tolmetina sódica y valdecoxib. Los adrenocorticosteroides incluyen, entre otros, betametasona, cortisol (hidrocortisona), cortisona, dexametasona, fludrocortisona, fluticasona, metilprednisolona, parametasona, prednisolona, prednisona, tetrahidrocortisol y triamcinolona. Las estatinas incluyen, sin limitación, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina, rosuvastatina y simvastatina.
- 60 Dosis & Regímenes de dosificación

- Como se indicó anteriormente, una "cantidad eficaz" se refiere a cualquier cantidad que sea suficiente para lograr un efecto biológico deseado. En combinación con las enseñanzas proporcionadas en este documento, al elegir entre los diversos compuestos activos y factores de ponderación tales como la potencia, la biodisponibilidad relativa, el peso corporal del paciente, la gravedad de los efectos secundarios adversos y el modo de administración preferido, se puede planificar un régimen de tratamiento profiláctico o terapéutico efectivo. que no provoca una toxicidad no deseada sustancial y, sin embargo, es eficaz para tratar el sujeto particular. La cantidad eficaz para cualquier aplicación particular puede variar dependiendo de factores tales como la enfermedad o afección que se está tratando, el compuesto particular de la invención que se está administrando, el tamaño del sujeto o la gravedad de la enfermedad o afección. Un experto en la técnica puede determinar empíricamente la cantidad eficaz de un compuesto particular de la invención y/u otro agente terapéutico sin necesidad de una experimentación indebida. Generalmente se prefiere que se use una dosis máxima, es decir, la dosis segura más alta según algún criterio médico. Se pueden contemplar múltiples dosis por día para lograr niveles sistémicos apropiados de compuestos. Los niveles sistémicos apropiados pueden determinarse, por ejemplo, mediante la medición del nivel plasmático máximo o sostenido del fármaco en el paciente. "Dosis" y "dosificación" se usan en este documento de forma intercambiable.
- Para cualquier compuesto descrito en este documento, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede determinar inicialmente a partir de modelos animales. También puede determinarse una dosis terapéuticamente eficaz a partir de datos humanos para compuestos de la invención que se han probado en humanos y para compuestos que se sabe que muestran actividades farmacológicas similares, tales como otros agentes activos relacionados. Pueden ser necesarias dosis más altas para la administración oral que para la administración parenteral. La dosis aplicada se puede ajustar en función de la biodisponibilidad relativa y la potencia del compuesto administrado. Ajustar la dosis para lograr la máxima eficacia en base a los métodos descritos anteriormente y otros métodos bien conocidos en la técnica está dentro de las capacidades del experto en la materia.
- Generalmente, las dosis intravenosas diarias del compuesto o compuestos activos serán de aproximadamente 0.001 miligramos/kg por día a 100 miligramos/kg por día. Se espera que dosis intravenosas en el intervalo de 0.05 a 5 miligramos/kg, en una o varias administraciones por día, den los resultados deseados. La invención también contempla la dosificación intravenosa en otros programas, por ejemplo, cada dos días, quincenal, semanal, quincenal y mensual. La invención también contempla una dosificación similar para otras vías parenterales de administración.
- Generalmente, las dosis orales diarias del compuesto o compuestos activos serán de aproximadamente 0.01 miligramos/kg por día a 1000 miligramos/kg por día. Se espera que dosis orales en el intervalo de 0.5 a 50 miligramos/kg, en una o varias administraciones por día, den los resultados deseados. La invención también contempla la dosificación oral en otros programas, por ejemplo, cada dos días, quincenal, semanal, quincenal y mensualmente.
- La dosificación se puede ajustar apropiadamente para alcanzar los niveles de fármaco deseados, locales o sistémicos, dependiendo del modo de administración. Por ejemplo, se espera que la administración intravenosa sea desde un orden hasta varios órdenes de magnitud de dosis más baja por día. En el caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente a tales dosis, pueden emplearse incluso dosis más altas (o dosis más altas efectivas por una vía de administración diferente y más localizada) en la medida en que lo permita la tolerancia del paciente. Se contemplan múltiples dosis por día para lograr niveles sistémicos apropiados de los compuestos.
- Formulaciones farmacéuticas & Modos de administración**
- Las formulaciones de la invención se administran en soluciones farmacéuticamente aceptables, que pueden contener habitualmente concentraciones farmacéuticamente aceptables de sal, agentes reguladores, conservantes, vehículos compatibles, adyuvantes y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos.
- Para uso en terapia, se puede administrar una cantidad eficaz del compuesto de la invención a un sujeto mediante cualquier modo que suministre el compuesto de la invención a la superficie deseada. La administración de la composición farmacéutica de la presente invención puede realizarse por cualquier medio conocido por el experto en la materia. Las vías de administración incluyen, pero no se limitan a, oral, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, inyección directa (por ejemplo, en un tumor), mucosa, inhalación y tópica.
- Para la administración oral, los compuestos (es decir, los compuestos de la invención y otros agentes terapéuticos) se pueden formular fácilmente combinando los compuestos activos con portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales portadores permiten que los compuestos de la invención se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por parte de un sujeto que se va a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para su uso oral se pueden obtener como excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de agregar auxiliares apropiados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes apropiados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmethylcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden agregar agentes disgregantes, como la polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una de sus sales, tales como el alginato sódico. Opcionalmente, las formulaciones orales

también pueden formularse en solución salina o agentes reguladores, por ejemplo, EDTA para neutralizar las condiciones ácidas internas o pueden administrarse sin ningún portador.

También se contemplan específicamente formas de dosificación oral del componente o componentes anteriores. El componente o componentes pueden modificarse químicamente para que la administración oral del derivado sea eficaz.

5 Generalmente, la modificación química contemplada es la unión de al menos una unidad estructural a la propia molécula componente, donde dicha unidad estructural permite (a) la inhibición de la hidrólisis ácida; y (b) captación en el torrente sanguíneo desde el estómago o el intestino. También se desea el aumento de la estabilidad global del componente o componentes y el aumento del tiempo de circulación en el cuerpo. Los ejemplos de dichas unidades estructurales incluyen: polietilenglicol, copolímeros de etilenglicol y propilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y poliprolina Abuchowski and Davis, "Soluble Polymer-Enzyme Adducts", In: Enzymes as Drugs, Hocenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., pp. 367-383 (1981); Newmark et al., J Appl Biochem 4:185-9 (1982). Otros polímeros que podrían usarse son poli-1,3-dioxolano y poli-1,3,6-tioxocano. Preferidas para su uso farmacéutico, como se indicó anteriormente, son las unidades estructurales de polietilenglicol.

10 15 Para el componente (o derivado), el lugar de liberación puede ser el estómago, el intestino delgado (el duodeno, el yeyuno o el ileón) o el intestino grueso. Un experto en la técnica tiene formulaciones disponibles que no se disolverán en el estómago, pero que liberarán el material en el duodeno o en cualquier otra parte del intestino. Preferiblemente, la liberación evitará los efectos nocivos del entorno estomacal, ya sea mediante la protección del compuesto de la invención (o derivado) o mediante la liberación del material biológicamente activo más allá del entorno estomacal, tal como en el intestino.

20 25 Para garantizar una resistencia gástrica completa, es esencial un recubrimiento impermeable a un pH de al menos 5,0. Ejemplos de los ingredientes inertes más comunes que se usan como recubrimientos entéricos son acetato de celulosa trimelitato (CAT), hidroxipropilmetylcelulosa ftalato (HPMCP), HPMCP 50, HPMCP 55, polivinil acetato ftalato (PVAP), Eudragit L30D, Aquateric, acetato de celulosa ftalato (CAP), Eudragit L, Eudragit S y goma laca. Estos recubrimientos pueden usarse como películas mixtas.

30 35 También se puede usar un recubrimiento o una mezcla de recubrimientos en comprimidos, que no están destinadas a la protección contra el estómago. Esto puede incluir recubrimientos de azúcar o recubrimientos que hacen que la comprimido sea más fácil de tragar. Las cápsulas pueden consistir en una cubierta dura (como gelatina) para administrar productos terapéuticos secos (por ejemplo, polvo); para formas líquidas, se puede usar una cubierta de gelatina blanda. El material de la cubierta de los sellos podría ser almidón espeso u otro papel comestible. Para píldoras, comprimidos para deshacer en la boca, comprimidos moldeadas o triturados de comprimidos, se pueden usar técnicas de masa húmeda.

40 45 El agente terapéutico se puede incluir en la formulación como multipartículas finas en forma de gránulos o pellas con un tamaño de partícula de aproximadamente 1 mm. La formulación del material para la administración en cápsula también podría ser en forma de polvo, tapones ligeramente comprimidos o incluso comprimidos. El terapéutico podría prepararse por compresión.

50 55 Se pueden incluir todos los colorantes y agentes aromatizantes. Por ejemplo, el compuesto de la invención (o derivado) se puede formular (tal como por encapsulación en liposomas o microesferas) y luego contenerlo dentro de un producto comestible, tal como una bebida refrigerada que contiene colorantes y agentes saborizantes.

40 45 Se puede diluir o aumentar el volumen del agente terapéutico con un material inerte. Estos diluyentes podrían incluir carbohidratos, especialmente manitol, α-lactosa, lactosa anhidra, celulosa, sacarosa, dextranos modificados y almidón. Ciertas sales inorgánicas también se pueden usar como agentes de carga, incluidos trifosfato de calcio, carbonato de magnesio y cloruro de sodio. Algunos diluyentes disponibles comercialmente son Fast-Flo, Emdex, STA-Rx 1500, Emcompress y Avicell.

50 55 45 Los desintegrantes pueden incluirse en la formulación del agente terapéutico en una forma de dosificación sólida. Los materiales usados como desintegrantes incluyen pero no se limitan a almidón, incluido el desintegrante comercial basado en almidón, Explotab. Se puede utilizar glicolato de almidón sódico, amberlita, carboximetilcelulosa sódica, ultramilopectina, alginato sódico, gelatina, piel de naranja, carboximetilcelulosa ácida, esponja natural y bentonita. Otra forma de desintegrantes son las resinas de intercambio catiónico insolubles. Las gomas en polvo se pueden usar como desintegrantes y como aglutinantes y éstas pueden incluir gomas en polvo tales como agar, karaya o tragacanto. El ácido algínico y su sal de sodio también son útiles como desintegrantes.

55 Se pueden usar aglutinantes para mantener unido el agente terapéutico para formar un comprimido duro e incluir materiales de productos naturales tales como acacia, tragacanto, almidón y gelatina. Otros incluyen metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y carboximetilcelulosa (CMC). La polivinilpirrolidona (PVP) y la hidroxipropilmetylcelulosa (HPMC) podrían usarse en soluciones alcohólicas para granular el tratamiento.

Puede incluirse un agente antifricción en la formulación del producto terapéutico para evitar que se pegue durante el procedimiento de formulación. Los lubricantes se pueden usar como una capa entre el agente terapéutico y la pared del troquel, y estos pueden incluir pero no se limitan a; ácido esteárico incluidas sus sales de magnesio o calcio,

politetrafluoroetileno (PTFE), parafina líquida, aceites vegetales y ceras. También se pueden utilizar lubricantes solubles tales como laurilsulfato de sodio, laurilsulfato de magnesio, polietilenglicol de diversos pesos moleculares, Carbowax 4000 y 6000.

5 Se pueden agregar deslizantes que podrían mejorar las propiedades de flujo del fármaco durante la formulación y para ayudar a la reorganización durante la compresión. Los deslizantes pueden incluir almidón, talco, sílice pirogénica y silicoaluminato hidratado.

10 Para ayudar a la disolución del agente terapéutico en el entorno acuoso, se puede agregar un surfactante como agente humectante. Los surfactantes pueden incluir detergentes aniónicos tales como laurilsulfato de sodio, sulfosuccinato de dioctilo y sodio y sulfonato de dioctilo y sodio. Detergentes catiónicos que pueden usarse y pueden incluir cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. Los detergentes no iónicos potenciales que podrían incluirse en la formulación como surfactantes incluyen lauromacrogol 400, esteárate de polioxíxido 40, aceite de ricino hidrogenado con polioxietileno 10, 50 y 60, monoestearato de glicerol, polisorbato 40, 60, 65 y 80, éster de ácido graso de sacarosa, metil celulosa y carboximetilcelulosa. Estos surfactantes podrían estar presentes en la formulación del compuesto de la invención o derivado ya sea solos o como una mezcla en diferentes proporciones.

15 Las preparaciones farmacéuticas que se pueden usar por vía oral incluyen cápsulas de gelatina que encajan a presión, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de encaje a presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con agente de carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o esteárate de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos apropiados, tales como aceites grasos, parafina líquida o polietilénglicos líquidos. Además, se pueden agregar estabilizantes. 20 También pueden usarse microesferas formuladas para administración oral. Tales microesferas han sido bien definidas en la técnica. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosis apropiadas para dicha administración.

25 Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o comprimidos para deshacer en la boca formulados de manera convencional.

30 Para la administración por inhalación, los compuestos para su uso de acuerdo con la presente invención pueden administrarse convenientemente en forma de una presentación de pulverizador de aerosol desde paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor apropiado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas apropiado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un inhalador o insuflador que contengan una mezcla de polvo del compuesto y una base de polvo apropiada tal como lactosa o almidón.

35 También se contempla en este documento la administración pulmonar de los compuestos de la invención (o derivados de los mismos). El compuesto de la invención (o derivado) se administra a los pulmones de un mamífero mientras se inhala y atraviesa el recubrimiento epitelial del pulmón hasta el torrente sanguíneo. Otros informes de moléculas inhaladas incluyen Adjei et al., Pharm Res 7:565-569 (1990); Adjei et al., Int J Pharmaceutics 63:135-144 (1990) (acetato de leuprolida); Braquet et al., J Cardiovasc Pharmacol 13(suppl. 5): 143-146 (1989) (endotelina-1); Hubbard et al., Annal Int Med 3:206-212 (1989) (α 1-antitripsina); Smith et al., 1989, J Clin Invest 84:1145-1146 (a-1-proteínaasa); Oswein et al., 1990, "Aerosolization of Proteins", Proceedings of Symposium on Respiratory Drug Delivery II, Keystone, 40 Colorado, March, (hormona de crecimiento humana recombinante); Debs et al., 1988, J Immunol 140:3482-3488 (interferón-gamma y factor de necrosis tumoral alfa) and Platz et al., U.S. Pat. No. 5,284,656 (factor estimulante de colonias de granulocitos). Un método y una composición para la administración pulmonar de fármacos para efectos sistémicos se describen en la Patente de los Estados Unidos No. 5,451,569, expedida el 19 de septiembre de 1995 a Wong et al.

45 Se contempla para su uso en la práctica de esta invención una amplia gama de dispositivos mecánicos diseñados para la administración pulmonar de productos terapéuticos, incluidos, pero no se limitan a, nebulizadores, inhaladores de dosis medidas e inhaladores de polvo, todos los cuales son familiares para los expertos en la técnica.

50 Algunos ejemplos específicos de dispositivos comercialmente disponibles apropiados para la práctica de esta invención son el nebulizador Ultravent, fabricado por Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Mo.; the Acorn II nebulizer, manufactured by Marquest Medical Products, Englewood, Colo.; el inhalador de dosis medida Ventolin, fabricado por Glaxo Inc., Research Triangle Park, Carolina del Norte; y el inhalador de polvo Spinhaler, fabricado por Fisons Corp., Bedford, Mass.

55 Todos estos dispositivos requieren el uso de formulaciones apropiadas para la dispensación del compuesto de la invención (o derivado). Por lo general, cada formulación es específica para el tipo de dispositivo empleado y puede implicar el uso de un material propulsor apropiado, además de los diluyentes, adyuvantes y/o portadores habituales útiles en la terapia. También se contempla el uso de liposomas, microcápsulas o microesferas, complejos de inclusión u otros tipos de portadores. El compuesto modificado químicamente de la invención también se puede preparar en diferentes formulaciones dependiendo del tipo de modificación química o el tipo de dispositivo empleado.

- Las formulaciones apropiadas para su uso con un nebulizador, ya sea de chorro o ultrasónico, por lo general comprenderán el compuesto de la invención (o derivado) disuelto en agua a una concentración de aproximadamente 0.1 a 25 mg del compuesto biológicamente activo de la invención por mL de solución. La formulación también puede incluir un solucion reguladora y un azúcar simple (por ejemplo, para la estabilización y regulación de la presión osmótica del compuesto de la invención). La formulación del nebulizador también puede contener un surfactante, para reducir o prevenir la agregación inducida en la superficie del compuesto de la invención provocada por la atomización de la solución al formar el aerosol.
- Las formulaciones para su uso con un dispositivo inhalador de dosis medida comprenderán generalmente un polvo finamente dividido que contiene el compuesto de la invención (o derivado) suspendido en un propulsor con la ayuda de un surfactante. El propulsor puede ser cualquier material convencional empleado para este propósito, tal como un clorofluorocarbono, un hidroclorofluorocarbono, un hidrofluorocarbono o un hidrocarburo, incluidos triclorofluorometano, díclorodifluorometano, díclorotetrafluoroetanol y 1,1,1,2-tetrafluoroetano, o combinaciones de los mismos. Los surfactantes apropiados incluyen trioleato de sorbitán y lecitina de soja. El ácido oleico también puede ser útil como surfactante.
- Las formulaciones para dispensar desde un dispositivo inhalador de polvo comprenderán un compuesto de la invención (o derivado) que contiene polvo seco finamente dividido y también puede incluir un agente de carga, tal como lactosa, sorbitol, sacarosa o manitol en cantidades que faciliten la dispersión del polvo del dispositivo, por ejemplo, del 50 al 90 % en peso de la formulación. El compuesto de la invención (o derivado) se debe preparar ventajosamente en forma de partículas con un tamaño de partícula promedio de menos de 10 micrómetros (μm), más preferiblemente de 0.5 a 5 μm , para una administración más efectiva a la profundidad del pulmón.
- También se contempla la administración nasal de una composición farmacéutica de la presente invención. La administración nasal permite el paso de una composición farmacéutica de la presente invención al torrente sanguíneo directamente después de administrar el producto terapéutico en la nariz, sin necesidad de depósito del producto en el pulmón. Las formulaciones para administración nasal incluyen aquellas con dextrano o ciclodexano.
- Para la administración nasal, un dispositivo útil es una botella pequeña y dura a la que se conecta un pulverizador de dosis medida. En una realización, la dosis medida se administra extrayendo la composición farmacéutica de la solución de la presente invención en una cámara de volumen definido, cuya cámara tiene una abertura dimensionada para aerosolizar y formular aerosol formando una pulverización cuando se comprime un líquido en la cámara. La cámara se comprime para administrar la composición farmacéutica de la presente invención. En una realización específica, la cámara es una disposición de pistón. Tales dispositivos están disponibles comercialmente.
- Alternativamente, se usa una botella comprimible de plástico con una abertura o abertura dimensionada para aerosolizar una formulación de aerosol formando una pulverización cuando se aprieta. La abertura generalmente se encuentra en la parte superior de la botella, y la parte superior generalmente se estrecha para encajar parcialmente en los conductos nasales para una administración eficaz de la formulación en aerosol. Preferiblemente, el inhalador nasal proporcionará una cantidad medida de la formulación en aerosol, para la administración de una dosis medida del fármaco.
- Los compuestos, cuando es deseable administrarlos sistémicamente, pueden formularse para administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en envases multidosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión.
- Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, se pueden preparar suspensiones de los compuestos activos como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos apropiados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes apropiados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.
- Alternativamente, los compuestos activos pueden estar en forma de polvo para la reconstitución con un vehículo apropiado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.
- Los compuestos también pueden formularse en composiciones rectales o vaginales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.
- Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos también se pueden formular como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada pueden formularse con materiales poliméricos o

hidrófobos apropiados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender portadores o excipientes apropiados en fase sólida o gel. Los ejemplos de dichos portadores o excipientes incluyen, pero no se limitan a, carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

5 Las formas de preparación farmacéutica líquidas o sólidas apropiadas son, por ejemplo, soluciones acuosas o salinas para inhalación, microencapsuladas, encocleadas, recubiertas de partículas microscópicas de oro, contenidas en liposomas, nebulizadas, aerosoles, pellas para implantación en la piel o secadas sobre un objeto afilado para ser rascado en la piel. Las composiciones farmacéuticas también incluyen gránulos, polvos, comprimidos, comprimidos

10 recubiertos, (micro)cápsulas, supositorios, jarabes, emulsiones, suspensiones, cremas, gotas o preparaciones con liberación prolongada de principios activos, en cuya preparación excipientes y aditivos y/o auxiliares tales como desintegrantes, aglutinantes, agentes de recubrimiento, agentes de hinchamiento, lubricantes, aromatizantes, edulcorantes o solubilizantes se usan habitualmente como se ha descrito anteriormente. Las composiciones farmacéuticas son apropiadas para su uso en una variedad de sistemas de administración de fármacos. Para una breve revisión de los métodos de administración de fármacos, véase Langer R, Science 249:1527-33 (1990).

15 Los compuestos de la invención y opcionalmente otros agentes terapéuticos pueden administrarse *per se* (puros) o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Cuando se usan en medicina, las sales deberían ser farmacéuticamente aceptables, pero las sales no farmacéuticamente aceptables pueden usarse convenientemente para preparar sales farmacéuticamente aceptables de las mismas. Tales sales incluyen, pero no se limitan a, las preparadas a partir de los siguientes ácidos: clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, maleico, acético, salicílico, p-tolueno sulfónico, tartárico, cítrico, metano sulfónico, fórmico, malónico, succínico, naftaleno-2-sulfónico y bencenosulfónico. Además, tales sales se pueden preparar como sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, tales como sales de sodio, potasio o calcio del grupo de los ácidos carboxílicos.

20 25 Los agentes reguladores apropiados incluyen: ácido acético y una sal (1-2 % p/v); ácido cítrico y una sal (1-3 % p/v); ácido bórico y una sal (0.5-2.5 % p/v); y ácido fosfórico y una sal (0.8-2 % p/v). Los conservantes apropiados incluyen cloruro de benzalconio (0.003-0.03 % p/v); clorobutanol (0.3-0.9 % p/v); parabenos (0.01-0.25 % p/v) y timerosal (0.004-0.02 % p/v).

30 35 Las composiciones farmacéuticas de la invención contienen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y, opcionalmente, agentes terapéuticos incluidos en un portador farmacéuticamente aceptable. El término "portador farmacéuticamente aceptable" significa uno o más agentes de carga, diluyentes o sustancias encapsulantes sólidas o líquidas compatibles que son apropiadas para la administración a un ser humano u otro animal vertebrado. El término "portador" indica un ingrediente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el que se combina el ingrediente activo para facilitar la aplicación. Los componentes de las composiciones farmacéuticas también pueden mezclarse con los compuestos de la presente invención, y entre sí, de modo que no haya interacción que perjudique sustancialmente la eficacia farmacéutica deseada.

40 45 El (los) agente (s) terapéutico (s), incluyendo específicamente, pero sin limitarse a, el compuesto de la invención, se pueden proporcionar en partículas. Partículas como se usa en este documento significa nanopartículas o micropartículas (o en algunos casos partículas más grandes) que pueden consistir en todo o en parte del compuesto de la invención u otro(s) agente(s) terapéutico(s) como se describe en este documento. Las partículas pueden contener el (los) agente (s) terapéutico (s) en un núcleo rodeado por un recubrimiento, que incluye, entre otros, un recubrimiento entérico. El(los) agente(s) terapéutico(s) también puede(n) dispersarse por todas las partículas. El (los) agente (s) terapéutico (s) también se puede (n) adsorber en las partículas. Las partículas pueden tener una cinética de liberación de cualquier orden, incluida la liberación de orden cero, la liberación de primer orden, la liberación de segundo orden, la liberación retardada, la liberación sostenida, la liberación inmediata y cualquier combinación de las mismas, etc. La partícula puede incluir, además del (los) agente(s) terapéutico(s), cualquiera de los materiales usados rutinariamente en el arte de la farmacia y la medicina, incluidos, entre otros, materiales erosionables, no erosionables, biodegradables o no biodegradables o combinaciones de los mismos. Las partículas pueden ser microcápsulas que contienen el compuesto de la invención en solución o en estado semisólido. Las partículas pueden tener virtualmente cualquier forma.

50 55 Tanto los materiales poliméricos no biodegradables como los biodegradables se pueden usar en la fabricación de partículas para administrar el (los) agente (s) terapéutico (s). Tales polímeros pueden ser polímeros naturales o sintéticos. El polímero se selecciona en base al período de tiempo durante el cual se desea la liberación. Los polímeros bioadhesivos de particular interés incluyen hidrogeles bioerosionables descritos en Sawhney H S et al. (1993) Macromolecules 26:581-7.. Estos incluyen ácidos polihialurónicos, caseína, gelatina, glutina, polianhídridos, ácido poliacrílico, alginato, quitosano, poli(metacrilato de metilo), poli(metacrilato de etilo), poli(metacrilato de butilo), poli(metacrilato de isobutilo), poli(metacrilato de hexilo), poli(metacrilato de isodecilo), poli(metacrilato de laurilo), poli(metacrilato de fenilo), poli(acrilato de metilo), poli(acrilato de isopropilo), poli(acrilato de isobutilo) y poli(acrilato de octadecilo).

Los agentes terapéuticos pueden estar contenidos en sistemas de liberación controlada. El término "liberación controlada" pretende hacer referencia a cualquier formulación que contenga fármaco en la que se controlen la forma y el perfil de liberación del fármaco desde la formulación. Esto se refiere tanto a formulaciones de liberación inmediata como no inmediata, con formulaciones de liberación no inmediata que incluyen, pero no se limitan a, formulaciones de liberación sostenida y de liberación retardada. El término "liberación sostenida" (también conocido como "liberación prolongada") se usa en su sentido convencional para referirse a una formulación de fármaco que proporciona la liberación gradual de un fármaco durante un período de tiempo prolongado y que, preferiblemente, aunque no necesariamente, da como resultado niveles en sangre sustancialmente constantes de un fármaco durante un período de tiempo prolongado. El término "liberación retardada" se usa en su sentido convencional para referirse a una formulación de fármaco en la que existe un retraso de tiempo entre la administración de la formulación y la liberación del fármaco desde allí. La "liberación retardada" puede implicar o no la liberación gradual del fármaco durante un período de tiempo prolongado y, por lo tanto, puede ser o no una "liberación sostenida".

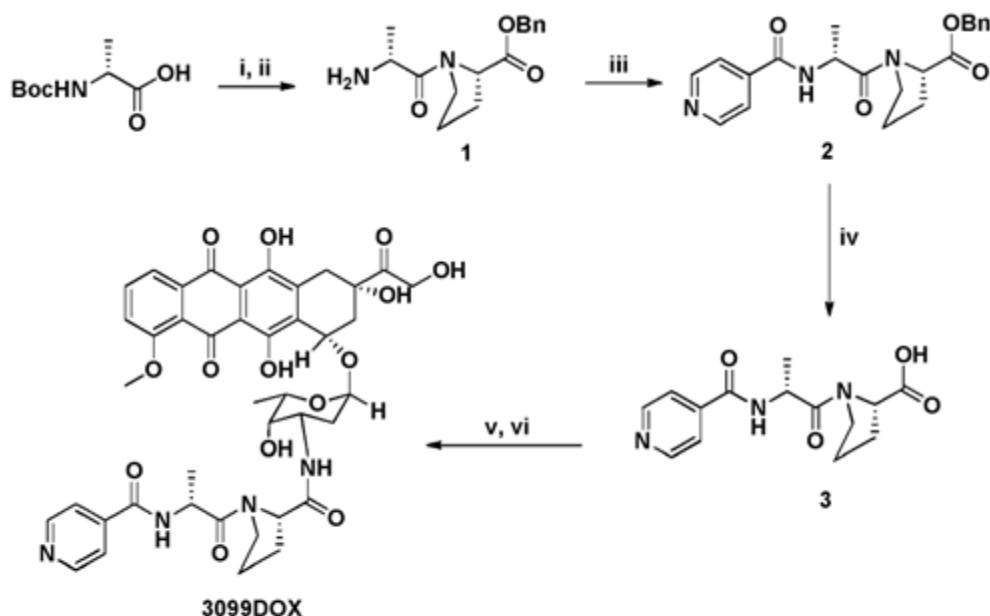
El uso de un implante de liberación sostenida a largo plazo puede ser especialmente apropiado para el tratamiento de afecciones crónicas. Liberación "a largo plazo", como se usa en este documento, significa que el implante está construido y dispuesto para administrar niveles terapéuticos del ingrediente activo durante al menos 7 días, y preferiblemente de 30 a 60 días. Los implantes de liberación sostenida a largo plazo son bien conocidos para los expertos en la técnica e incluyen algunos de los sistemas de liberación descritos anteriormente.

Habiendo descrito ahora la presente invención en detalle, la misma se comprenderá más claramente con referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen en este documento únicamente con fines ilustrativos y no pretendan ser limitativos de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Síntesis de 3099DOX



Esquema. Reactivos y condiciones; i. H-Pro-OBzl, EDCI, HOBr, DIEA; ii. HCl 4 N en dioxano, 92 % en dos etapas; iii. Cloruro de isonicotinoilo, DIEA, 86 %; iv. H₂/Pd-C, 93 %; v. EDCI, HOSu; vi. Doxorrubícina. HCl, solución reguladora de fosfato, DMSO, 81 % en dos etapas.

Síntesis del compuesto 1

Se agregaron EDCI.HCl (2.9 g, 15 mmol), HOBr (1.6 g, 12 mmol) y DIEA (2.0 mL, 11.5 mmol) a una solución de N-Boc-D-Ala-OH (1.9 g, 10 mmol) en DMF anhidra (40 mL) enfriando con baño de agua helada. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 min, se enfrió de nuevo con un baño de agua helada y se agregó clorhidrato de éster bencílico de L-prolina (2.54 g, 10.5 mmol) seguido de otros 2.0 mL de DIEA. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se condensó al vacío. El residuo se disolvió con acetato de etilo (150 mL), se lavó secuencialmente con KHSO₄ 0.1 N (3 x 40 mL), NaHCO₃ ac. (3 x 40 mL), salmuera (30 mL). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para dar N-Boc-D-Ala-L-Pro-OBzl que luego se agregó a una solución de HCl 4 N en dioxano (30 mL) bajo refrigeración por hielo-agua. La mezcla resultante se agitó

a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se condensó al vacío. El residuo se coevaporó con diclorometano (3 x 30 ml) al vacío hasta que se secó por completo. El compuesto 1 se obtuvo así como un polvo de color blanco (2.9 g, 92 % en dos etapas).

Síntesis del compuesto 2

- 5 Una solución de compuesto 1 (2.8 g, 8.9 mmol) en diclorometano anhídrico (100 mL) se agitó enfriando con un baño de agua helada. A continuación, se agregó lentamente DIEA (4.6 mL, 27 mmol) seguido de la adición de clorhidrato de cloruro de isonicotinilo (1.75 g, 9.8 mmol) en porciones durante 10 min. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas hasta que se completó la reacción, luego se diluyó con más diclorometano (100 mL), se lavó con agua (20 mL), NaHCO₃ ac. (2 x 20 mL), NaCl ac. (20 mL), secado sobre MgSO₄ anhídrico, filtrado, evaporado al vacío para dar compuesto 2 en bruto que se purificó adicionalmente con cromatografía en columna ultrarrápida de gel de sílice (CH₂Cl₂:MeOH, 20:1) para producir el producto puro 2 (2.9 g, 86 %).
- 10

Síntesis del compuesto 3

- 15 Se agregó el compuesto 2 (1.5 g, 3.9 mmol) a una solución en suspensión de Pd-C al 10 % (0.15 g) en metanol (20 mL). La mezcla se desgasificó a presión reducida y se colocó bajo H₂ (50 psi). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que se completó la reacción. Luego se eliminó el catalizador por filtración a través de Celite. El filtrado se concentró al vacío para completar la sequedad para dar el compuesto 3 como un polvo de color blanco (1.05 g, 93 %).

Síntesis de 3099DOX

- 20 Se agregaron EDCI.HCl (785 mg, 3.15 mmol) y N-hidroxisuccinimida (0.38 g, 3.3 mmol) a una solución del compuesto 3 (0.87 g, 3.0 mmol) en DMF anhídrica (25 mL) enfriada con un baño de agua helada. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se concentró al vacío, se vuelve a disolver en DMSO (10 mL) para hacer la solución A.

- 25 Se agregó lentamente una solución reguladora de fosfato de pH 7.8 (50 mL) a otra solución de doxorrubicina HCl (1.9 g, 3.3 mmol) en DMSO (140 mL) con buena agitación enfriando con un baño de agua helada. A continuación, se agregó la solución A y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 horas, se enfrió de nuevo con un baño de agua helada, se diluyó con agua (80 mL) y diclorometano (800 mL). La fase orgánica se repartió y separó, se lavó con NaCl ac. (2 x 200 mL), secado sobre Na₂SO₄ anhídrico, concentrado y purificado con cromatografía ultrarrápida en columna de gel de sílice (CH₂Cl₂:MeOH, 20:1 a 7:1) para dar el compuesto puro 3099DOX como un polvo pegajoso de color rojo oscuro que se volvió a disolver con 2:3 de acetonitrilo-agua y se liofilizó para producir un buen polvo de color rojo claro (2.0 g, 81 % en dos etapas).
- 30

Análisis

- (i) LCMS del compuesto 3099DOX.

0-3 min: 2 % de B; 3-20 minutos: 2-98 % de B; 20-25 minutos: 98 % de B.

Se analizó con una columna de tamaño de partícula de 1.8 µm en la LCMS antiguo.

- 35 PM Calc., 816; se observó el pico a los 13.5 min, 839.2:[M + Na], 403.2.

- (ii) ¹H RMN (D₂O/ACN-d₃, 1:1) mostró una proporción de 2:8 de dos rotámeros.

- (iii) ¹H RMN (CDCl₃) mostró un solo rotámero.

- (iv) Análisis de pureza

Condiciones de HPLC:

Columna:	Agilent Eclipse Plus C18, 4,6 x 50 mm, tamaño de partícula de 1.8 µm
Temperatura de la columna:	27 ± 2 °C
Temperatura de la muestra:	ambiente
Caudal:	0.5 mL/min
Longitud de onda de detección UV:	254 nm
Fase móvil:	A: 0.1 % de CF ₃ COOH en agua

B: 0.08 % de CF₃COOH en acetonitrilo

Programa de bomba de gradiente:

Tiempo de la etapa (minutos)	Tiempo transcurrido (minutos)	% A (acuoso)	% B (Orgánico)
0	0	98	2
3	3	98	2
17	20	2	98
5	25	2	98

La columna se equilibró con la fase móvil de la composición inicial antes de comenzar el análisis.

- 5 Tiempo de retención: 13.48 minutos; Pureza: 99.39 % (TAN).

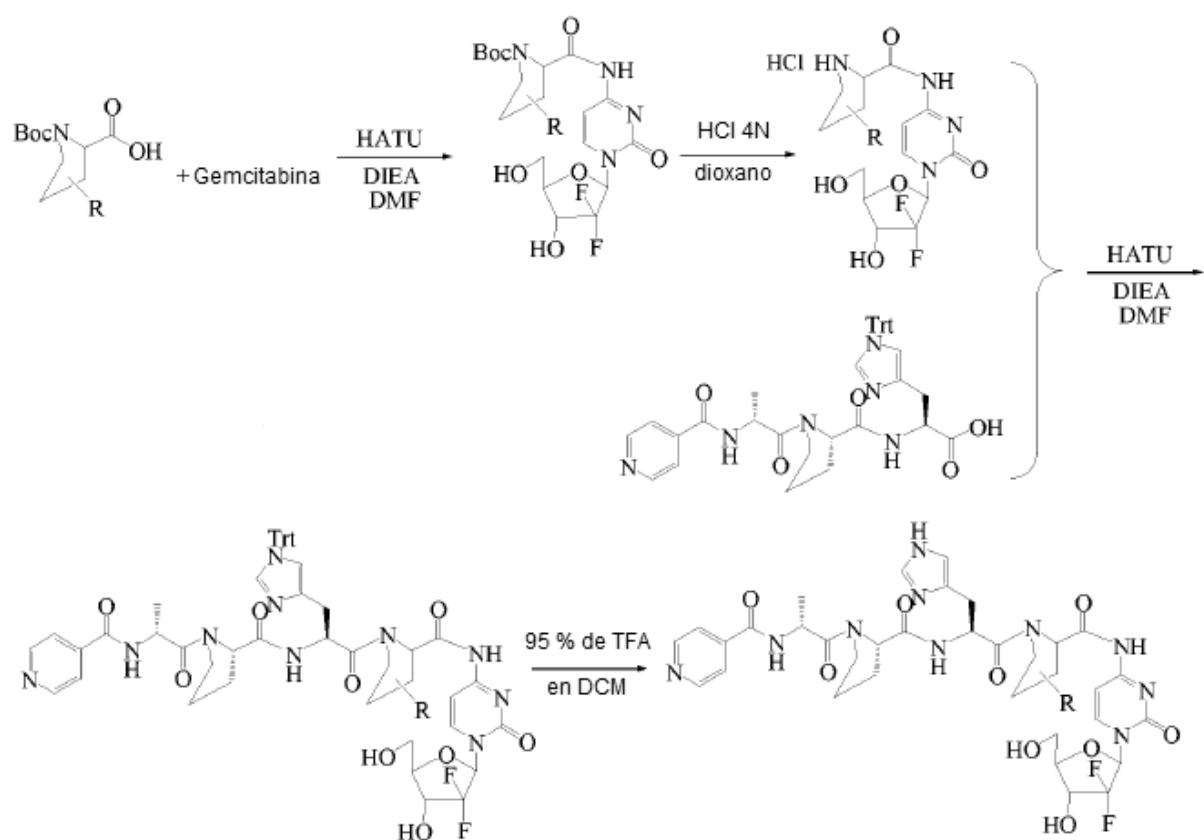
(v) Pruebas de estabilidad de 3099DOX (polvo sólido, viales abiertos)

Condiciones de la prueba	% de pureza restante				
	Día 0	1 semana	1 mes	2 meses	3 meses
22 °C/72 % de HR	99.4	99.3	99.5	98.1	97.5
40 °C/75 % de HR	99.4	99.3	98.8	96.3	95.3

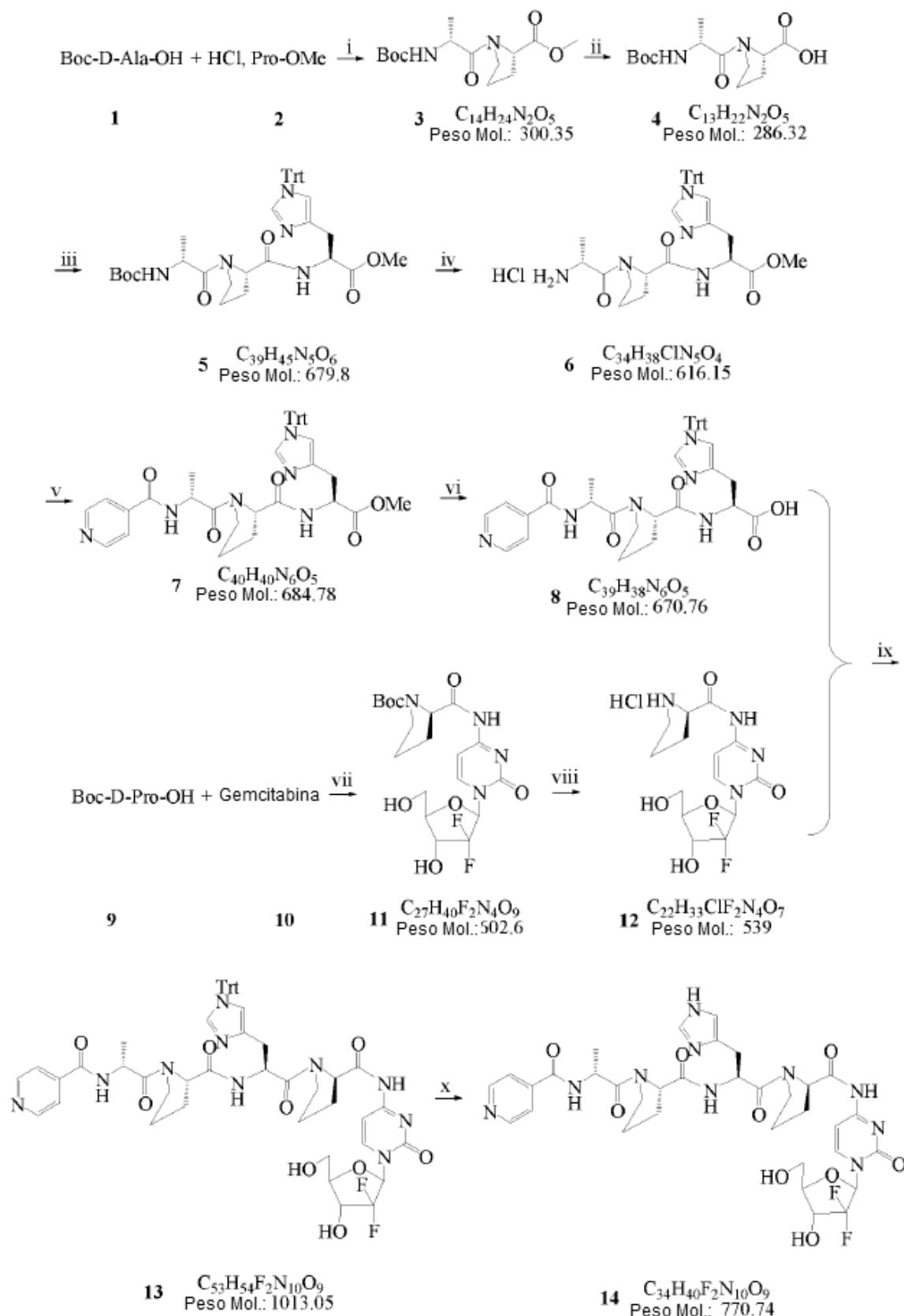
En este documento se divulga el ejemplo 2 (no según la invención)

Síntesis de profármacos de gemcitabina

- 10 El esquema de síntesis general para la serie 4735 (3099-His-Pro-Gemcitabine) siguió el enfoque '3 + 2' (Esquema 1). La ruta de síntesis representativa para PID 4735D se resume en el esquema 2. Se obtuvieron análogos de prolina sustituidos a partir de hidroxil-prolina (Hyp) comercialmente disponible (Esquema 3). También se proporciona el esquema para 3852C (3099-Gemcitabina) (Esquema 4).

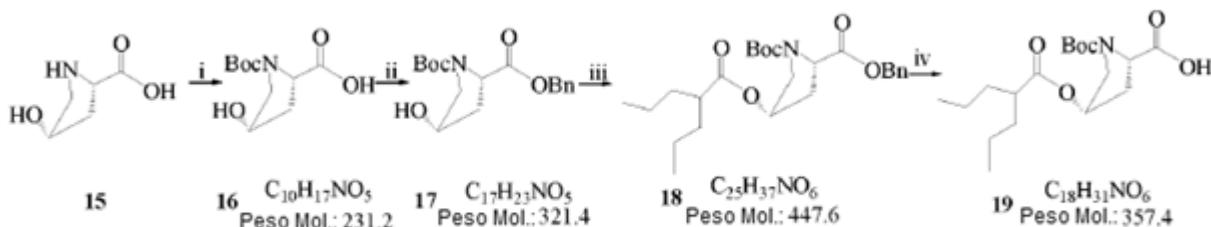


Esquema 1. Ruta de síntesis general para los análogos 4735



Esquema 2: Ruta de síntesis para 4735D

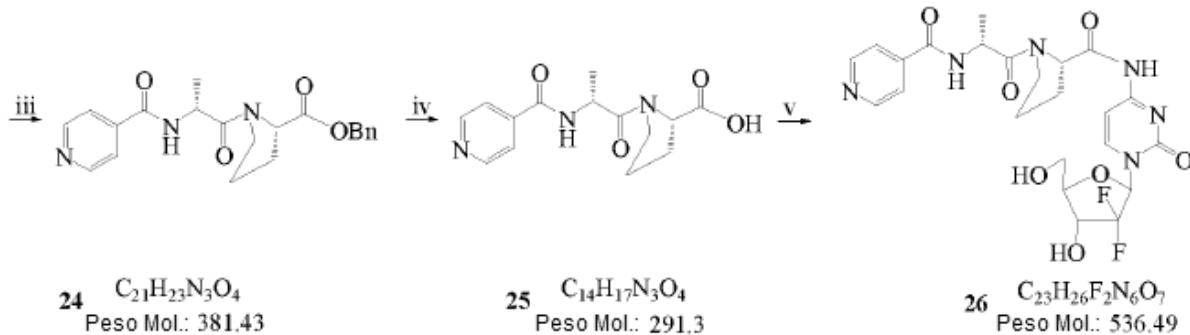
Reactivos y condiciones: i. HATU, DIEA, DMF; ii. LiOH 1 N, THF, 85 % en dos etapas; iii. HCl, His(Trt)-OMe, HATU, DIEA, DMF; iv. Cloruro de isonicotinoilo, DIEA, DCM, 82 % en tres etapas; vi. LiOH 1 N, THF, 90 %; vii. HATU, DIEA, DMF; viii. HCl 4 N en dioxano, 80 % en dos etapas; ix. HATU, DIEA, DMF; x. 95 % de TFA/DCM, 67 % en dos etapas.



Esquema 3: Ruta de síntesis para los análogos de la prolina sustituidos

5

Reactivos y condiciones: i. boc₂O, THF, H₂O, NaHCO₃; ii. BnBr, Na₂CO₃, DMF; iii. Cloruro de 2,2-Di-N-propilacetilo, DIEA, DCM, 64 % en tres etapas; iv. H₂, Pd/C, MeOH, 98 %.



Esquema 4: Ruta de síntesis para 3852C

10 Reactivos y condiciones: i. HATU, DIEA, DMF; ii. HCl 4 N en dioxano; iii. Cloruro de isonicotinoilo, DIEA, DCM, 78 % en tres etapas; iv. H₂, Pd/C, MeOH, 95 %; v. HATU, DIEA, DMF, 87 %.

Sección experimental

Acoplamiento y desprotección de péptidos: Boc-AA₁-OH (1 eq.), HCl, NH₂-AA₂-OBn (1 eq.) y HATU (1 eq.) se agregaron a DMF anhidro (40 mL) enfriando con un baño de agua helada. Se agregó DIEA (2 eq.) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El residuo se disolvió con acetato de etilo (150 mL), se lavó secuencialmente con KHSO₄ 0.1 N, NaHCO₃ ac. y salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ anhidro, se filtró y evaporó al vacío para dar Boc-AA₁-NH₂-AA₂-OBn en bruto.

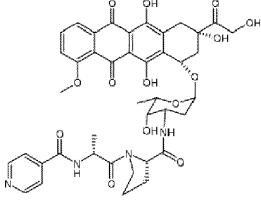
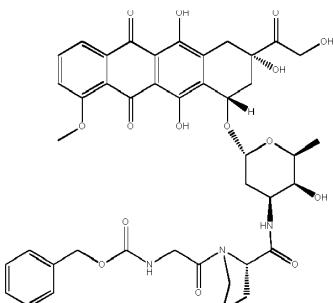
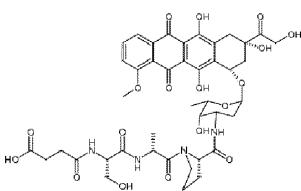
Luego se agregó Boc-AA₁-NH₂-AA₂-OBn a una solución de HCl 4 N en dioxano (30 mL) enfriando con agua helada. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se condensó al vacío. El residuo se coevaporó con diclorometano al vacío para producir HCl, NH₂-AA₁-NH₂-AA₂-OBn

20 Se agregó Boc-AA₁-NH₂-AA₂-OBn a una solución en suspensión de Pd-C al 10 % en metanol. La mezcla se desgasificó a presión reducida y se colocó bajo H₂ (50 psi). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h hasta que se completó la reacción. Luego se eliminó el catalizador por filtración a través de Celite. El filtrado se concentró al vacío para producir Boc-AA₁-NH₂-AA₂-OBn como un polvo de color blanco.

Ejemplo 3

25 Profármacos de doxorrubicina

Compuesto	Estructuras	Bioensayo
3099DOX		Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Glo con células IM-9

		EC50 (profármaco solo) = 190 μ M EC50 (profármaco + FAP 50 nM) = 430 nM EC50 (profármaco + PREP 50 nM) = 110 μ M
z-GP-DOX		
3996DOX		Ensayo de viabilidad celular Cell Titer-Blue con células CT26 EC50 (profármaco solo) = 190 μ M EC50 (prodmg + FAP 50 nM) = 26 μ M EC50 (prodmg + PREP 50 nM) = 210 μ M

Ejemplo 4**Cinética enzimática de la activación de 3099DOX por FAP**

La cinética de la enzima Michaelis-Menten para FAP se midió usando un lector de microplacas SpectraMax M2e (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EE. UU.). Los ensayos se realizaron en solución reguladora FAP (Tris 50 mM, NaCl 140 mM, pH 7.5) a 25 °C, y la fluorescencia se controló continuamente a longitudes de onda de excitación y emisión de 380 y 460 nm, respectivamente. Las constantes cinéticas (k_{cat} y K_m) se determinaron usando GP-AMC (Bachem, Torrance, CA, EE. UU.), Ac-(D)-APAFC (MP Biomedicals, Solon, OH, EE. UU.) y concentraciones de artículos de prueba equivalentes a 0.1-5 veces sus respectivas valores de K_m , y con 5-10 nM de enzima. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados se calcularon con un análisis de regresión no lineal, basándose en un ajuste de curva de Michaelis-Menten usando el software GraphPad.

3099DOX en diversas concentraciones que van desde 8.5×10^{-6} M a 6.9×10^{-4} M se incubó con 1.34×10^{-8} M FAP o PREP a 37 °C, y se midió la doxorrubicina liberada. Los resultados del análisis cinético se muestran en la figura 2. Mientras que 3099DOX esencialmente no tenía activación con PREP, 3099DOX fue activado por FAP con $V_{max} = 5.877 \times 10^{-9}$ M/s, $K_m = 1.12 \times 10^{-5}$ M, $k_{cat}(V_{max}/[E]) = 0.44$ s⁻¹, y $k_{cat}/K_m = 39171$ M⁻¹s⁻¹.

Ejemplo 5**Tasa de actividad de FAP recombinante en profármacos de doxorrubicina**

3099DOX, z-GP-DOX y 3996DOX se incubaron en presencia de FAP recombinante a 37 °C durante 24 horas. La doxorrubicina liberada se midió a las 1, 4, 12 y 24 horas. Los resultados se muestran en la figura 3. 3099DOX produjo doxorrubicina libre significativamente más rápido que z-GP-DOX o 3996DOX, alcanzando el máximo en aproximadamente 8 h.

Ejemplo 6**Especificidad de 3099DOX Activación por FAP**

Los profármacos de doxorrubicina 3099DOX, z-GP-DOX y 3996DOX, cada uno a 100 μ M, se digirieron con 5 mg/mL de FAP, PREP o dipeptidil peptidasa IV (DPP IV) durante 24 horas a 37 °C. Se midió la doxorrubicina total para cada ensayo. Los resultados se muestran en la figura 4. La doxorrubicina fue liberada de 3099DOX por FAP, pero no por PREP ni por DPP IV. Una cantidad similar de doxorrubicina fue liberada de z-GP-DOX por FAP y PREP, pero esencialmente ninguna por DPP IV. Solo alrededor del 15 por ciento de la doxorrubicina fue liberada de 3996DOX por FAP, pero esencialmente nada por PREP o DPP IV.

5 Ejemplo 7

Activación de 3099DOX en plasma de ratón

10 Se agregó doxorrubicina, 3099DOX o z-PG-DOX al plasma de ratón para producir muestras que contenían concentraciones finales equimolares de 100 μ M de fármaco o profármaco. A continuación, las muestras resultantes se incubaron a 37 °C durante 12 h y se midió la doxorrubicina a las 0, 4 y 12 h. Los resultados se muestran en la figura 5. 3099DOX se activó en plasma de ratón aproximadamente un 25 por ciento más rápido que z-PG-DOX.

Ejemplo 8

Estabilidad de 3099DOX en lisado muscular de ratón

15 20 Se agregó 3099DOX o z-PG-DOX al lisado de músculo de ratón recién preparado para producir muestras que contenían concentraciones finales equimolares de 100 μ M de profármaco. A continuación, las muestras resultantes se incubaron a 37 °C durante 12 h y se midió la doxorrubicina a las 12 h. Los resultados se muestran en la figura 6. 3099DOX incubado con lisado muscular esencialmente no liberó doxorrubicina, mientras que z-GP-DOX incubado en las mismas condiciones liberó una gran cantidad de doxorrubicina.

Ejemplo 9

Farmacocinética de 3099DOX en ratón normal

25 A ratones sanos normales se les administró 20 mg/kg de peso corporal de 3099DOX en una única inyección intravenosa (iv). Luego se recogió sangre a los 5, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos después de la administración, y se preparó plasma a partir de cada muestra de sangre. Las concentraciones en plasma de profármaco (3099DOX) y doxorrubicina ("ojiva") se midieron mediante análisis LC-MS después del choque de proteínas. Los resultados se muestran en la figura 7.

Ejemplo 10

Farmacocinética de la doxorrubicina en ratones normales

30 A ratones sanos normales se les administró 20 mg/kg de peso corporal de 3099DOX o 8 mg/kg de peso corporal de doxorrubicina en una única inyección intravenosa (iv). Luego se recogió sangre a los 5, 15, 30, 60, 120 y 240 minutos después de la administración, y se preparó plasma a partir de cada muestra de sangre. Las concentraciones en plasma de doxorrubicina se midieron mediante análisis LC-MS después del choque de proteínas. Los resultados se muestran en la figura 8.

Ejemplo 11

35 Modelo de tumor HEK-FAP

Células de riñón embrionario humano (HEK) se transfecaron de manera estable con un FAP de ratón o un vector simulado (Fox Chase Cancer Center, Philadelphia, PA, EE. UU.) y se cultivaron en medio de cultivo celular RPMI 1640 sin rojo fenol, suplementado con L-glutamina 2 mM, HEPES 10 mM, piruvato de sodio 1 mM, glucosa 4.5 g/L, penicilina 100 I.U., estreptomicina 100 μ g/mL y suero AB humano al 1% (VWR, Radnor, PA, EE. UU.).

40 45 A continuación, los ratones se dividieron en cinco grupos de tratamiento. El tratamiento comenzó cuando los tumores tenían 100 mm^3 en tamaño. Los animales del grupo 1 recibieron vehículo solo una vez por semana como una única inyección iv. Los animales del grupo 2 recibieron 2 mg/kg (3.7 μ mol/kg) de doxorrubicina una vez por semana como una única inyección iv. Los animales de los grupos 3-5 recibieron 6, 9 o 12 mg/kg (7.4, 11.1 o 14.8 μ mol/kg) de 3099DOX, respectivamente, una vez por semana como una única inyección iv. Se controlaron el tamaño tumoral (volumen), el peso corporal y la supervivencia hasta 70 días después de comenzar el tratamiento. Adicionalmente, la distribución tisular de 3099DOX y doxorrubicina se midió al final de este estudio.

Ejemplo 12

Distribución tisular de 3099DOX en el modelo tumoral HEK-FAP

50 Se recogieron tejidos de animales del grupo 3 del estudio modelo de tumor HEK-FAP descrito en el ejemplo 111 horas después de la dosis final de 3099DOX. Se determinaron las concentraciones de 3099DOX (profármaco) y

doxorrubicina ("ojiva") en corazón, tumor y plasma. Los resultados se muestran en la figura 9. La doxorrubicina se concentró en el tejido tumoral (aprox. 300 nM) en comparación con el corazón y el plasma. 3099DOX se concentró en plasma (aprox. 250 nM) en comparación con el corazón y el tumor.

Ejemplo 13

5 Eficacia de 3099DOX en el modelo tumoral HEK-FAP

El crecimiento tumoral se controló en el modelo tumoral HEK-FAP descrito en el ejemplo 11. Los resultados se muestran en la figura 10. El número medio de días para alcanzar el tamaño tumoral 500 mm^3 fue 41 para los controles tratados con vehículo. El número medio de días para alcanzar el tamaño tumoral 500 mm^3 fue de 41-43 para el grupo 2 tratado con doxorrubicina. En marcado contraste con cualquiera de los primeros grupos, el número medio de días para alcanzar el tamaño tumoral 500 mm^3 fue 51, 57 y 63 para los grupos 3, 4 y 5 tratados con 3099DOX, respectivamente. Los tres últimos valores fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) frente al vehículo (prueba de comparación múltiple de Dunnett).

Ejemplo 14

Eficacia de 3099DOX en el modelo tumoral HEK-FAP

15 También se controló la supervivencia en el modelo de tumor HEK-FAP descrito en el ejemplo 11. Los resultados se muestran en la figura 11. Los animales tratados con 3099DOX tuvieron una supervivencia significativamente mayor que los animales tratados con vehículo solo o con doxorrubicina. Como es evidente en la figura 11, la supervivencia en los animales tratados con 3099DOX se prolongó de forma dependiente de la dosis.

Ejemplo 15

20 Citotoxicidad de los profármacos de doxorrubicina activados por FAP contra diversas líneas tumorales

Se incubaron células de diversas líneas celulares derivadas de tumores con doxorrubicina o 3099DOX, este último en presencia o ausencia de FAP, y la EC₅₀ para cada uno fue determinado. Los resultados se muestran en la siguiente tabla.

Línea celular	DOX	EC ₅₀ (μM)		
		3099DOX	3099DOX + 3099100 μM	3099DOX + rFAP 25 nM
HEK-simulado	0.05	--	280	0.04
HEK-mFAP	0.2	1.1	120	--
BxPC-3	3.1	210	--	2.4
HPAF-II	2.0	330	--	1.6
HT-29	0.4	340	--	0.8

25 Ejemplo 16

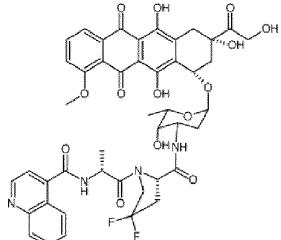
Profármacos de doxorrubicina activados por FAP adicionales

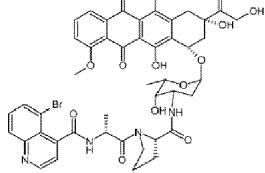
Compuesto	Estructura	Bioensayo

5057DOX	<p>The image shows two chemical structures side-by-side. The top structure is Doxorubicin, a complex polycyclic aromatic compound with multiple hydroxyl groups and carbonyl groups. The bottom structure is 5057DOX, which appears to be a derivative of Doxorubicin where one of the hydroxyl groups is substituted with a fluorine atom.</p>	<p>1. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas: EC50 (profármaco solo) = 480 nM EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 36 nM EC50 (profármaco + REP 25 nM) = 250 nM EC50 (doxorrubricina sola) = 36 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>2. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas y HEK-mFAP:</p> <p>HEK-simulado EC50 (profármaco solo) = 460 nM EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 26 nM EC50 (profármaco + REP 25 nM) = 220 nM EC50 (profármaco + 2054-9 100 uM) = 9.8 uM EC50 (doxorrubricina sola) = 34 nM</p> <p>HEK-mFAP EC50 (profármaco solo) = 140 nM EC50 (profármaco + 3099-15 100 uM) = >10 uM EC50 (profármaco + REP 25 nM) = 110 nM EC50 (profármaco + 2054-9 100 uM) = 740 nM EC50 (doxorrubricina sola) = 59 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>3. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas y HEK-mFAP:</p> <p>HEK-simulado EC50 (profármaco solo) = 2.3 uM EC50 (profármaco + 2054-9 100 uM) = >10 uM EC50 (profármaco + 3099-15 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubricina sola) = 95 nM</p> <p>HEK-mFAP EC50 (profármaco solo) = 600 nM EC50 (profármaco + 2054-9 100 uM) = 5.3 uM EC50 (profármaco + 3099-15 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubricina sola) = 240 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>4. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas y HEK-mFAP:</p> <p>HEK-simulado EC50 (profármaco solo) = 1.1 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p>
---------	---	--

	<p>EC50 (doxorrubicina sola) = 92 nM HEK-mFAP EC50 (profármaco solo) = 770 nM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubicina sola) = 420 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>5. Ensayos de viabilidad celular Cell Titer-Blue: MCF-7 EC50 (profármaco solo) = >100 uM EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 23 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubicina sola) = 54 μM OVCAR-3 EC50 (profármaco solo) = >100 uM EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 1 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubicina sola) = 1.7 uM SK-OV-3 EC50 (profármaco solo) = 830 nM EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 140 nM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = 56 uM EC50 (doxorrubicina sola) = 440 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>6. Digestión de FAP de 5057DOX: $[FAP] 4.00 \times 10^{-9}$ M $V_{max} 5.19 \times 10^{-9}$ M/s $K_m 1.11 \times 10^{-5}$ M $K_{cat} (V_{max}/[E]) 1.30 \text{ s}^{-1}$ $k_{cat}/k_m 1.17 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>7. Digestión de FAP de 5057DOX y 3099DOX: Patrones Dox; Patrón interno de daunorrubicina $[FAP] 1$ nM $V_{max} 9.80 \times 10^{-10}$ M/s $K_m 4.85 \times 10^{-6}$ M $K_{cat} 0.98 \text{ s}^{-1}$ $K_{cat}/K_m 2.00 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>8. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = 1.1 uM</p>
--	---

ES 2 951 596 T3

		<p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM EC50 (doxorrubicina) = 400 nM Nota: Este ensayo implicó una incubación de 72 horas del profármaco con las células antes de la adición del reactivo Cell Titer-Blue.</p>
5107DOX	 <p>The image shows two chemical structures. The top structure is Doxorubicin, a complex polycyclic aromatic compound with multiple hydroxyl groups and a quaternary ammonium side chain. The bottom structure is 5107DOX, which is Doxorubicin linked to a fluorine-containing prodrug moiety at its 11-position via an amide bond.</p>	<p>Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = 940 nM EC50 (profármaco + 5057-2 100 uM) = >100 nM EC50 (doxorrubicina) = 390 nM Nota: Este ensayo se realizó con una incubación de 72 horas de los compuestos con las células antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p>

5061DOX		<p>1. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas y HEK-mFAP:</p> <p>HEK-simulado</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 280 nM</p> <p>EC50 (profármaco + PREP 50 nM) = >100 uM</p> <p>EC50 (doxorrubricina sola) = 92 nM</p> <p>HEK-mFAP</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>EC50 (doxorrubricina sola) = 420 nM</p> <p>Nota: Este ensayo implicó una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>2. Ensayos de viabilidad celular Cell Titer-Blue:</p> <p>HEK-simulado</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 250 nM</p> <p>HEK-mFAP</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>MCF-7</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>EC50 (doxorrubricina sola) = 54 µM</p> <p>OVCAR-3</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 1,5 uM</p> <p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>EC50 (doxorrubricina sola) = 1.7 µM</p> <p>SK-OV-3</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >100 uM</p> <p>EC50 (profármaco + FAP 25 nM) = 900 nM</p> <p>EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >100 uM</p> <p>EC50 (doxorrubricina sola) = 440 nM</p> <p>Nota: Todos los ensayos implicaron una incubación del profármaco con las células de 72 horas, en lugar de las típicas 48 horas, antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p> <p>3. Inhibición de la actividad FAP en células HEK-mFAP:</p> <p>IC50 = >10 µM</p>
---------	---	---

En este documento se divulga el ejemplo 17 (no según la invención)

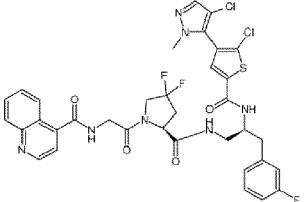
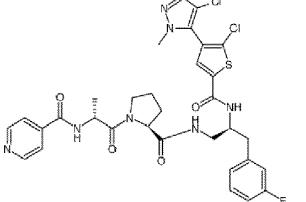
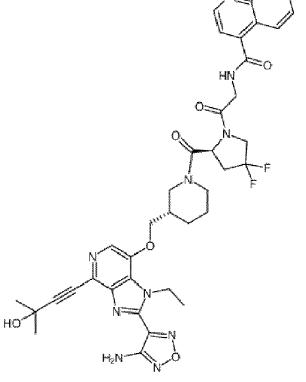
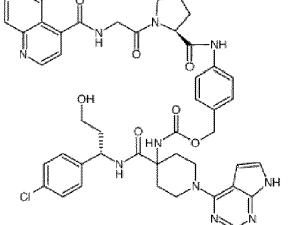
Profármacos MK-2206

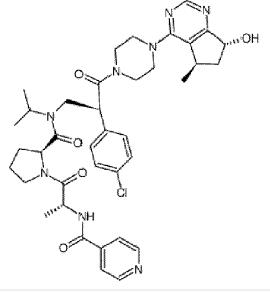
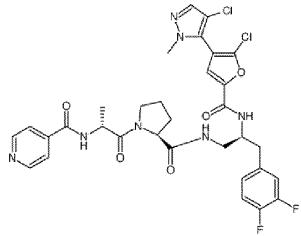
Compuesto	Estructura	Bioensayo
5157		<p>Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-Simuladas y HEK-mFAP: HEK-simulado</p> <p>EC50 (profármaco solo) = >2.5 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >2.5 uM EC50 (profármaco + 3099-15 100 uM) = >2.5 uM EC50 (MK-2206 solo) = 6.7 uM HEK-mFAP</p> <p>EC50 (profármaco solo) = 2.9 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >25 uM EC50 (profármaco + 3099-15 100 uM) = >2.5 uM EC50 (MK-2206 solo) = 5.3 uM</p>
5173		<p>1. Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = >2,5 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >25 uM Nota: Este ensayo implicó una incubación de 72 horas del profármaco con las células antes de la adición del reactivo Cell Titer-Blue.</p> <p>2. Digestión de FAP de 5173 y 5174: [FAP] 5 nM, 10 nM y 20 nM [5173] = 50 uM [5174] = 50 uM Patrones con ojiva MK-2206 Patrón interno VbP.</p>
4434		
5146		
5174		<p>Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = 4.6 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >25 uM Nota: Este ensayo implicó una incubación de 72 horas del profármaco con las células antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p>
5192		<p>Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue en células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = >3 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >3 uM EC50 (MK-2206) = 9.1 uM Nota: Se permitió que los compuestos se incubaran con las células durante 72 horas antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.</p>
5193		<p>Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue en células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = 2.6 uM EC50 (profármaco 5057 100 uM) = >25 uM</p>

		EC50 (MK-2206) = 9.1 uM	
		Nota: Se permitió que los compuestos se incubaran con las células durante 72 horas antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.	

En este documento se divulga el ejemplo 18 (no según la invención)

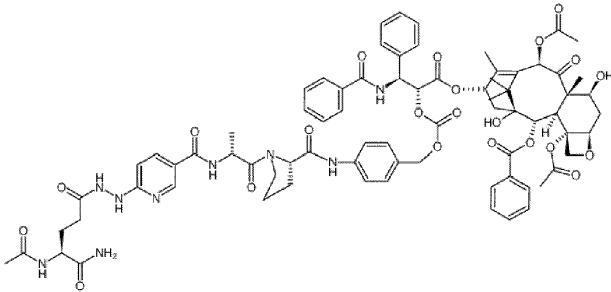
Profármacos inhibidores de Akt

Compuesto	Estructura	Bioensayo
5184		Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue en células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = 930 nM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >3 uM EC50 (GSK2110183) = 490 nM Nota: Se permitió que los compuestos se incubaran con las células durante 72 horas antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.
5327		
5188		Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (profármaco solo) = >25 uM EC50 (profármaco + 5057 100 uM) = >25 uM EC50 (GSK690693) = 15 μM Nota: Este ensayo implicó una incubación de 72 horas del profármaco con las células antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.
5189		Ensayo de viabilidad celular CellTiter-Blue con células HEK-mFAP: EC50 (prodmg solo) = 3 uM EC50 (profármaco 5057-2 100 uM) = 5,8 uM EC50 (AZD5363) = 2,5 uM Nota: Este ensayo se realizó con una incubación de 72 horas de los compuestos con las células antes de la adición del reactivo CellTiter-Blue.
5328		

		
5350		

En este documento se divulga el ejemplo 19 (no según la invención)

Profármaco de paclitaxel

Compuesto	Estructura	LCMS
5166		ESI ⁺ -EM: 1476.8; $t_R=9.5\text{min}^*$

*Tiempo de retención (t_R) se registró usando una columna Agilent Eclipse Plus C18 RP-HPLC (4.6 × 50 mm, 1.8 µm) con gradiente de disolvente A) agua (0.1 % de TFA) y B) acetonitrilo (0.08 % de TFA) a 0.5 mL/min. El tiempo de retención de HPLC se proporciona para un gradiente de eluyente de 2 % de B durante los primeros 3 min, luego de 2 % a 98 % de B durante 6 min, que se mantuvo durante los siguientes 5 min.

5

En este documento se divulga el ejemplo 20 (no según la invención)

Profármaco relacionado con Xaa-boroPro

Compuesto	Estructura	Bioensayo
5181		<p>Ensayos de inhibición in vitro de DPPIV, DPP8, DPP9, DPPII, FAP y PREP:</p> <p>IC₅₀ (DPPIV) = 860 nM</p> <p>IC₅₀ (DPP8) = 7.3 μM</p> <p>IC₅₀ (DPP9) = 2.6 μM</p> <p>IC₅₀ (DPPII) = 24 μM</p> <p>IC₅₀ (FAP) = 110 nM</p> <p>IC₅₀ (PREP) = 15 nM</p>

Ejemplo 21**Selectividad de FAP sobre PREP**

La enzima recombinante (FAP o PREP) se combinó, a una concentración de reacción de 12 nM, 24 nM o 48 nM, con 5057DOX 240 nM en solución reguladora FAP (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, NaCl 140 mM) y se incubó a 37 °C. Las reacciones se detuvieron a los 0, 10, 20 o 30 minutos mediante la adición de un volumen igual de Val-boroPro 10 μM (inhibidor de FAP). La doxorrubicina se midió mediante cromatografía líquida/espectroscopía de masas (LCMS). Los resultados representativos se muestran en la figura 14.

Ejemplo 22**Distribución tisular de 5057DOX en ratones HEK-FAP**

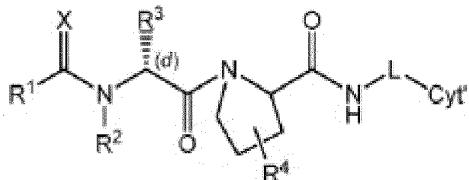
A los ratones HEK-FAP portadores de tumores se les administró 2 mg/kg de 5057DOX mediante inyección intravenosa. A continuación, los ratones se sacrificaron 20 o 40 minutos después de la administración de 5057DOX y se recogieron tejidos para su análisis. Los tejidos de tumor, corazón, pulmón, riñón, hígado, músculo, bazo, estómago, intestino delgado, intestino grueso, páncreas, cerebro y médula ósea por separado se colocaron en solución reguladora de lisis, se homogeneizaron, se sometieron a agitación vortical, se incubaron en hielo húmedo durante 40 min y se sometieron a ultrasonidos. 3 veces durante 3 segundos, se centrifugaron durante 30 min a 4 °C y luego lisados analizados para profármaco y "ojiva". Los resultados representativos se muestran en la figura 21.

Ejemplo 23**Eficacia de 5057DOX en ratones HEK-FAP**

A los ratones HEK-FAP se les administró 9 mg/kg de 5057DOX o vehículo de control mediante inyección intravenosa el día 33 después de la inoculación con el tumor. Los volúmenes tumorales se controlaron diariamente. Resultados representativos para ratones con volúmenes tumorales inferiores a 200 mm³ el día 33 (es decir, el día del tratamiento con 5057DOX) se muestran en la figura 22. Los datos comparativos para 3099DOX se muestran en la figura 23.

REIVINDICACIONES

1. Un profármaco representado por la fórmula general



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

5 R¹ representa alquilo (C₁-C₁₀), alcoxi (C₁-C₁₀), alquilo (C₁-C₁₀)-C(O)-alquilo (C₁-C₁₀), cicloalquilo (C₃-C₈), cicloalquilo (C₃-C₈) alquilo (C₁-C₁₀), arilo, arilo alquilo (C₁-C₁₀), heteroarilo o heteroarilo alquilo (C₁-C₁₀), en el que cualquier R¹ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

10 R³ representa alquilo (C₁-C₆);

R⁴ está ausente o representa un alquilo (C₁-C₆), -OH, -NH₂, o uno o dos halógenos;

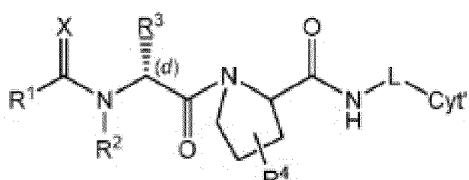
X representa O o S;

Cyt' representa una unidad estructural de antraciclina; y

15 L representa un enlace o -N(H)-L representa un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar la unidad estructural de antraciclina,

en la que el profármaco se convierte selectivamente en una antraciclina activa por células estromales FAP⁺.

2. Un profármaco representado por la fórmula general



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

20 R¹ representa heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halo, hidroxi, carboxilato, ciano, amino, nitro y tio (-SH);

R² representa H o un alquilo (C₁-C₆);

R³ es metilo;

R⁴ está ausente;

25 X es O;

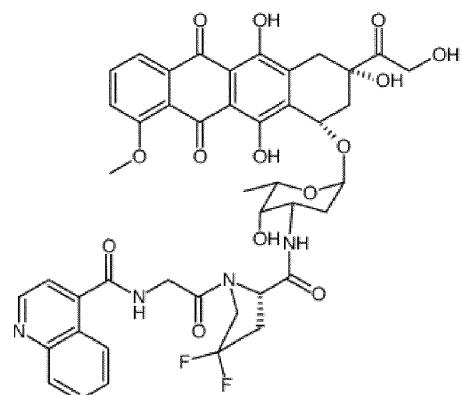
Cyt' representa una unidad estructural de antraciclina; y

L representa un enlace o -N(H)-L representa un enlazante autoinmolativo que se metaboliza después de la escisión de FAP para liberar la unidad estructural de antraciclina,

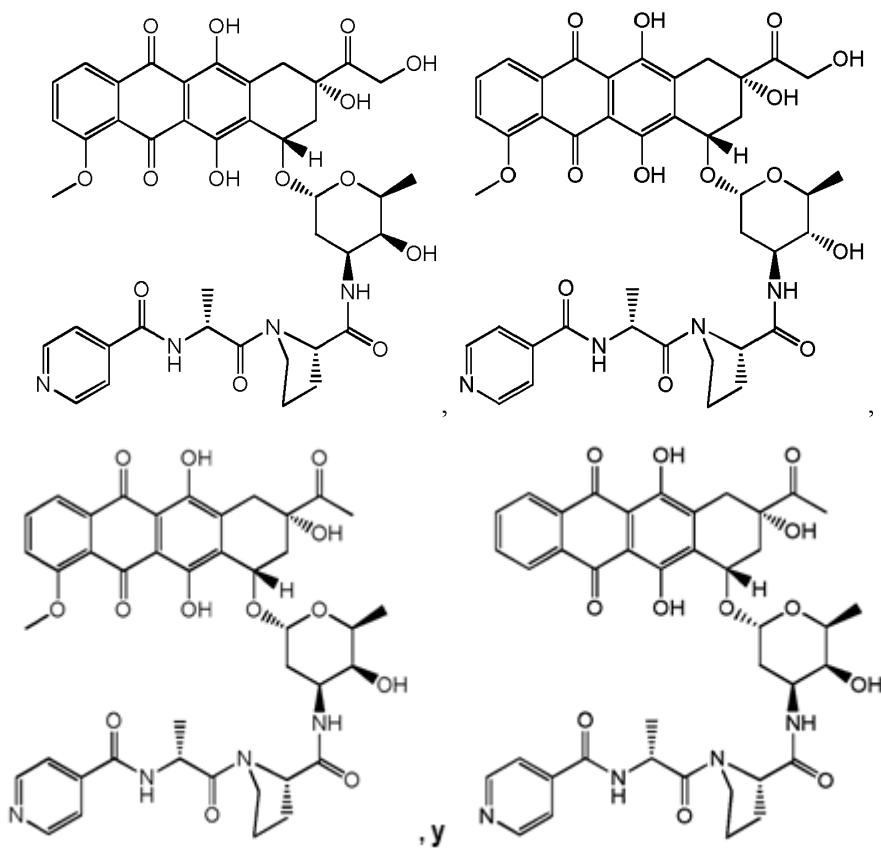
en la que el profármaco se convierte selectivamente en una antraciclina activa por células estromales FAP⁺.

30 3. El profármaco de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que L es un enlazante autoinmolativo que comprende un heterociclo, opcionalmente en el que el enlazante autoinmolativo se selecciona del grupo que consiste en His-Ala, p-aminobenciloxicarbonilo (PA-BC) y 2,4-bis(hidroximetil)anilina.

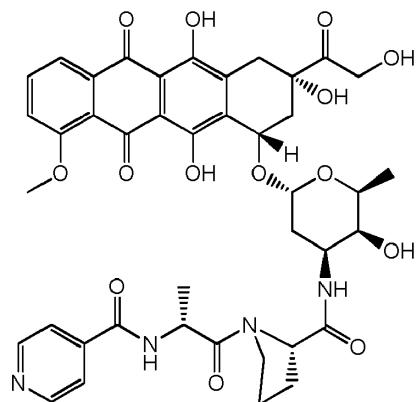
4. Un profármaco representado por la fórmula:



5. Un profármaco seleccionado del grupo que consiste en:



5 6. El profármaco de la reivindicación 5 que tiene la siguiente estructura:



7. Una composición farmacéutica que comprende un profármaco de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.
8. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un método de tratamiento de un trastorno caracterizado por la regulación al alza de la proteína de activación de fibroblastos (FAP).
- 5 9. El compuesto para su uso de la reivindicación 8, en el que el trastorno caracterizado por la regulación al alza de FAP se selecciona del grupo que consiste en cáncer, fibrosis e inflamación.

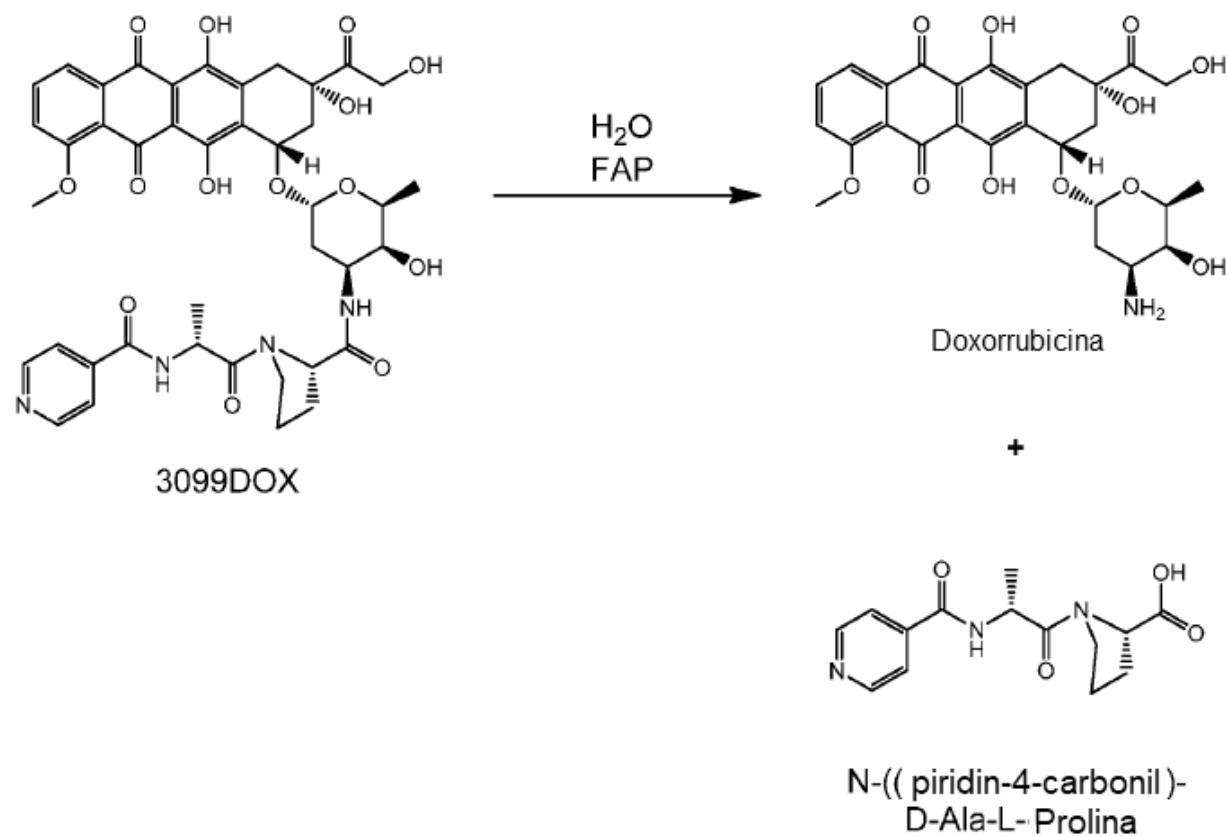
Figura 1

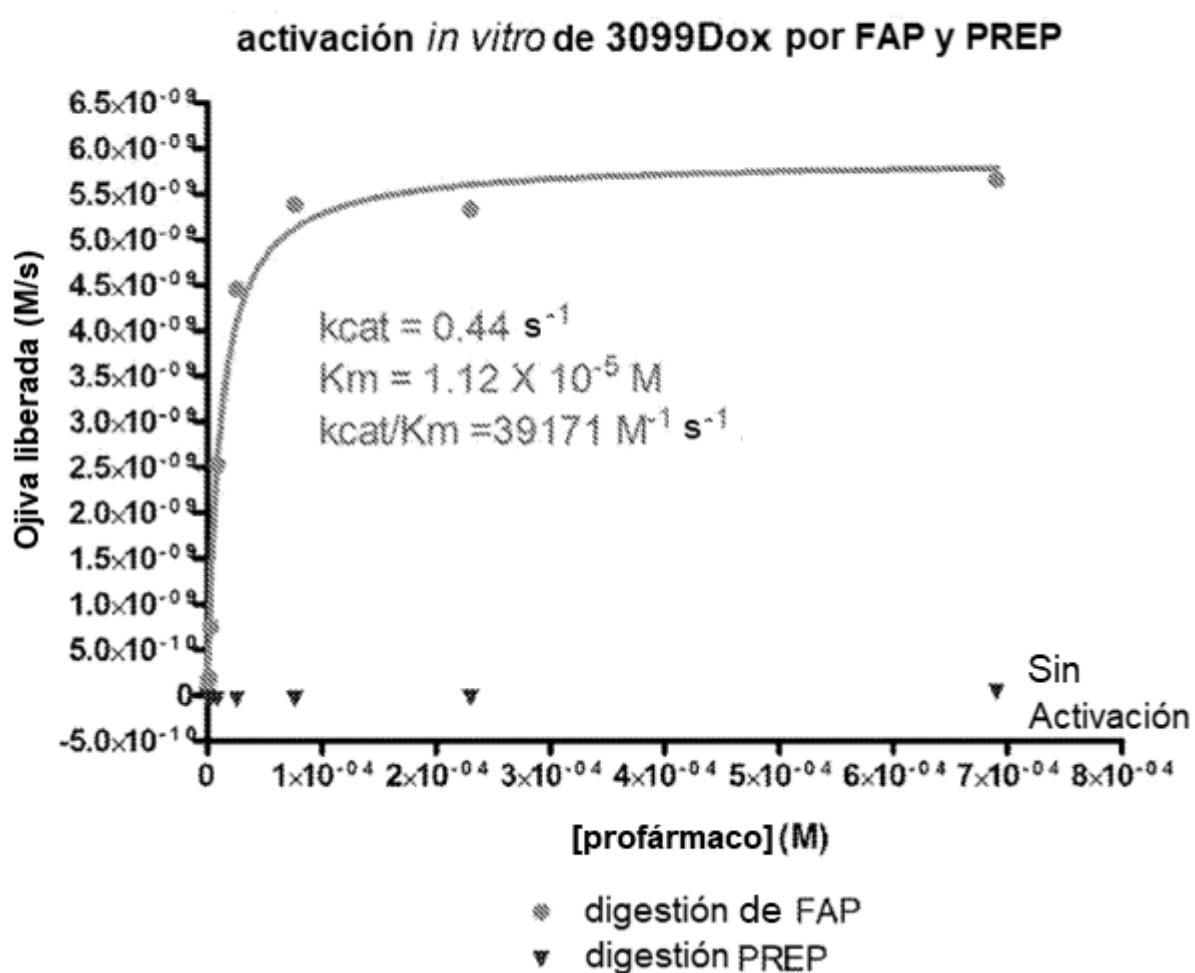
Figura 2

Figura 3

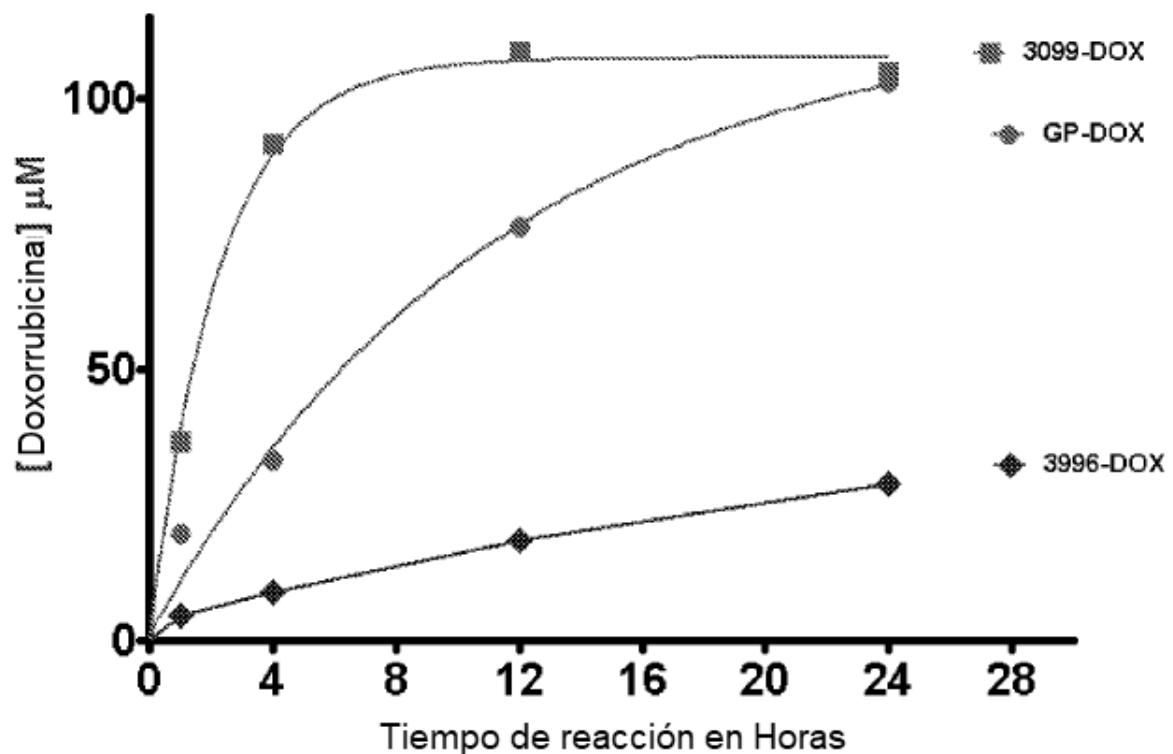


Figura 4

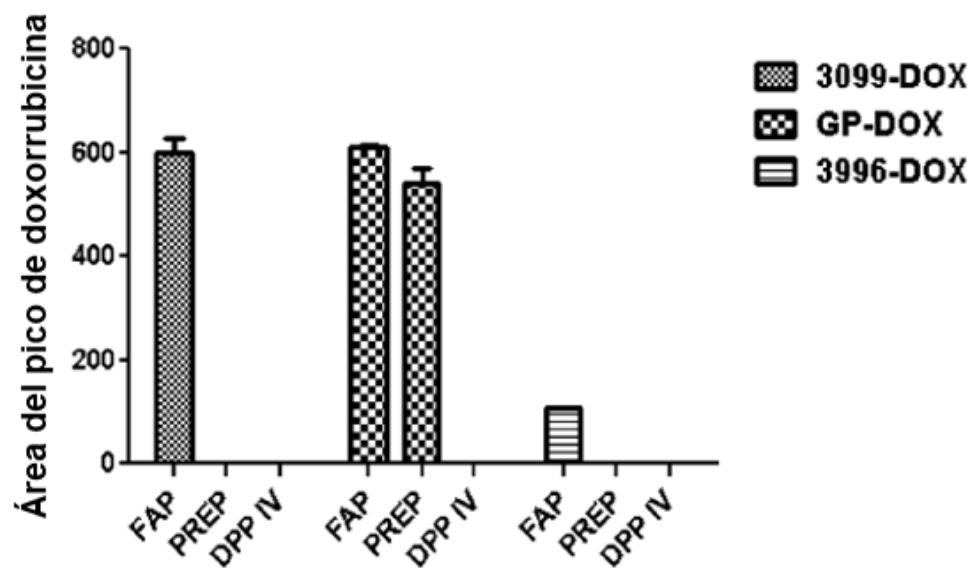


Figura 5

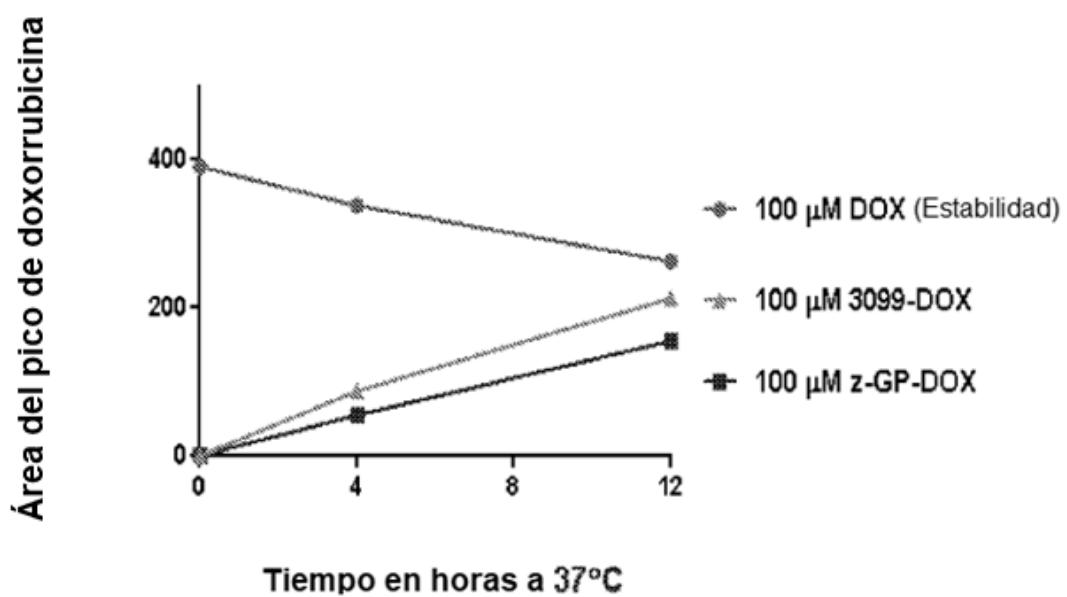


Figura 6

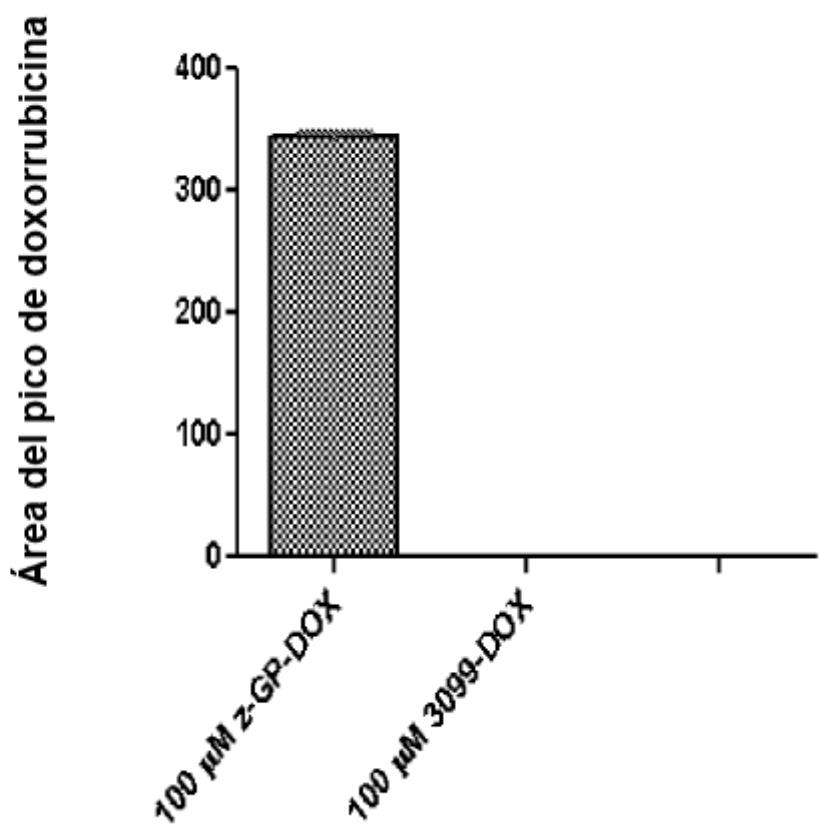


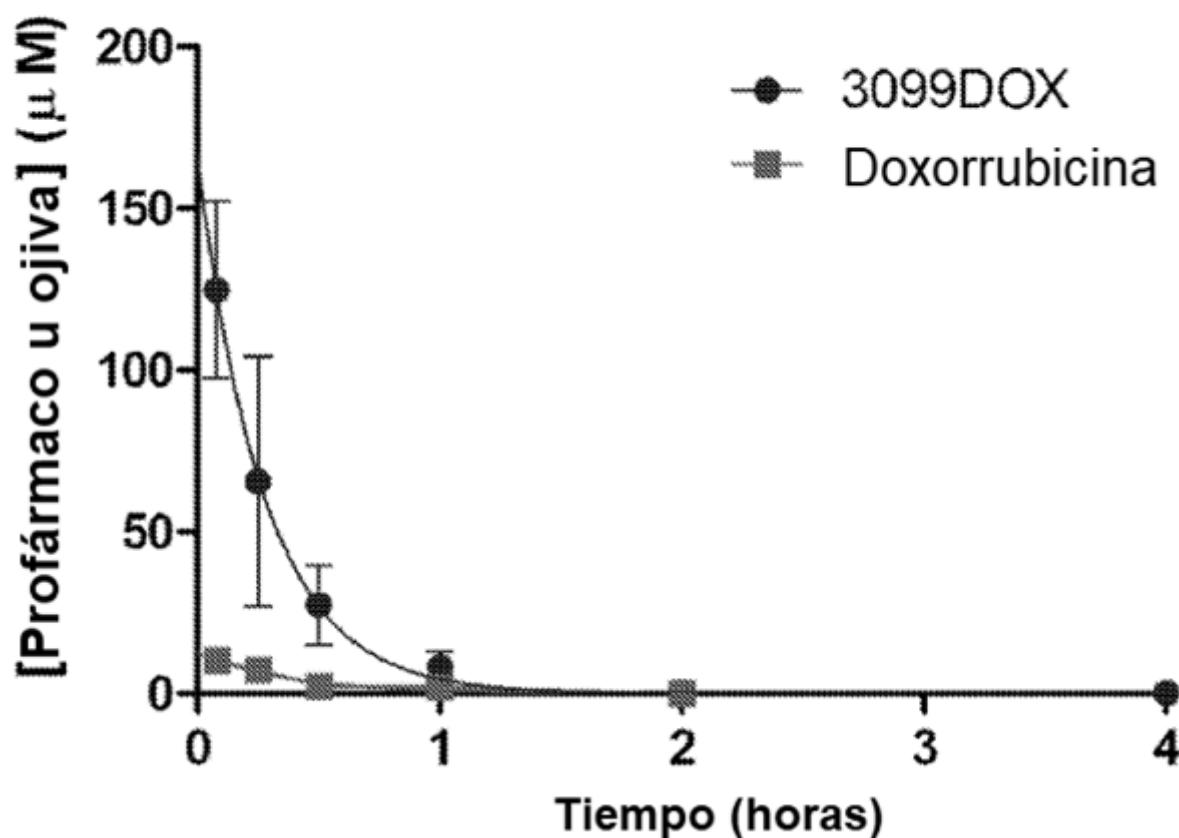
Figura 7

Figura 8

—●— 8 mpk Doxorrubicina
 —△— 20 mpk 3099DOX

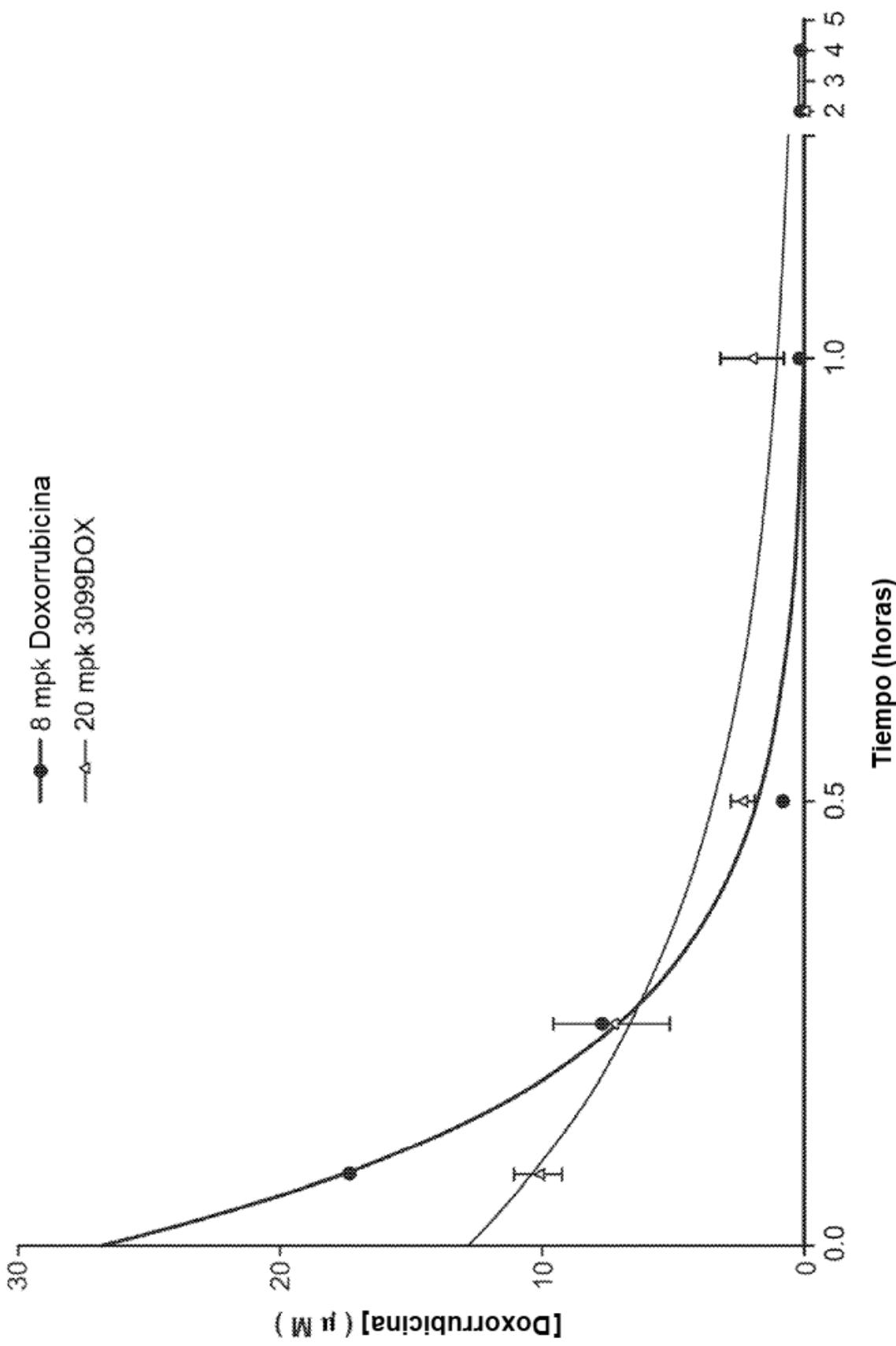


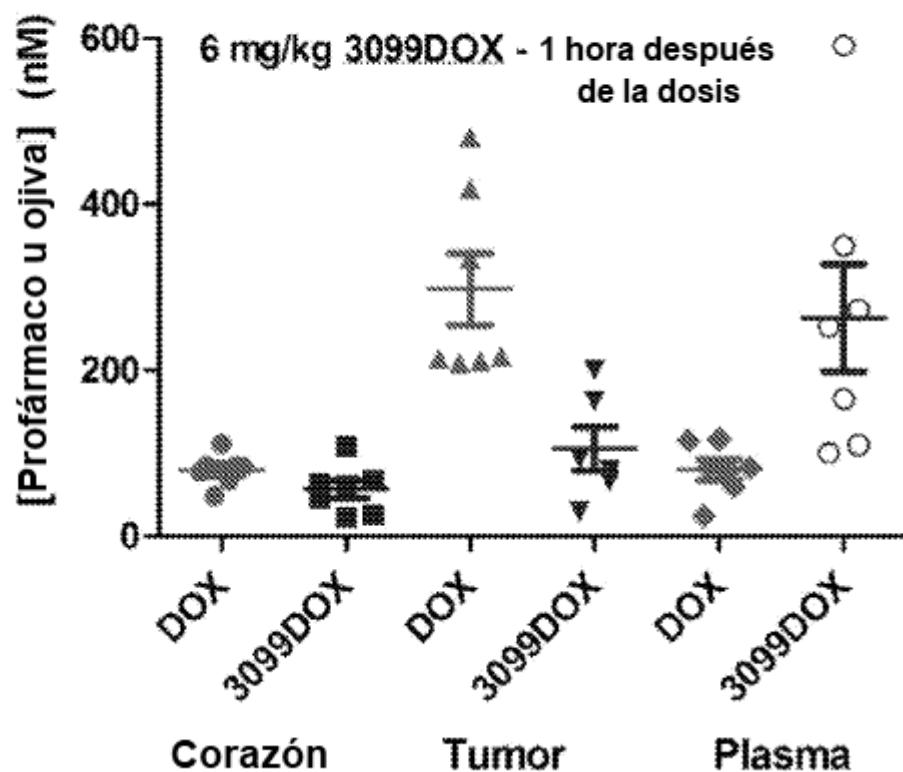
Figura 9

Figura 10

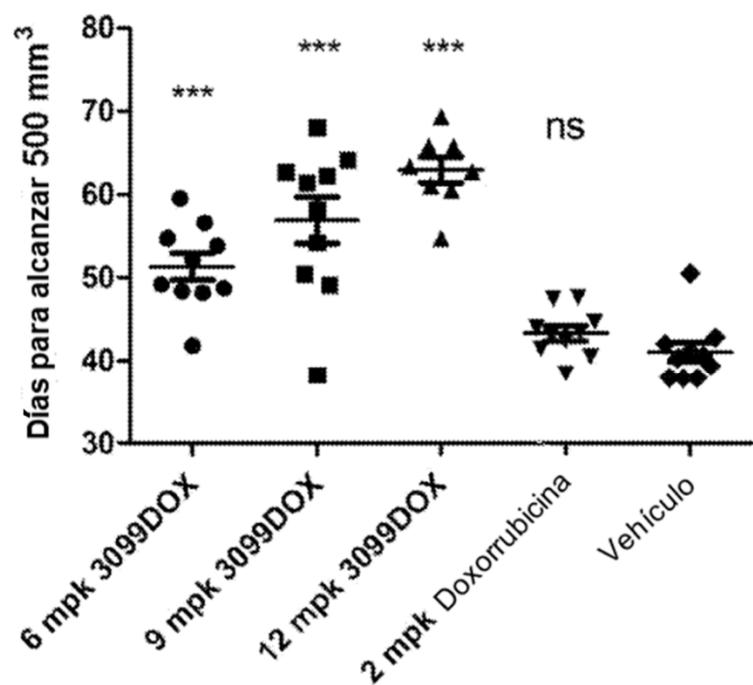


Figura 11

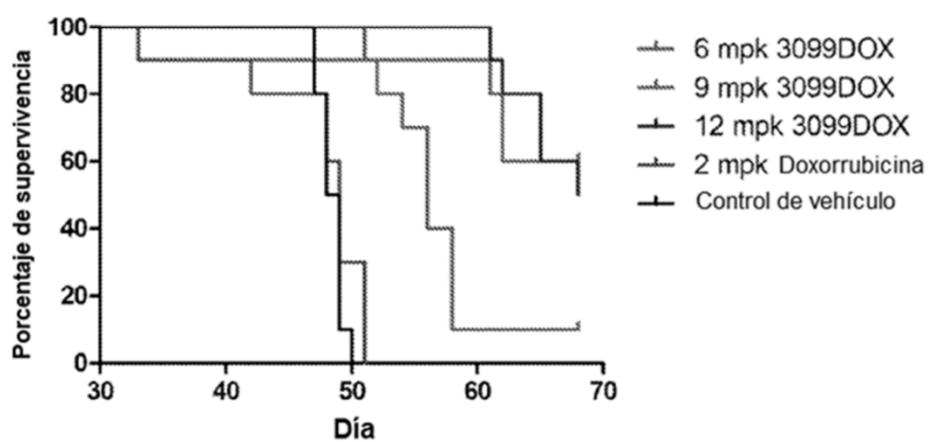


Figura 12

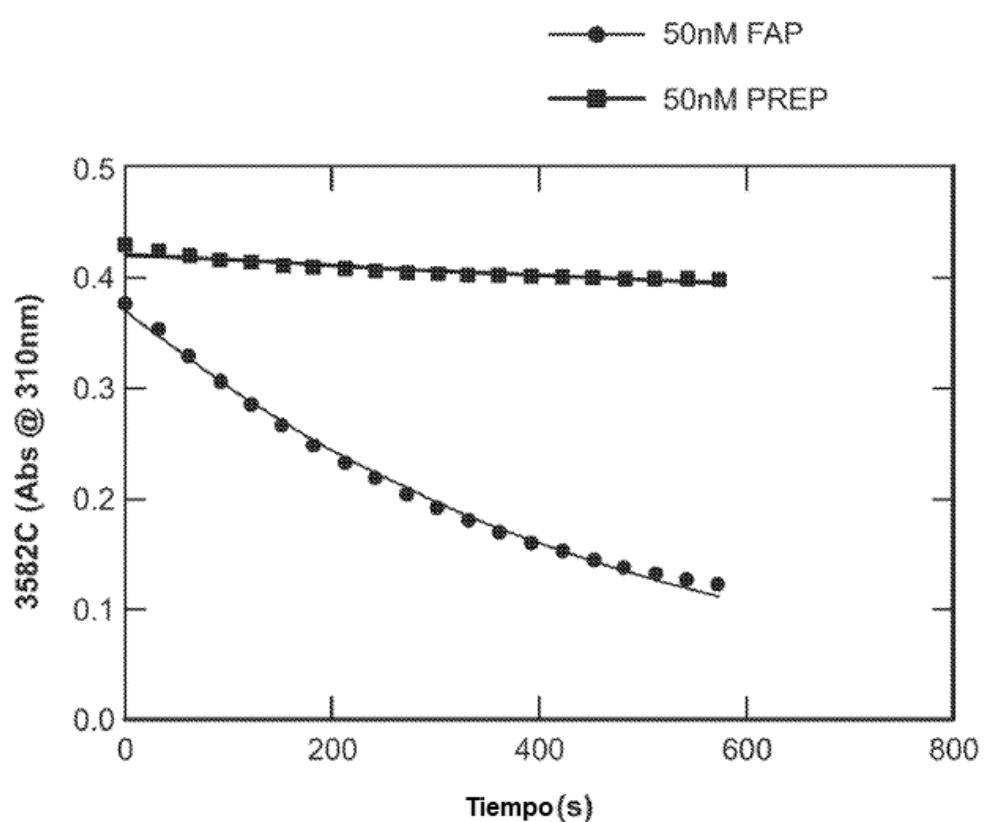
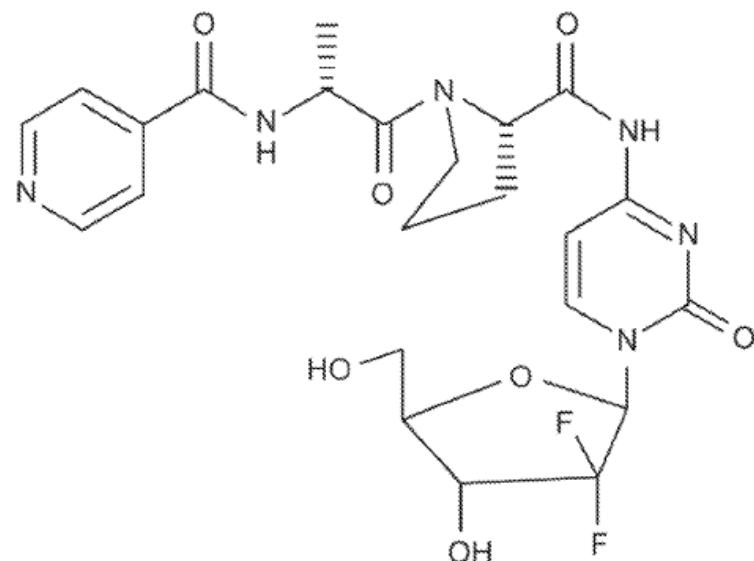
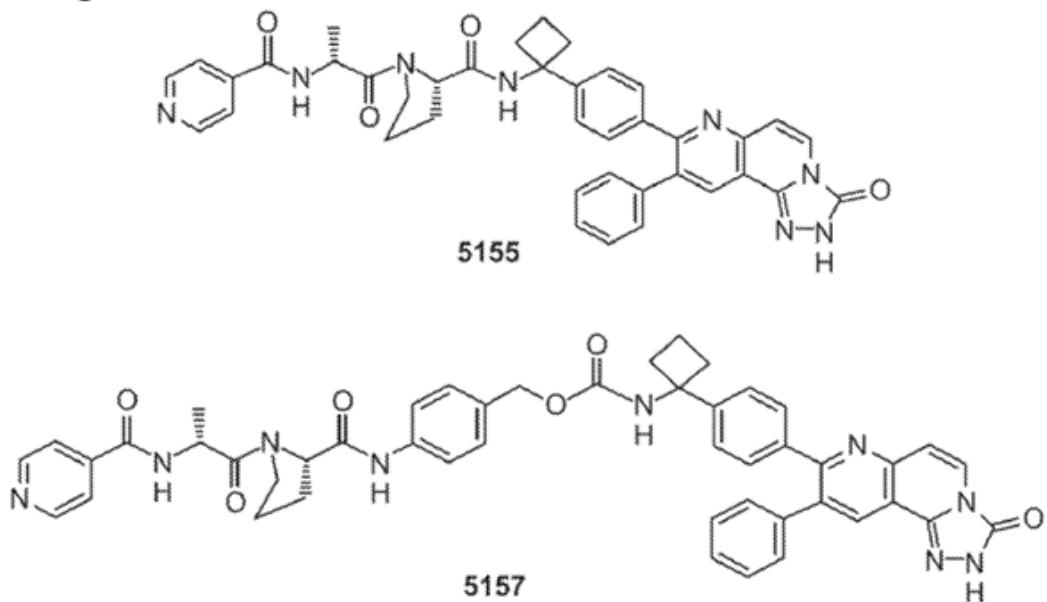
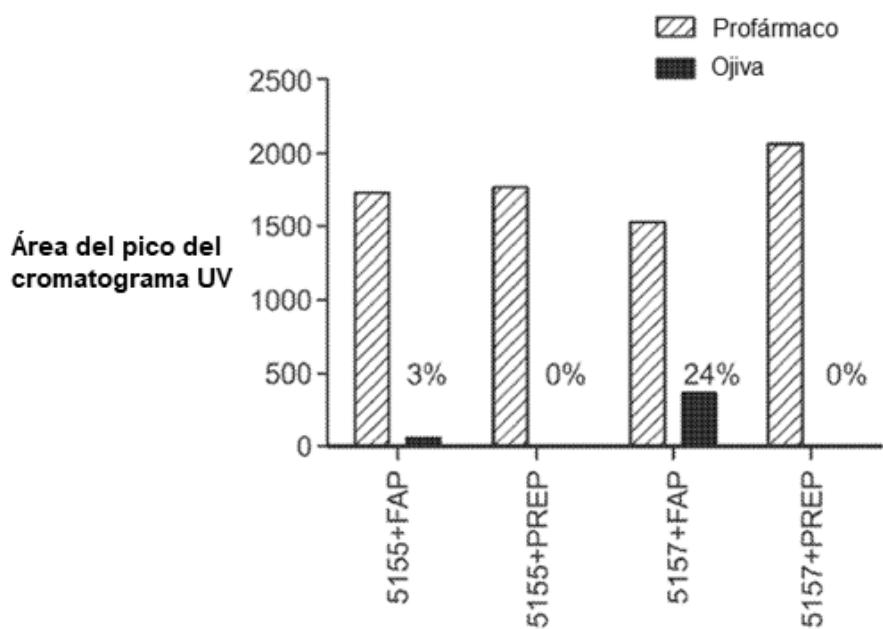


Figura 13

**Activación selectiva de 5155 y 5157
por FAP sobre PREP**



[E] = 25 nM; [profármaco] = 100 μ M; Solución reguladora: FAP solución reguladora;
Temperatura: 37 °C; Tiempo: 1 hora

Figura 14

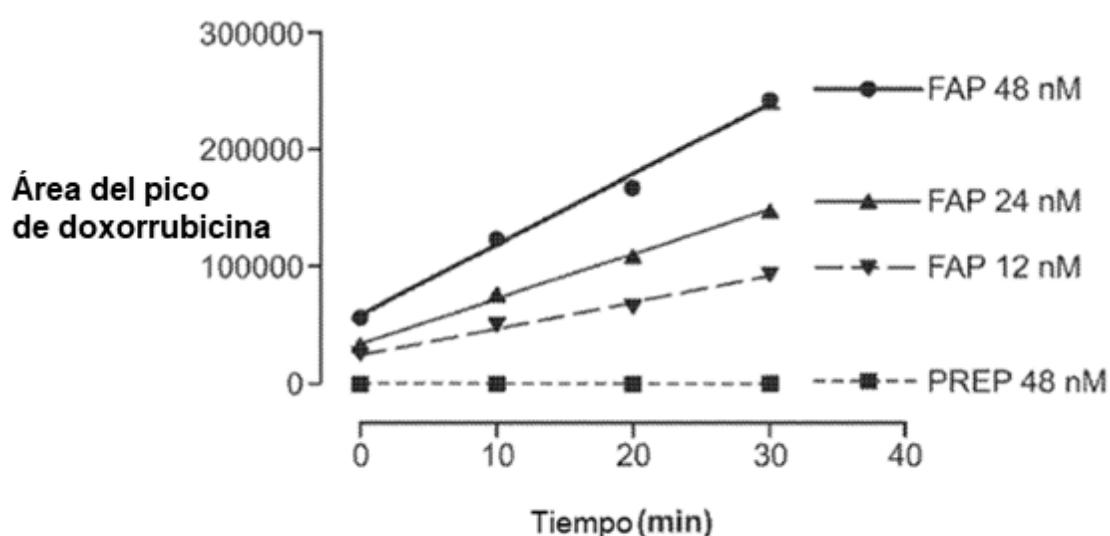
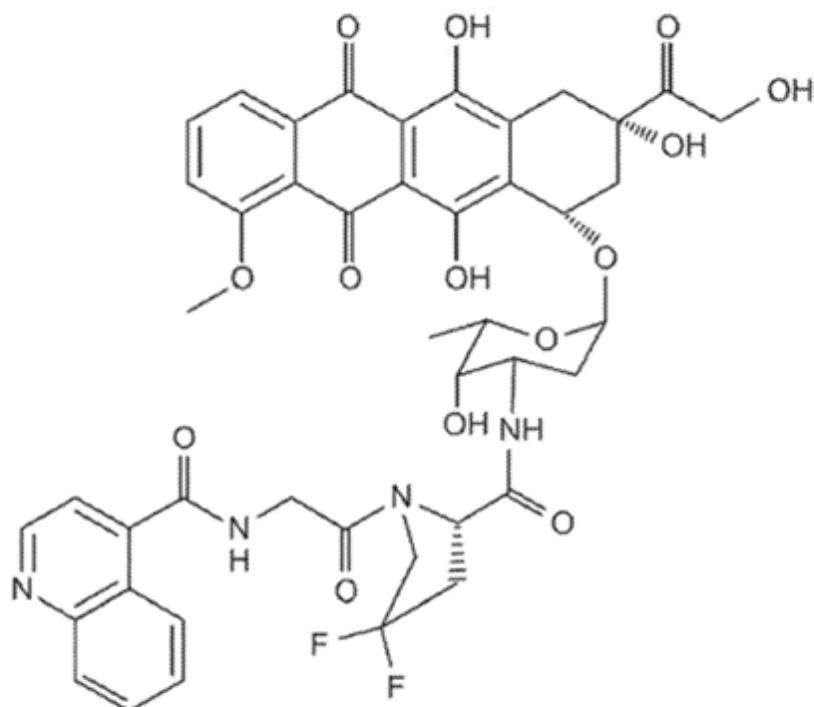


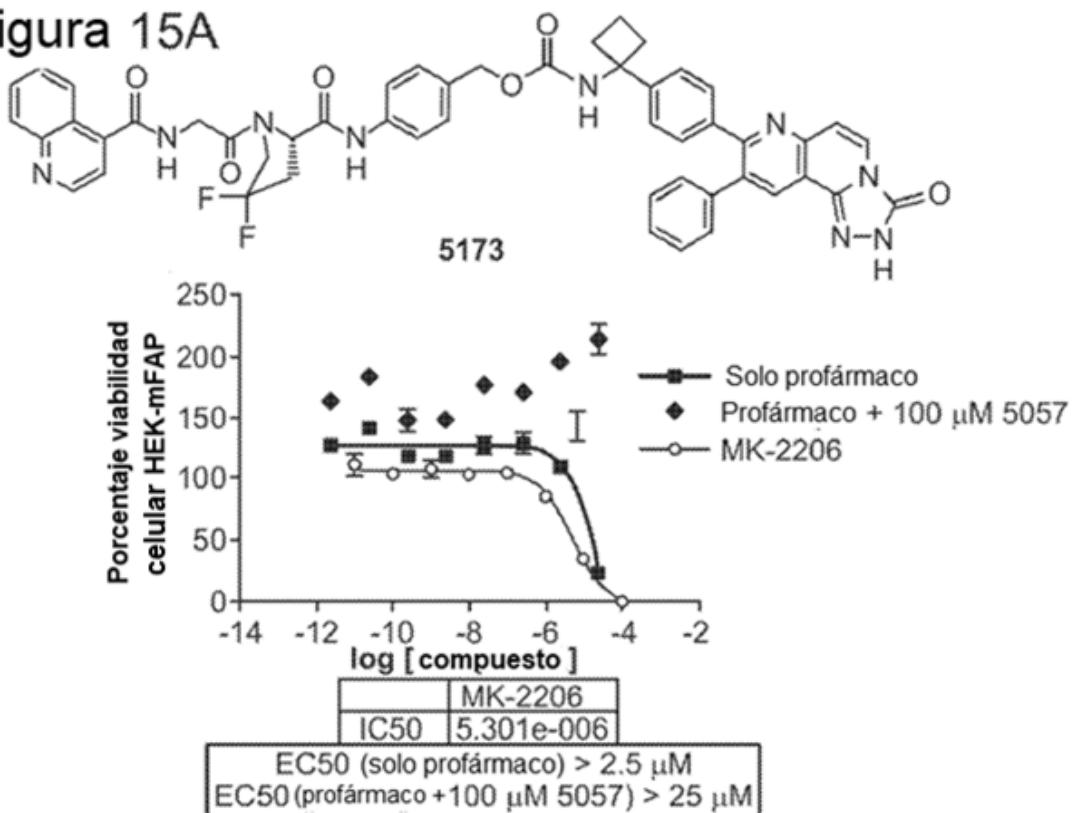
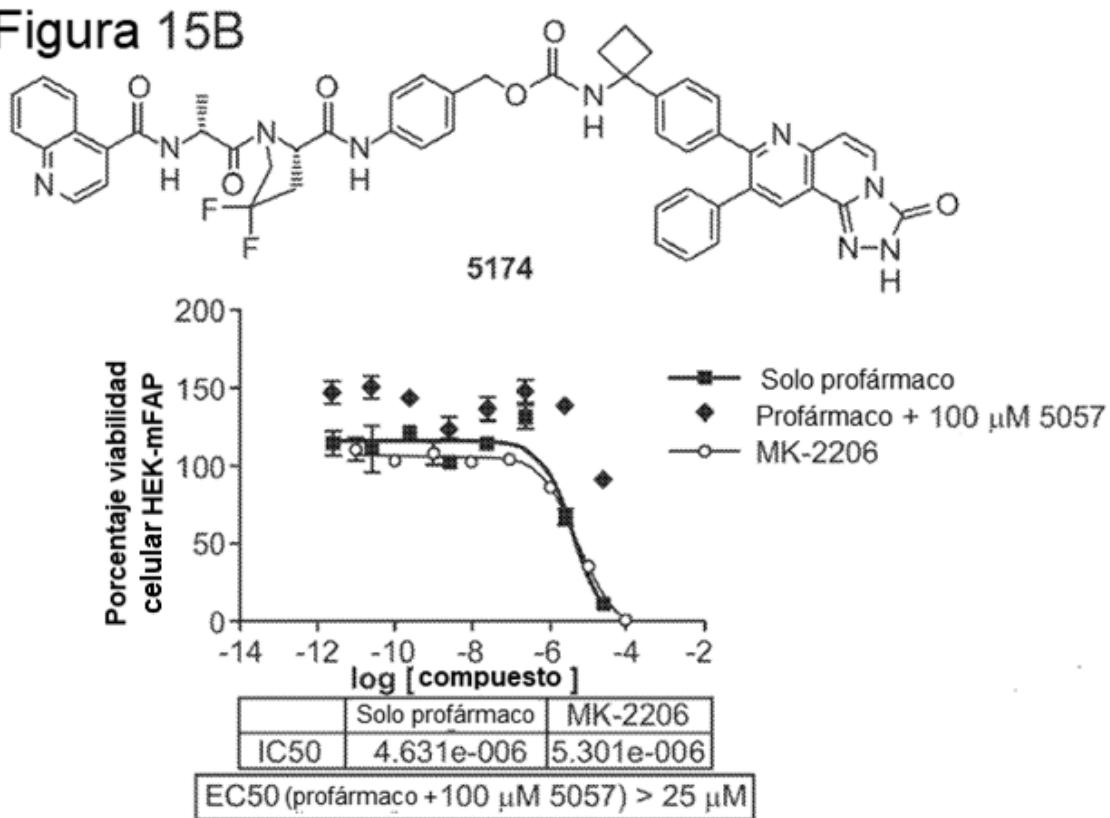
Figura 15A**Figura 15B**

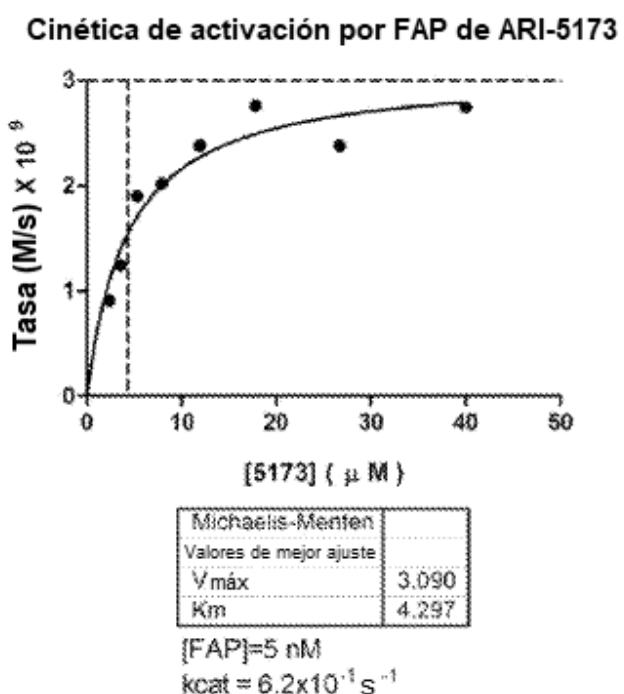
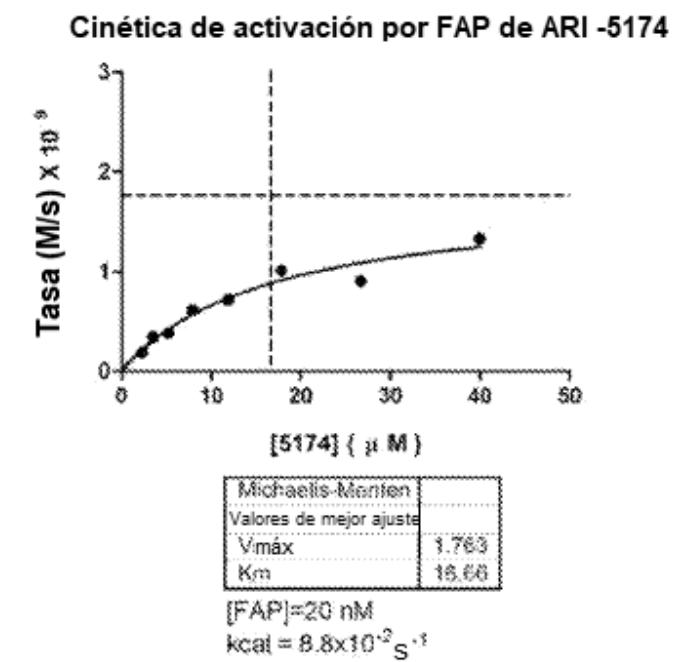
Figura 16A**Figura 16B**

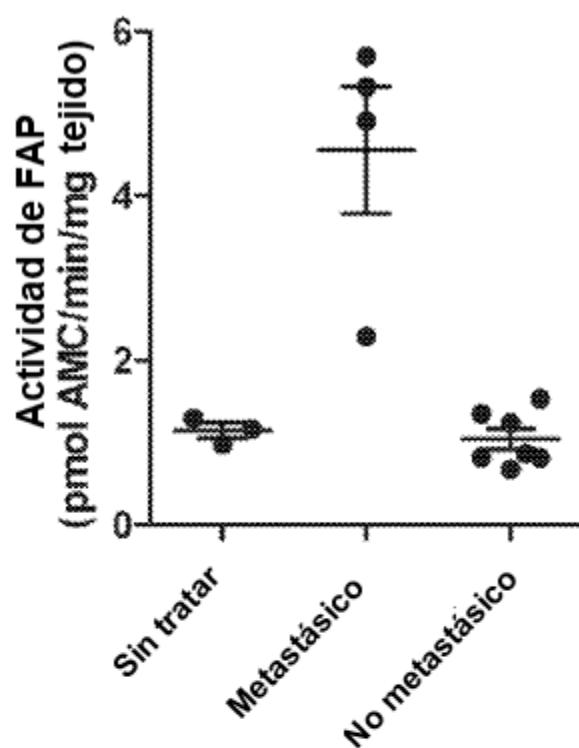
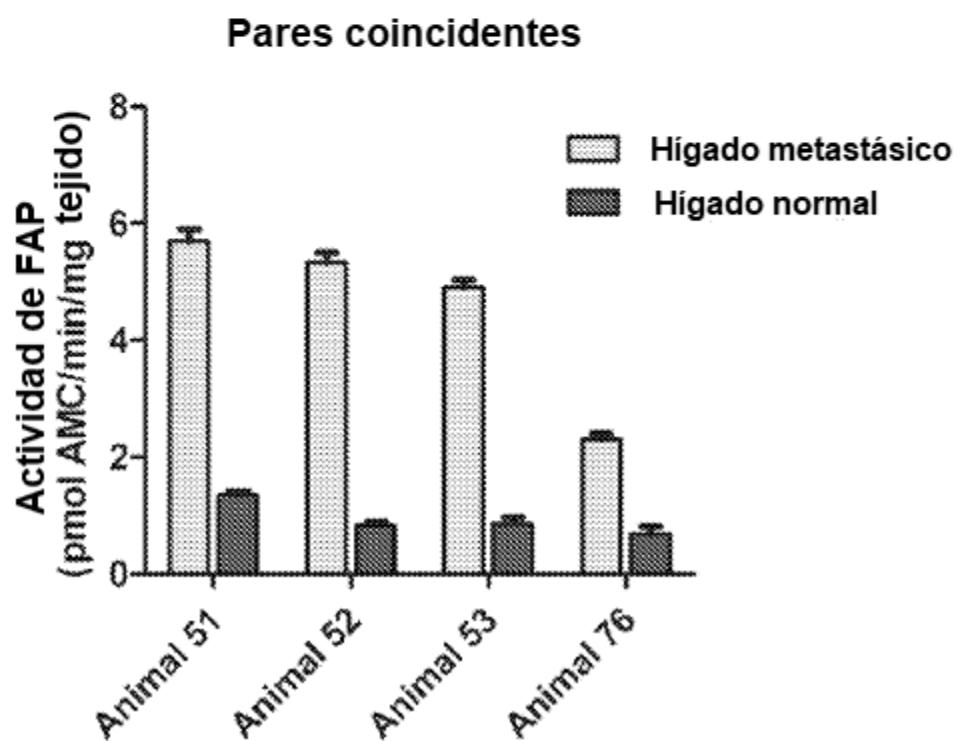
Figura 17A**Figura 17B**

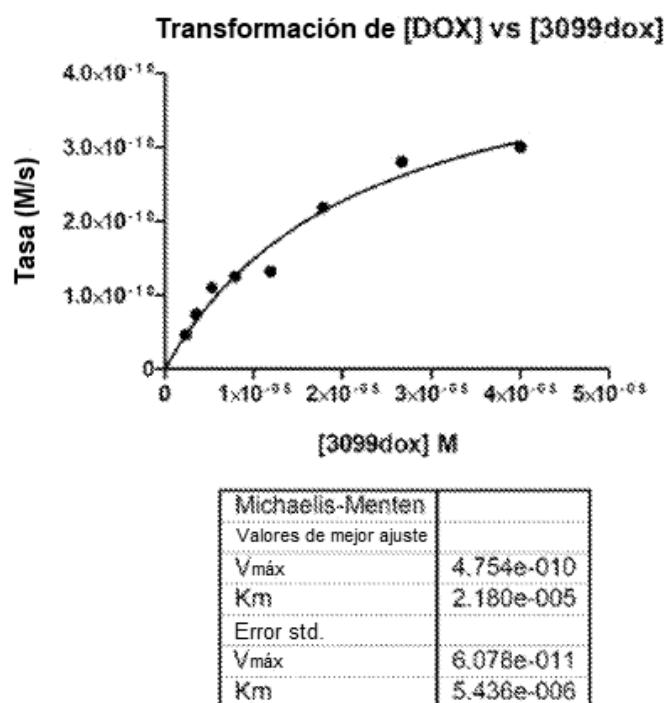
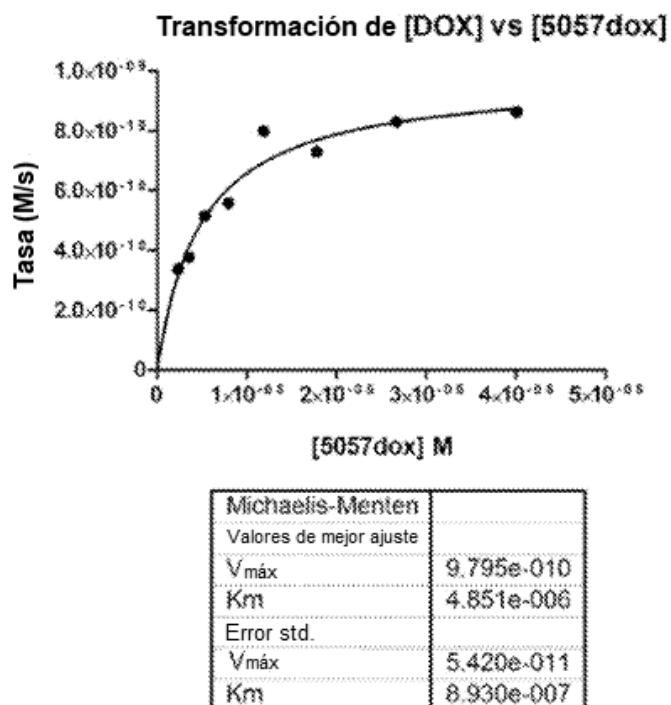
Figura 18A**Figura 18B**

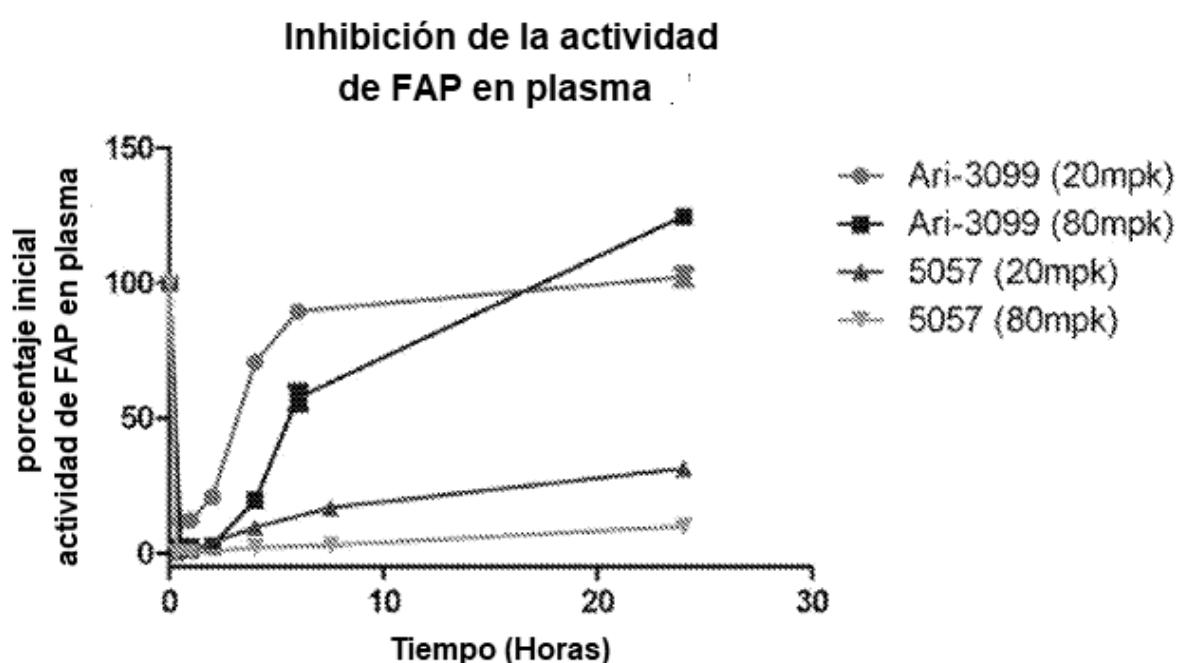
Figura 19

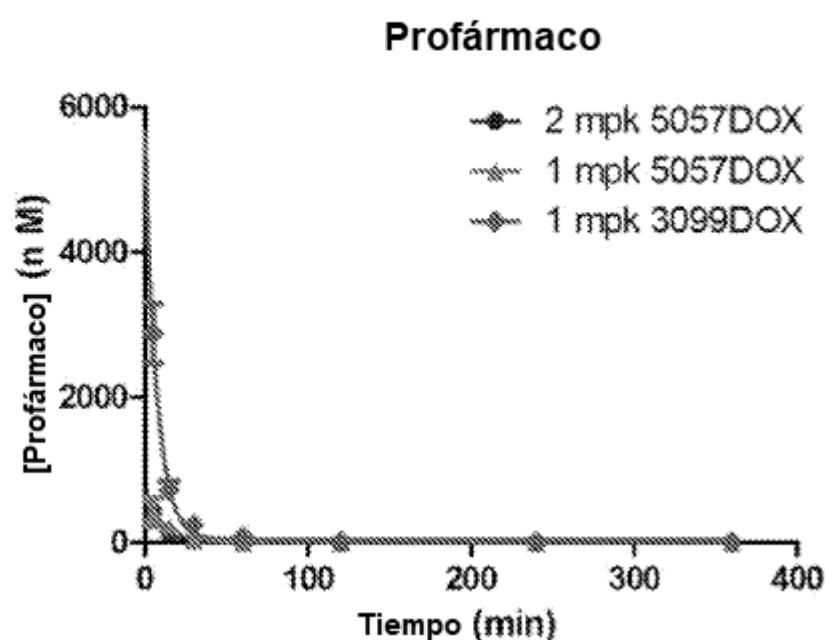
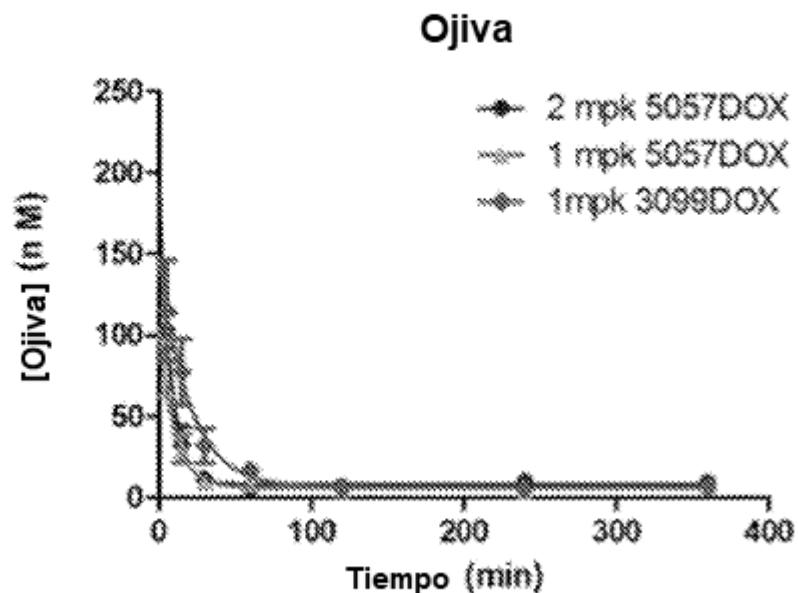
Figura 20A**Figura 20B**

Figura 21

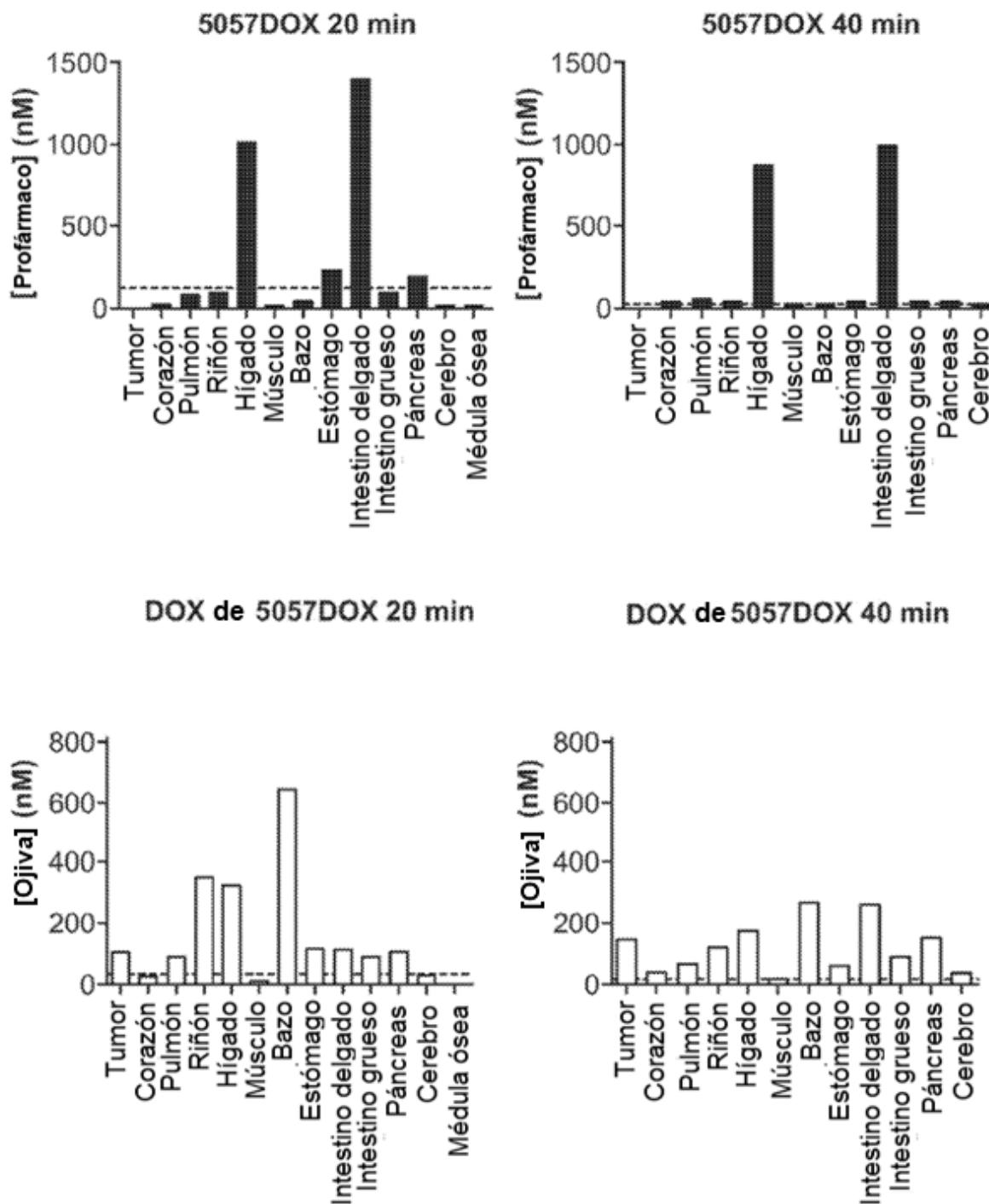


Figura 22

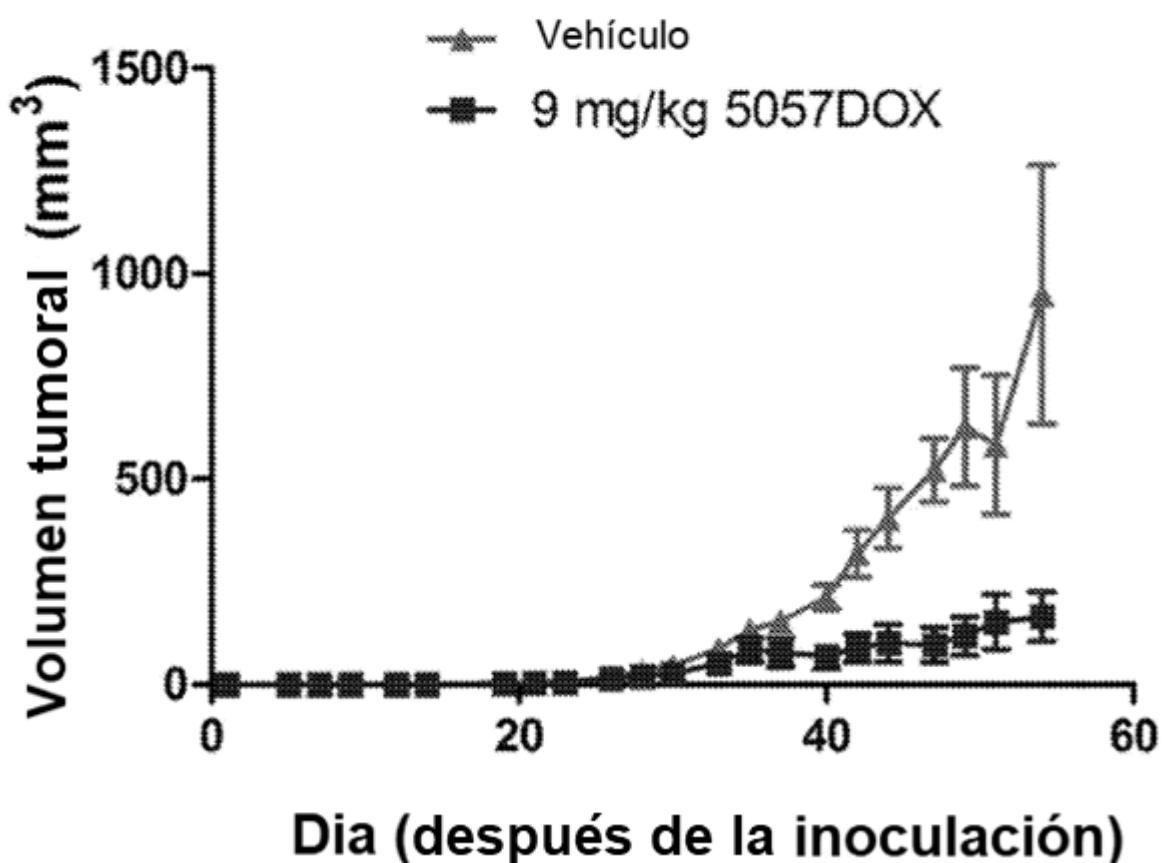


Figure 23

