

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 902 082**

51 Int. Cl.:

A61K 47/54	(2007.01) A61K 38/06	(2006.01)
A61K 47/58	(2007.01) A61P 3/04	(2006.01)
A61K 47/65	(2007.01) A61P 3/08	(2006.01)
A61K 47/50	(2007.01) A61P 3/10	(2006.01)
A61K 31/485	(2006.01) A61P 5/50	(2006.01)
A61K 31/336	(2006.01)	
A61K 31/77	(2006.01)	
C07D 407/08	(2006.01)	
C08F 22/22	(2006.01)	
C07K 2/00	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2014** **E 19185831 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.09.2021** **EP 3574922**

54 Título: **Inhibidores de MetAP2 Fumagillol conjugados a polímero o modificados para mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina**

30 Prioridad:

10.04.2013 US 201361810468 P
10.01.2014 US 201461925918 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.03.2022

73 Titular/es:

SYNDEV RX, INC. (100.0%)
One Broadway 14th Floor
Cambridge, MA 02142, US

72 Inventor/es:

PETERSEN, JOHN S. y
SHANAHAN, JAMES

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 902 082 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

Inhibidores de MetAP2 Fumagillol conjugados a polímero o modificados para mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina

REFERENCIA CRUZADA CON SOLICITUDES RELACIONADAS

- 5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EE. UU. núm. 61/810.468, presentada el 10 de abril de 2013 y la solicitud provisional de EE. UU. núm. 61/925.918, presentada el 10 de enero de 2014.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

10 La obesidad es una enfermedad crónica y un problema de salud importante en la sociedad moderna. Según los Centros para el Control de Enfermedades (*Centers for Disease Control o CDC*), Estados Unidos está en medio de una epidemia de obesidad. En EE. UU., aproximadamente 65% de los adultos tienen sobrepeso, 30% de los adultos son obesos, en donde más de 5 millones de adultos se clasifican como obesos mórbidos. Diez millones están próximos a esa marca y pueden conllevar riesgo de problemas de salud relacionados con la obesidad. El problema está empeorando; la obesidad en niños y adolescentes aumentó al doble en las últimas dos décadas.

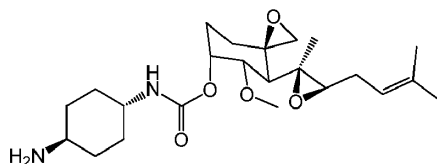
15 Las terapias existentes para la obesidad incluyen dietas estándar y ejercicio, dietas de muy bajas calorías, terapia conductual, farmacoterapia que abarca supresores del apetito, fármacos termogénicos, inhibidores de absorción de los alimentos, dispositivos mecánicos tales como fijación maxilomandibular, cinturones y globos, y cirugía. No obstante, estas terapias existentes no son muy eficaces. La adhesión a dietas de restricción de energía es problemática y en general no resulta exitosa, y las terapias médicas tienen una eficacia modesta en el manejo del peso a largo plazo. En la mayoría de los casos, la toxicidad y los efectos colaterales han impedido el desarrollo de candidatos a fármacos para adelgazamiento potencial. El síndrome metabólico (Sutherland, et al., *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 2:82-104 (2004); Esposito, et al., *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 14:228-232 (2004)), se refiere a la obesidad y se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólicos que incluyen: 1) obesidad abdominal (tejido graso excesivo en el abdomen y alrededor de éste); 2) dislipidemia aterogénica (triglicéridos altos; colesterol HDL bajo y colesterol LDL alto); 3) hipertensión arterial; 4) resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa; 5) estado protrombótico (p. ej., inhibidor del activador de fibrinógeno o plasminógeno elevado 1 en la sangre); y 6) estado proinflamatorio (p. ej., CRP elevada en la sangre). El síndrome metabólico se ha vuelto cada vez más frecuente en los países desarrollados y se asocia estrechamente con riesgo de cardiopatía coronaria (Malik, et al., *Circulation* 110:1245-1250 (2004); Irabarren, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.* 48:1800-1807 (2006)). Los inhibidores de MetAP2 y su uso en métodos para adelgazar y/o mejorar la tolerancia a la glucosa se han descrito previamente en los documentos WO2011/127304, WO2010/065877 y WO2012/122264.

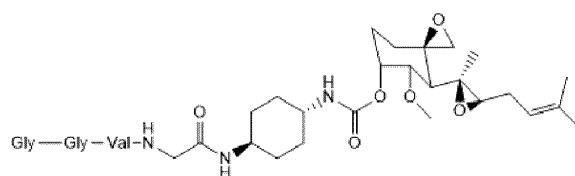
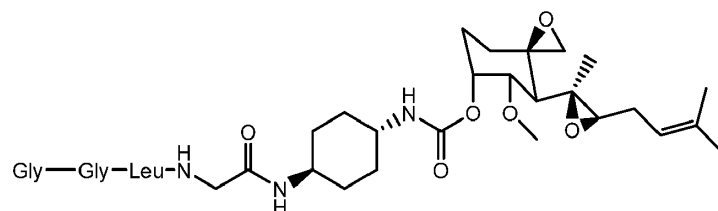
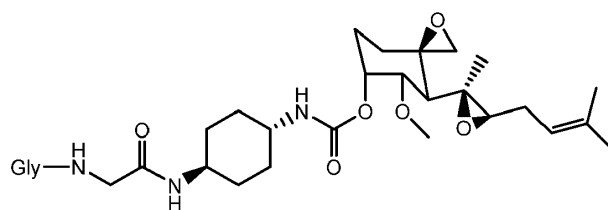
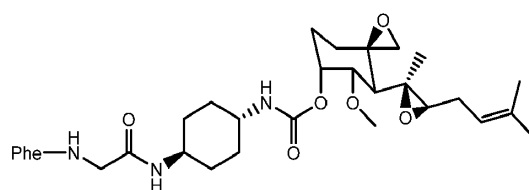
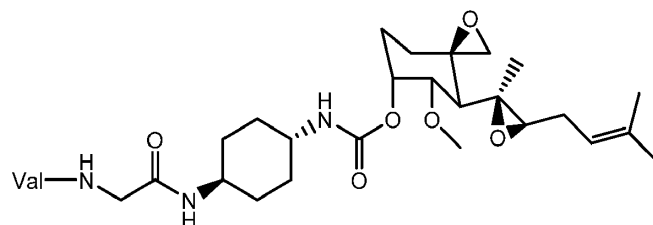
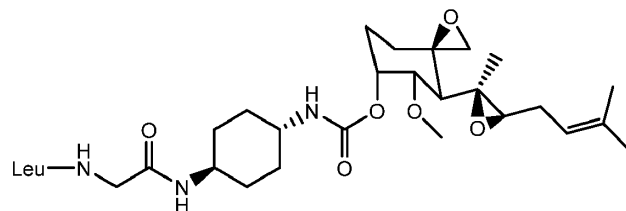
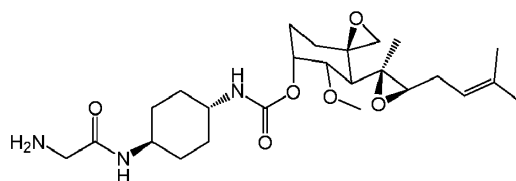
35 El síndrome cardiometabólico incluye trastornos metabólicos relacionados con obesidad y aterosclerosis. Los trastornos cardiometabólicos también promueven la calcificación arterial y valvular que puede provocar complicaciones clínicas devastadoras: infarto de miocardio agudo y estenosis aórtica. Además, la diabetes causa enfermedad renal crónica que también provoca calcificación ectópica cardiovascular e infarto de miocardio agudo. Conjuntamente, varios componentes importantes del síndrome cardiometabólico, desarrollados mediante mecanismos interrelacionados, se potencian entre sí a través de la inflamación local o sistémica. Además, la falta de adhesión de los pacientes a los medicamentos recetados presenta un desafío enorme para la comunidad sanitaria mundial. Solo en EE. UU., el gasto médico evitable se estimó en \$ 300 billones en 2009. Con la caducidad del éxito, los proyectos estancados y el aumento de la contención del gasto por parte de los pagadores, acortar la brecha es un "deber" para las empresas farmacéuticas.

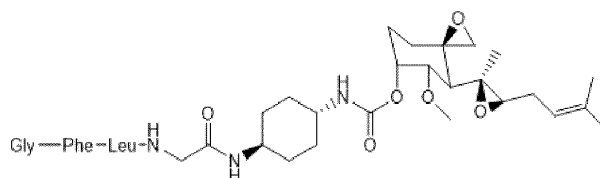
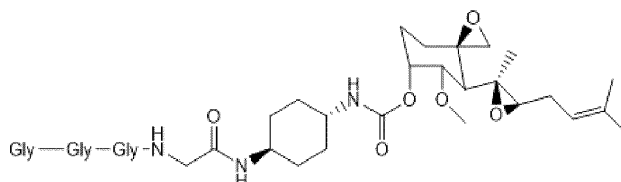
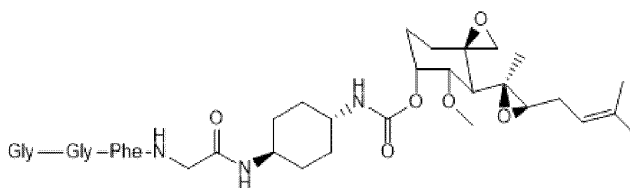
40 Por consiguiente, se necesitan nuevos compuestos y métodos para causar, inducir y/o aumentar el adelgazamiento y tratar la obesidad y el síndrome metabólico. La presente invención aborda estas necesidades.

COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

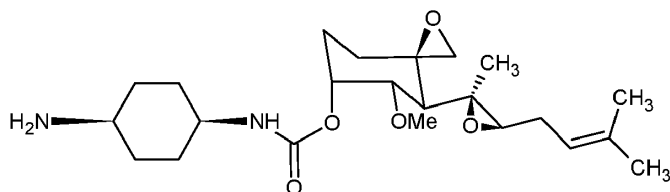
45 La presente invención da a conocer un compuesto para uso terapéutico a fin de mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene sobrepeso o es obeso, en donde el compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en:



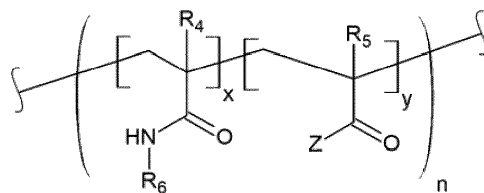




y



La presente invención también da a conocer un compuesto de la Fórmula



o su sal farmacéuticamente aceptable para uso terapéutico a fin de mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene sobrepeso o es obeso, en donde, independientemente en cada caso,

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

R₆ es hidroxialquilo C₂-C₆;

Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W o -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W;

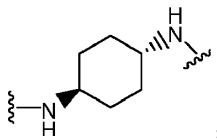
AA₁ es glicina, alanina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5;

AA₂ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

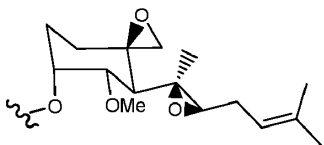
AA₃ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

AA₄ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

-Q-X-Y es



5 W es



x está en el intervalo de 1 a 450;

y está en el intervalo de 1 a 30;

n está en el intervalo de 1 a 50; y

10 el compuesto tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 60 kDa;

en donde

cuando Z es -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, entonces AA₅ es un enlace, o glicina, valina, tirosina, triptófano, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina o asparagina; y AA₆ es un enlace, o alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5; y

cuando Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, entonces: AA₅ es un enlace, alanina, cisteína, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, valina o triptófano; y AA₆ es alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5.

20 La invención se define con las reivindicaciones. Cualquier objeto fuera del alcance de las reivindicaciones se da a conocer para fines informativos solamente. Cualquier referencia en la descripción a los métodos de tratamiento se refiere a los compuestos, composiciones farmacéuticas y medicamentos de la presente invención para uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal con terapia.

25 También se describen en este documento métodos para mejorar la sensibilidad a la insulina y el control glucémico, reducir los niveles de insulina y/o mejorar la sensibilidad a la leptina en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención, o su sal, profármaco, metabolito, análogo o derivado farmacéuticamente aceptable, en una cantidad terapéuticamente eficaz en un esquema razonable para el sujeto a fin de tratar o paliar estas enfermedades o afecciones.

30 A menos que se defina otra cosa, todos los términos técnico-científicos utilizados en este documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente el experto en la técnica a la que pertenece la invención. En la memoria, las formas en singular también incluyen el plural a menos que el contexto dicte claramente algo distinto. Si bien los métodos y materiales o equivalentes a aquellos descritos en este documento se pueden utilizar para poner en práctica o ensayar la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. No se admite que las referencias citadas en este documento sean técnica anterior a la invención reivindicada. En el caso de controversia,

35 regirá la presente memoria, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solamente ilustrativos y no tienen como fin ser limitativos.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

- La Figura 1 es un gráfico que muestra el cambio de peso corporal con el paso del tiempo después de la administración de los compuestos de la presente invención.
- La Figura 2 es un gráfico que muestra el consumo de alimento semanal promedio después de la administración de los compuestos de la presente invención.
- La Figura 3 es un gráfico que muestra la relación entre peso graso y peso corporal total después de la administración de los compuestos de la presente invención.

- La Figura 4 es un gráfico que muestra los niveles de glucemia después de la administración de una prueba de tolerancia a la glucosa durante el período de tratamiento de un estudio en murinos que usa los compuestos de la presente invención.
- 5 • La Figura 5 es un gráfico que muestra el cambio de peso corporal con el paso del tiempo después de la administración de diversas dosis de un compuesto de la presente invención en un esquema de administración cada 4 días (q4d).
- La Figura 6 es un gráfico que muestra cambios en el colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL al final de un estudio de 32 días en función del nivel de dosis usando los compuestos de la presente invención.
- 10 • La Figura 7 es un gráfico que muestra el cambio de peso corporal con el paso del tiempo después de la administración de diversas dosis de un compuesto de la presente invención a ratas en un esquema de administración cada 7 días. (q7d)
- La Figura 8 es un gráfico que muestra el cambio de peso corporal en ratas tratadas con una sola dosis de diversos agentes de ensayo.
- 15 • La Figura 9 es un gráfico que muestra la concentración plasmática de un compuesto de la presente invención con el paso del tiempo en base a la administración de dos compuestos diferentes.
- La Figura 10 es un gráfico que muestra el cambio de peso corporal con el paso del tiempo después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- 20 • La Figura 11 es un gráfico que muestra los cambios de peso corporal en ratas Levin macho bajo una dieta con alto contenido graso después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 12 es un gráfico que muestra la exposición a fumagilol frente a la pérdida de peso en ratas DIO después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- 25 • La Figura 13 es un gráfico que muestra cambios en los niveles de insulina en ratas macho Levin DIO bajo una dieta con alto contenido graso después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 14 es un gráfico que muestra los niveles de insulina durante una prueba de tolerancia a la glucosa (OGTT) después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 15 es un gráfico que muestra reducciones en la glucemia en ratas DIO durante una prueba de tolerancia a la glucosa (OGTT) después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- 30 • La Figura 16 es un gráfico que muestra el producto HOMA-ir durante una OGTT en ratas DIO después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 17 es un gráfico que muestra el consumo de alimento semanal después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- 35 • La Figura 18 es un gráfico que muestra cambios en los niveles de leptina desde la situación inicial después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 19 es un gráfico que muestra cambios de peso corporal en ratones DIO después de la administración de diversos compuestos de la presente invención en esquemas cada 4 días y cada 8 días.
- 40 • La Figura 20 es un gráfico que muestra el adelgazamiento después de la administración de CKD-732 en un esquema cada 2 días y cada 4 días
- La Figura 21 es un gráfico que muestra las reducciones en la ingesta de alimento después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- 45 • La Figura 22 es un gráfico que muestra niveles de insulina significativamente reducidos durante una ipGTT en ratones C57B16 macho mantenidos a dieta con alto contenido graso durante 25 semanas después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 23 es un gráfico que muestra la AUC de insulina durante una prueba de tolerancia a la glucosa en ratones DIO macho después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.

- La Figura 24 es un gráfico que muestra los niveles de glucemia en ratones C57B16 macho a dieta con alto contenido graso después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.
- La Figura 25 es un gráfico que muestra el producto HOMA durante una ipGTT en ratones C57B16 bajo una dieta con alto contenido graso después de la administración de diversos compuestos de la presente invención.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Compuestos de la presente invención

La presente invención da a conocer composiciones de conjugados de fármacos que incluyen un resto activo modificado, y un enlazador escindible, en donde la escisión del enlazador ocurre sustancialmente en un tejido diana para producir un resto activo modificado que tiene flujo saliente reducido desde el tejido diana en comparación en el resto activo no modificado, como se define en las reivindicaciones. La presente invención también da a conocer composiciones que incluyen un resto activo modificado, como se define en las reivindicaciones.

El resto conjugado utilizado depende de las características físico-químicas del resto conjugado y del resto activo, además de los requerimientos biológicos, p. ej., propiedades de farmacocinética y farmacodinámica del resto activo, y el conocimiento del estado de enfermedad. El experto en la técnica podrá seleccionar un resto conjugado apropiado en función de las consideraciones anteriores. El resto conjugado se puede utilizar para administrar restos activos de moléculas pequeñas o restos activos de moléculas más grandes, como proteínas, péptidos u oligonucleótidos.

El resto conjugado mejora la administración de un resto activo a la diana. El resto conjugado se selecciona para maximizar la biodisponibilidad del resto activo, optimizar el inicio, la duración y la velocidad de administración del resto activo, y mantener la concentración del resto activo en un tejido diana dentro de un intervalo terapéutico siempre que se requiera para un tratamiento eficaz. El resto conjugado puede también ayudar a minimizar los efectos colaterales adversos de un resto activo. Por consiguiente, el resto conjugado prolonga la actividad farmacológica de un resto activo, estabiliza restos activos lábiles contra degradación química y proteolítica, minimiza los efectos colaterales, aumenta la solubilidad y dirige el resto activo hacia células o tejidos específicos.

Otras propiedades del resto conjugado que se han de considerar son que el resto conjugado sea mínimamente inmunogénico o no inmunogénico y no tóxico. El peso molecular del resto conjugado debe ser lo suficientemente alto para evitar la eliminación rápida mediante ultrafiltración renal, y lo suficientemente bajo para prevenir la acumulación indeseable dentro del organismo. En determinadas realizaciones, el resto conjugado es hidrófilo y es biodegradable. Los restos conjugados que no son biodegradables también son adecuados con las composiciones y métodos de la invención. El resto conjugado debe ser capaz de transportar la cantidad requerida de resto activo y proteger contra metabolismo prematuro del resto activo en tránsito hacia el tejido diana.

Los conjugados ilustrativos incluyen todas las formas de polímeros, polímeros sintéticos, además de polímeros relacionados con productos naturales que incluyen péptidos, polisacáridos, ácidos polinucleicos, anticuerpos y aptámeros. En realizaciones preferidas, el conjugado es un polímero sintético. Los polímeros ilustrativos de la invención se han descritos en las patentes de EE.UU. núm. 4.997.878 para Bock et al., 5.037.883 para Kopecek et al., 5.258.453 para Kopecek et al., 6.464.850 para Zhang et al., 6.803.438 para Brocchini et al. Otros polímeros ilustrativos se han descrito en Subr et al., J Controlled Release, 18, 123-132 (1992). En algunas realizaciones, el método de síntesis del polímero puede generar el acoplamiento de dos o más cadenas poliméricas y puede aumentar el peso molecular promedio de peso del conjugado de polímero. Se reconoce además que, si este acoplamiento ocurre, los enlaces serán biodegradables.

El resto activo puede ser cualquier compuesto o molécula que produzca un efecto terapéutico en un sujeto. En determinadas realizaciones, el compuesto o la molécula tiene un peso molecular de 2000 Daltons o menos, 1500 Daltons o menos, 1000 Daltons o menos, 500 Daltons o menos, o 250 Daltons o menos. En determinadas realizaciones, el compuesto o la molécula es un inhibidor de MetAP2. En determinadas realizaciones, el compuesto o la molécula es fumagilina, fumagillol su análogo, derivado, sal o éster. El compuesto o la molécula seleccionada dependerán de la afección o enfermedad a tratar. En determinadas realizaciones, se pueden emplear dos o más restos activos. En determinadas realizaciones, se pueden emplear un resto activo y un resto de "tope" inactivo. En determinadas realizaciones, la afección que se ha de tratar es la obesidad. En composiciones de la invención, el resto conjugado se une al resto activo mediante un enlazador. Se puede utilizar cualquier estructura de enlazador conocida en la técnica para unir el resto activo modificado con el resto conjugado. El enlazador utilizado dependerá de las condiciones fisiológicas del tejido diana, las propiedades del resto activo que se estén optimizando y el mecanismo de escisión. D'Souza et al. repasan varios tipos de enlazadores que incluyen enlazadores que operan mediante escisión proteolítica "Release from Polymeric Prodrugs: Linkages and Their Degradation" J. Pharm. Sci., 93, 1962-1979 (2004). Blencoe et al. describen una diversidad de enlazadores autodestructivos, "Self-immolative linkers in polymeric delivery systems" Polym. Chem. 2, 773-790 (2011). Ducry et al. repasan enlazadores en Bioconj. Chem. 21, 5-13 (2010) "Antibody-Drug Conjugates: Linking Cytotoxic Payloads to Monoclonal Antibodies". Los enlazadores peptídicos adecuados para escisión por metaloproteinasas de matriz (MMP) se describen en Chau et al. "Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models" Int. J. Cancer 118, 1519-1526 (2006) y Chau et al. número de publicación de patente de EE. UU. 2004/0116348. Otras químicas de enlazadores adecuados con las

composiciones de la invención se exponen en Shiose et al. Biol. Pharm. Bull. 30(12) 2365-2370 (2007); Shiose et al. Bioconjugate Chem. 20(1) 60-70 (2009); Senter, número de patente de EE. UU. 7.553.816; De Groot, número de patente de EE. UU. 7.223.837; King, número de patente de EE. UU. 6.759.509; Susaki, número de patente de EE. UU. 6.835.807; Susaki, número de patente de EE. UU. 6.436.912; y Gemeinhart, número de patente de EE. UU. 7.943.569.

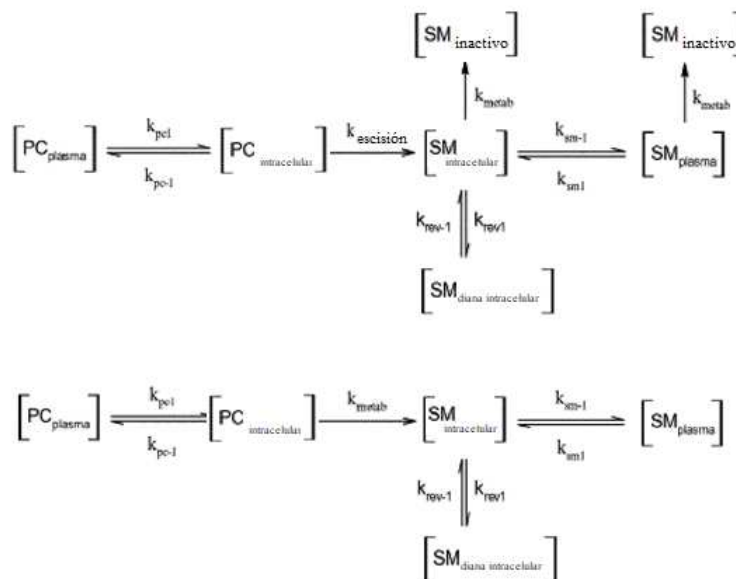
5 En determinadas realizaciones, el enlazador es un enlazador de péptidos. Los enlazadores de péptidos ilustrativos se describen en las patentes de EE. UU. núm. 6.835.807 para Susaki et al., 6.291.671 para Inoue et al., 6.811.996 para et al., 7.041.818 para Susaki et al., 7.091.186 para Senter et al., 7.553.816 para Senter et al. Se han descrito péptidos ilustrativos adicionales y su escisión en Shiose et al. Biol. Pharm. Bull. 30(12) 2365-2370 (2007) y en Shiose et al. Bioconjugate Chem. 20(1) 60-70 (2009). Los enlazadores de péptidos para escisión por metaloproteinasas de matriz (MMP) se describen en Chau et al. "Antitumor efficacy of a novel polymer-peptide-drug conjugate in human tumor xenograft models" Int. J. Cancer 118, 1519-1526 (2006) y en Chau et al., número de publicación de patente de EE. UU. 2004/0116348.

15 El enlazador se puede escindir por cualquier mecanismo conocido en la técnica. Por ejemplo, los enlazadores pueden diseñarse para escisión proteolítica o escisión proteolítica intracelular. En determinadas realizaciones, el enlazador se diseña de manera tal que no hay escisión del enlazador en el plasma o hay una tasa muy baja de escisión en el plasma. Las estructuras de enlazadores ilustrativas se describen en detalle a continuación.

20 En determinadas realizaciones, el enlazador tiene una estructura tal que preferiblemente se escindirá en el tejido patológico. Dado que la mayoría de las hidrolasas existen tanto en tejido normal como patológico, el enlazador debe ser escindido por una hidrolasa que sea más activa en el tejido patológico y/o más prevalente en el tejido patológico. Por ejemplo, los tumores tienen tasas metabólicas generalmente aumentadas y en particular expresan de manera excesiva las proteasas, incluidas las catepsinas. El aumento y la función de las proteasas en cáncer son descritos por Mason et al. Trends in Cell Biology 21, 228-237 (2011).

25 En determinadas realizaciones, la clase de restos activos que son modificados son restos que se unen irreversiblemente a sus dianas, es decir, después de la liberación del conjugado, el resto activo se une en forma covalente a la diana bioquímica. Una vez unido, el resto activo no puede difundir ni transportar la célula. Para que ocurra el direccionamiento en caso de unión irreversible, la tasa de unión de moléculas pequeñas a la diana, k_{rev1} , debe ser significativamente relativa a la tasa de flujo saliente de moléculas pequeñas, k_{sm-1} . Si la tasa de flujo saliente es alta en relación a la unión de moléculas pequeñas, el equilibrio de moléculas pequeñas se establecerá entre el plasma y el compartimiento intracelular y no habrá ninguna ventaja de la administración intracelular en relación con la administración extracelular.

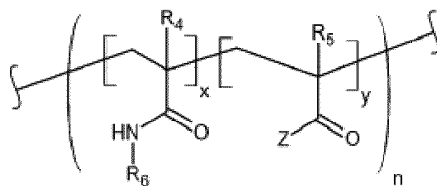
30 En otras realizaciones, la clase de restos activos que se modifican son restos que se unen reversiblemente a sus dianas. Para que ocurra el direccionamiento en el caso de unión reversible, la constante de equilibrio para la unión de moléculas pequeñas a la diana $K = k_{rev1} / k_{rev-1}$ debe ser grande y la "constante de asociación", k_{rev1} , debe ser relativa a la tasa de flujo saliente de moléculas pequeñas, k_{sm-1} . Si la tasa de flujo saliente es relativamente alta para la unión de moléculas pequeñas, el equilibrio de las moléculas pequeñas se establecerá entre el plasma y el compartimiento intracelular y no habrá ventaja de la administración intracelular en relación con la administración extracelular. Dicha relación se describe esquemáticamente a continuación, en donde: [PC] = concentración de conjugado de polímero; [SM] = concentración de molécula pequeña liberada; plasma = concentración plasmática; intracelular = concentración intracelular; diana intracelular = molécula pequeña reversiblemente unida a la diana intracelular; e inactivo = metabolito inactivo de la molécula pequeña. En determinadas realizaciones, cuando $k_{rev-1} =$ cero, el resto se une irreversiblemente a su diana.



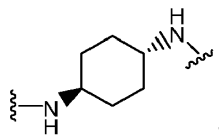
En otras realizaciones, la clase de restos activos que se modifican son restos que tienen constantes de equilibrio muy altas y "constantes de asociación" altas en relación al flujo saliente. En otras realizaciones, la clase de restos activos que se modifican son restos que se someten a metabolismo intracelular a alta velocidad en relación con el flujo saliente.

En determinadas realizaciones, las modificaciones al resto activo se logran usando un enlazador que tiene una estructura tal que tras la escisión, un fragmento del enlazador permanece acoplado al resto activo. Ese fragmento puede cambiar cualquiera del peso molecular, la hidrofobicidad, el área de superficie polar o la carga del resto activo, produciendo así un resto activo modificado que tiene flujo saliente reducido de una célula diana en comparación con el resto activo no modificado. Por ejemplo, el acoplamiento de restos activos inhibidores de MetAP2 a través de los enlazadores descritos en este documento proporciona conjugados en los que tras la escisión del enlazador, producen un resto activo que tiene un fragmento del enlazador acoplado a éste (resto activo modificado). Los restos activos modificados descritos en este documento pueden tener flujo saliente reducido de una célula en comparación con los restos activos no modificados, lo que resulta en restos activos modificados con eficacia superior para las moléculas pequeñas originales y perfiles de farmacocinética superiores.

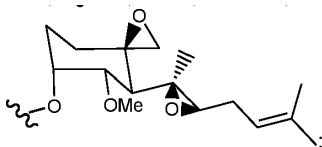
La presente invención da a conocer conjugados con enlazadores que tienen la estructura:



en donde independientemente en cada caso, R₄ es H o alquilo C₁-C₆; R₅ es H o alquilo C₁-C₆; R₆ es hidroalquilo C₂-C₆; Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W o -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W; AA₁ es glicina, alanina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5; AA₂ es un enlace o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina; AA₃ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina; AA₄ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina; -Q-X-Y es



W es



x está en el intervalo de 1 a 450; y está en el intervalo de 1 a 30; n está en el intervalo de 1 a 50; y el compuesto tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 60 kDa; en donde:

- 5 cuando Z es -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, entonces AA₅ es un enlace, o glicina, valina, tirosina, triptófano, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina o asparagina; y AA₆ es un enlace, o alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5; y

- 10 cuando Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, entonces: AA₅ es un enlace, alanina, cisteína, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, valina o triptófano; y AA₆ es alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5.

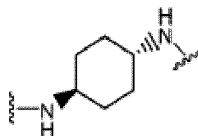
- 15 En determinadas realizaciones, R₄ es alquilo C₁-C₆. En determinadas realizaciones, R₄ es metilo. En determinadas realizaciones, R₅ es alquilo C₁-C₆. En determinadas realizaciones, R₅ es metilo. En determinadas realizaciones, R₆ es 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo o 3-hidroxipropilo. En determinadas realizaciones, R₆ es 2-hidroxipropilo.

En determinadas realizaciones, el compuesto tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 60 kDa. En otras realizaciones, el peso molecular es menos que aproximadamente 45 kDa. En otras realizaciones, el peso molecular es menos que aproximadamente 35 kDa

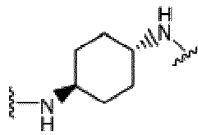
- 20 En determinadas realizaciones, la relación de x a y está en el intervalo de aproximadamente 30:1 a aproximadamente 3:1. En otras realizaciones, la relación de x a y está en el intervalo de aproximadamente 19:2 a aproximadamente 7:2. En determinadas realizaciones, la relación de x a y está en el intervalo de aproximadamente 9:1 a aproximadamente 4:1. En determinadas realizaciones, la relación de x a y es aproximadamente 11:1. En determinadas realizaciones, la relación de x a y es aproximadamente 9:1. En determinadas realizaciones, la relación de x a y es aproximadamente 4:1.

- 25 En determinadas realizaciones, Z es -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W- En determinadas realizaciones, AA₁ es glicina. En determinadas realizaciones, AA₂ es glicina. En determinadas realizaciones, AA₃ es glicina. En determinadas realizaciones, AA₄ es glicina o fenilalanina. En determinadas realizaciones, AA₅ es leucina, fenilalanina, valina o tirosina. En determinadas realizaciones, AA₆ es asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, treonina o tirosina. En determinadas realizaciones, AA₅-AA₆ es Leu-Cit, Leu-Gln, Leu-Gly, Leu-Leu, Leu-Met, Leu-Thr, Phe-Cit, Phe-Gln, Phe-Leu, Phe-Met, Phe-Thr, Val-Asn, Val-Cit, Val-Gln, Val-Leu, Val-Met, Val-Thr, Tyr-Cit, Tyr-Leu o Tyr-Met. En determinadas realizaciones, AA₁, AA₃ y AA₅ son glicina, valina, tirosina, triptófano, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina o asparagina. En determinadas realizaciones, AA₂, AA₄ y AA₆ son glicina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, treonina o tirosina. En determinadas realizaciones, AA₂ es un enlace; y AA₃ es un enlace. En determinadas realizaciones, AA₁ es glicina; AA₄ es fenilalanina; AA₅ es leucina; y AA₆ es glicina.

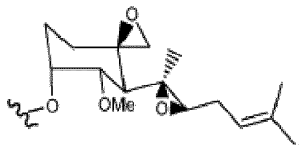
-Q-X-Y- es



- 40 En determinadas realizaciones, R₄ y R₅ son metilo; R₆ es 2-hidroxipropilo; Z es -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W; AA₁ es glicina; AA₂ es un enlace; AA₃ es un enlace; AA₄ es fenilalanina; AA₅ es leucina; AA₆ es glicina; -Q-X-Y- es

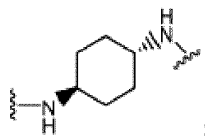


y W es

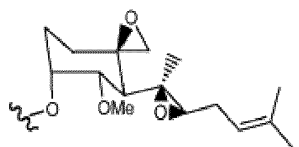


Otro aspecto de la presente invención da a conocer conjugados con enlazadores que tienen la estructura: $H_2N-AA_2-AA_3-AA_4-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$.

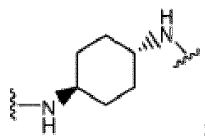
- 5 En determinadas realizaciones, Z es $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA es leucina y AA₆ es glicina; Q-X-Y es



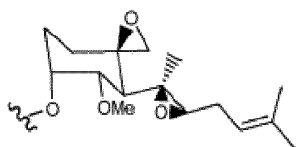
y W es



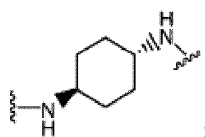
- 10 En determinadas realizaciones, Z es $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA₅ es valina y AA₆ es glicina; Q-X-Y es



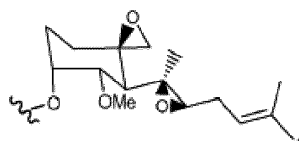
y W es



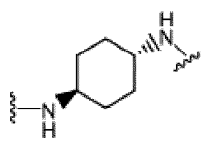
- 15 En determinadas realizaciones, Z es $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA₅ es fenilalanina y AA₆ es glicina; Q-X-Y es



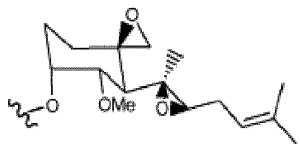
y W es



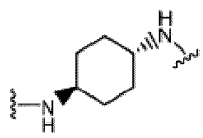
- 20 En determinadas realizaciones, Z es $H_2N-AA_5-AA_6-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W$; AA₅ es glicina y AA₆ es glicina; Q-X-Y es



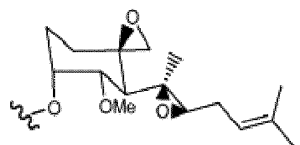
y W es



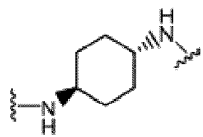
5 En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; AA_5 es leucina y cada uno de AA_3 , AA_4 o AA_6 es glicina; Q-X-Y es



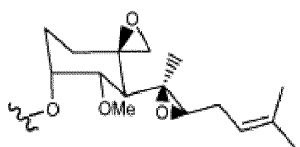
y W es



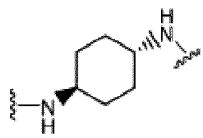
10 En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; AA_5 es valina y cada uno de AA_3 , AA_4 o AA_6 es glicina; Q-X-Y es



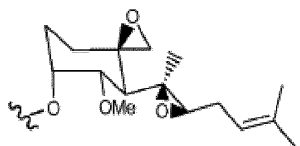
y W es



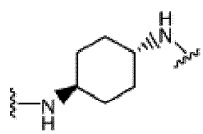
15 En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; AA_5 es fenilalanina y cada uno de AA_3 , AA_4 o AA_6 es glicina; Q-X-Y es



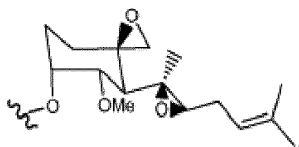
y W es



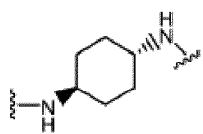
20 En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; AA_3 es glicina, AA_4 es fenilalanina, AA_5 es leucina y AA_6 es glicina; Q-X-Y es



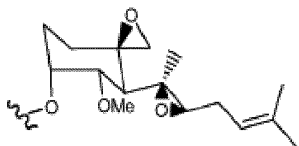
y W es



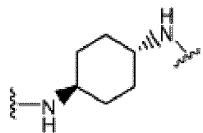
5 En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_3\text{-AA}_4\text{-AA}_5\text{-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; cada uno de AA_3 , AA_4 , AA_5 y AA_6 es glicina; Q-X-Y es



y W es

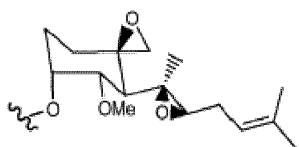


En determinadas realizaciones, Z es $\text{H}_2\text{N-AA}_6\text{-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W}$; AA_6 es glicina; Q-X-Y es

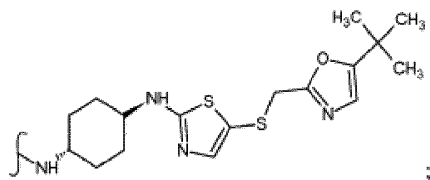


10

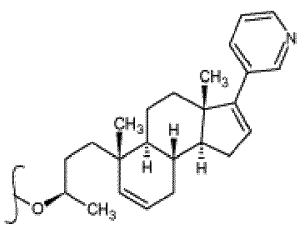
y W es

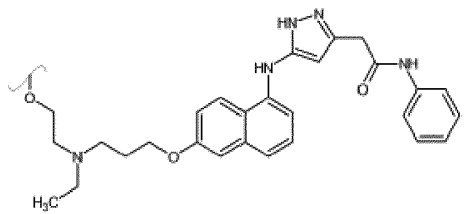


Otros restos activos que se pueden modificar para usar en conjugados (no de conformidad con la presente invención) incluyen las siguientes estructuras:

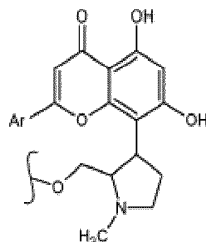


15





y



- 5 En determinadas realizaciones, el resto activo es un compuesto antiobesidad. De acuerdo con la presente invención, el resto activo es una molécula que inhibe metionina aminopeptidasa-2 (MetAP2), tal como fumagilina, fumagillol, o su análogo, derivado, sal o éster, según se define en las reivindicaciones. Otros inhibidores MetAP2 ilustrativos se han descrito en las patentes de EE. UU. núm. 6.242.494 para Craig et al, 6.063.812 para Hong et al., 6.887.863 para Craig et al., 7.030.262 para BaMaung et al., 7.491.718 para Comess et al. Se han descrito inhibidores de MetAP2 ilustrativos adicionales en Wang et al. "Correlation of tumor growth suppression and methionine aminopeptidase-2 activity blockade using an orally active inhibitor," PNAS 105(6) 1838-1843 (2008); Lee et al. "Design, Synthesis, and Antiangiogenic Effects of a Series of Potent Novel Fumagillin Analogues," Chem. Pharm. Bull. 55(7) 1024-1029 (2007); Jeong et al. "Total synthesis and antiangiogenic activity of cyclopentane analogues of fumagillol," Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 15, 3580-3583 (2005); Arico-Muendel et al. "Carbamate Analogues of Fumagillin as Potent, Targeted Inhibitors of Methionine Aminopeptidase-2," J. Med. Chem. 52, 8047-8056 (2009); y la publicación internacional núm. WO 2010/003475 para Heinrich et al.

La fumagilina es una molécula pequeña que se ha utilizado como agente antimicrobiano y antiprotozoario. Se conocen sus propiedades físico-químicas y su método de producción (véanse la patente de EE. UU. núm. 2.803.586 y Turner, J. R. et al., The Stereochemistry of Fumagillin, Proc. Natl. Acad. Sci. 48, 733-735 (1962)). El producto de fermentación, fumagilina, se puede hidrolizar para producir alcohol fumagillol que a su vez se puede convertir en varios derivados, incluido carbamoilfumagillol, MW 325. La síntesis y preparación de carbamoilfumagillol y algunos derivados de moléculas pequeñas se describen en la patente de EE. UU. núm. 5.166.172.

Se cree que la fumagilina y los compuestos relacionados ejercen sus efectos biológicos a través de la inhibición de MetAP2. Esta enzima elimina la metionina N-terminal de las proteínas celulares incipientes. (véase Tucker, L.A., et al. "Ectopic Expression of Methionine Aminopeptidase-2 Causes Cell Transformation and Stimulates Proliferation", Oncogene 27, 3967 (2008).)

El carbamoilfumagillol y los derivados, así como también otros inhibidores de MetAP2, han demostrado beneficios terapéuticos en estudios preclínicos y clínicos. Estos compuestos inhiben la proliferación celular y la angiogénesis, como se describe en la patente de EE. UU. núm. 5.166.172. Los análogos o derivados de fumagilina, como CKD-732 y PI-2458, se estudiaron bien en diversos sistemas que se describen en detalle en Bernier et al., "Fumagillin class inhibitors of methionine aminopeptidase-2" Drugs of the Future 30(5): 497-508, 2005.

Se conocen los efectos antiobesidad de la fumagilina y sus análogos. Rupnick et al. "Adipose tissue mass can be regulated through the vasculature" PNAS 99, 10730-10735, 2002 describe la pérdida de peso en ratones ob/ob con dosis diarias de TNP-470 que oscilan entre 2,5 mg/kg y 10 mg/kg. Brakenhielm describe la prevención de la obesidad en dosis de TNP-470 de 15 o 20 mg/kg día por medio, "The Angiogenesis Inhibitor, TNP-470, Prevents Diet-Induced and Genetic Obesity in Mice" Circulation Research 94: 1579-1588, 2004. Kim, et al., en "Assessment of the anti-obesity effects of the TNP-470 analog, CKD-732" J Molecular Endocrinology 38, 455-465, 2007 describe el adelgazamiento en ratones C57BL/6J y ratas SD con dosis de 5 mg/kg/día. Lijnen et al. "Fumagillin reduces adipose tissue formation in murine models of nutritionally induced obesity" Obesity 12, 2241-2246, 2010 describe la administración oral de 1 mg/kg de fumagilina diaria que resulta en adelgazamiento en ratones C57BL/6.

Uno de estos derivados, cloroacetilcarbamoilfumagillol (TNP-470), se ha estudiado ampliamente. (Véase, H. Mann-Steinberg, et al., "TNP-470: The Resurrection of the First Synthetic Angiogenesis Inhibitor", Capítulo 35 en Folkman and Figg, Angiogenesis: An Integrative Approach from Science to Medicine, Springer NY (2008).) TNP-470 ha demostrado actividad contra muchos tipos de cáncer, entre ellos cáncer de pulmón, cáncer cervicouterino, cáncer de

ovario, cáncer de mama y cáncer de colon. Debido a la neurotoxicidad limitativa de la dosis, TNP-470 se ha ensayado usando múltiples esquemas de administración, pero estos intentos de limitar su toxicidad no han sido exitosos. Por lo tanto, se descubrió que el TNP-470 es demasiado tóxico para uso en seres humanos. El TNP-470 tiene corta semivida y requiere la administración intravenosa extendida para uso terapéutico. Un metabolito de TNP-470, carbamoilfumagillol, tiene una semivida de 12 minutos en el hombre. (Véanse, Herbst et al., "Safety and Pharmacokinetic Effects of TNP-470, an Angiogenesis Inhibitor, Combined with Paclitaxel in Patients with Solid Tumors: Evidence for Activity in Non-Small-Cell Lung Cancer", *Journal of Clinical Oncology* 20(22) 4440-4447 (2002). Además, la fumagilina y sus derivados son hidrófobos y difíciles de formular.

A pesar de la utilidad conocida de los derivados de fumagilina, no se han utilizado exitosamente como tratamientos debido a la imposibilidad de superar los problemas de la baja solubilidad en agua, corta semivida y efectos colaterales neurotóxicos de estos compuestos. Se determinó que TNP-470 en combinación con paclitaxel tiene una DMT de 60 mg/m² dosificado tres veces por semana en base a las toxicidades neuropsiquiátricas limitativas de la dosis previamente observadas Herbst et al., "Safety and pharmacokinetic effects of TNP-470, an angiogenesis inhibitor, combined with paclitaxel in patients with solid tumors: evidence for activity in non-small-cell lung Cancer" *Journal of Clinical Oncology* 20, 4440-4447, 2002. De manera similar, Shin et al. "A Phase 1 pharmacokinetic and pharmacodynamics study of CKD-732, an antiangiogenic agent, in patients with refractory solid cancer" *Investigational New Drugs* 28, 650-658, 2010 describe que la DMT de CKD-732 fue 15 mg/m²/día administrados en un esquema cada cuatro días debido a confusión e insomnio. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención son más potentes, exhiben toxicidad reducida (menos neurotoxicidad), mejor solubilidad en agua, semivida más estable y/o más prolongada (semivida en suero) que los derivados de fumagilina actualmente conocidos.

La frase "toxicidad reducida", tal como se emplea en la presente memoria, tiene el significado habitual que entienden los expertos en la técnica. Simplemente a modo de ejemplo, y en absoluto como limitación sobre el significado del término, la administración del conjugado del análogo de fumagilina causa menos efectos colaterales en ensayos de campo abierto con ratones, en comparación con el análogo de fumagilina solo.

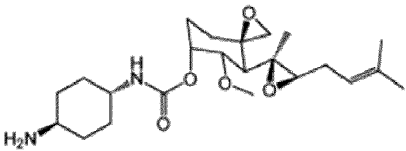
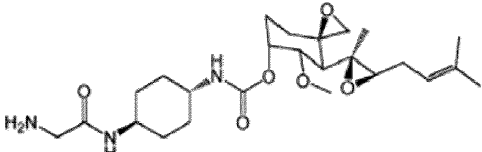
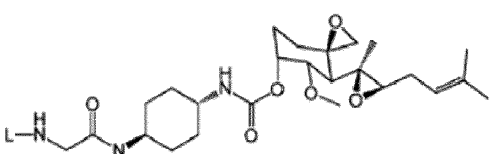
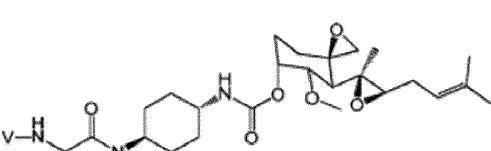
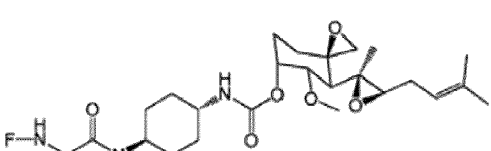
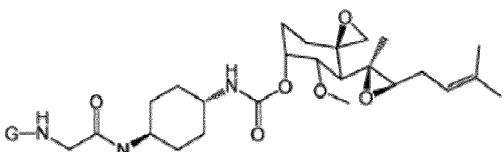
La frase "solubilidad en agua mejorada" tiene el significado habitual que entienden las personas con experiencia en la técnica. Simplemente a modo de ejemplo, y de ningún modo como limitación del significado del término, la siguiente descripción del término es informativa: una cantidad aumentada de un análogo de fumagilina se disolverá en agua como consecuencia de su incorporación covalente en un conjugado en comparación con la cantidad del análogo de fumagilina no conjugado que se disolverá en agua sola.

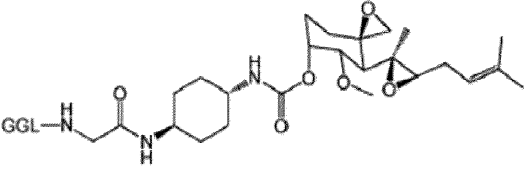
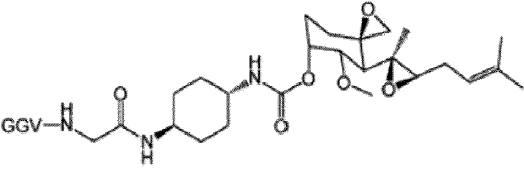
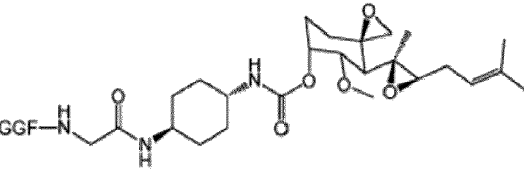
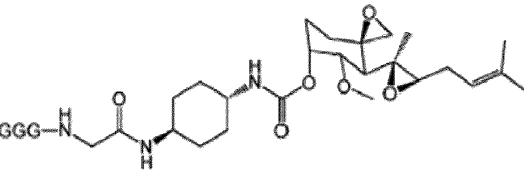
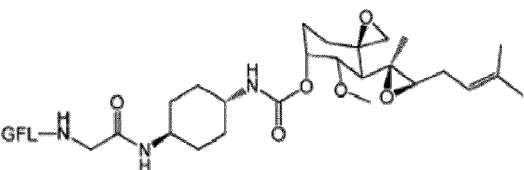
La frase "semivida más prolongada" tiene el significado habitual que entienden las personas con experiencia en la técnica. Simplemente a modo de ejemplo y de ningún modo como limitación del significado del término, la siguiente descripción del término es informativa: cualquier incremento apreciable en la longitud de tiempo requerido para desactivar el conjugado de fumagilina o bien *in vivo* o *in vitro* en comparación con la semivida del análogo de fumagilina solo o bien *in vivo* o *in vitro*.

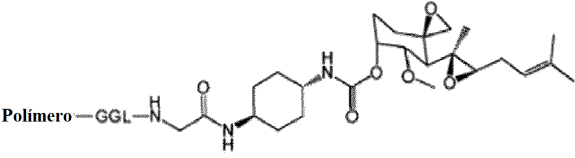
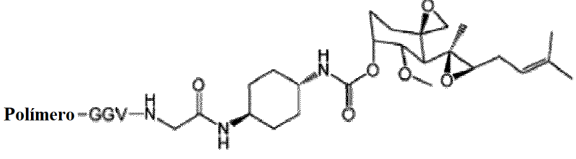
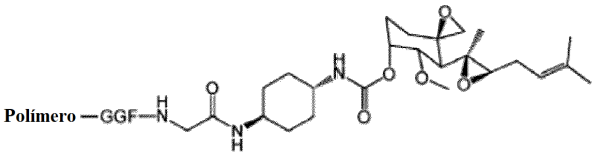
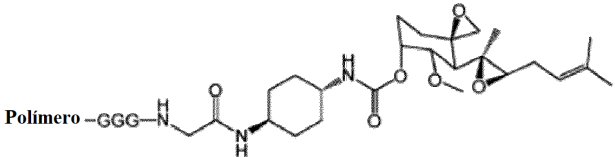
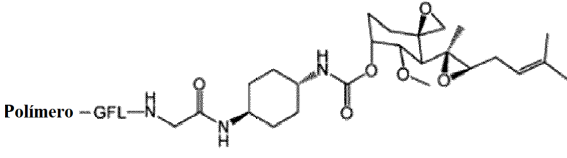
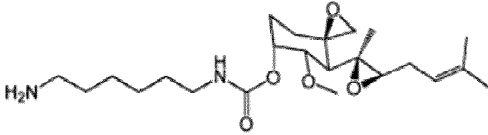
Sin influencias de ninguna teoría, las acciones no enzimáticas de MetAP2 para suprimir la actividad de las cinasas 1 y 2 reguladas por las señales extracelulares (ERK1/2) pueden ser importantes tal como puede ser la unión del factor de inicio eucariota, eIF, por MetAP2. Las respuestas celulares a la inhibición de MetAP2 reflectiva de los procesos relacionados con ERK potencial pueden incluir la supresión de la actividad de la proteína de unión al elemento regulador de esterol (SREBP), provocando la reducción de la biosíntesis de lípidos y colesterol. Cabe destacar que los cambios en los patrones de expresión de genes de tejido hepático y adiposo después de la exposición prolongada (aproximadamente 9 meses) a fumagilina sugieren que la inhibición de MetAP2 también puede alterar la abundancia relativa de factores implicados en la inflamación, coincidente con la reducción de los procesos celulares dependientes de ERK. El mecanismo putativo de inhibición de MetAP2 que conduce a la movilización de depósito adiposo y catabolismo de ácidos grasos libres como fuente de energía por el cuerpo es respaldado por cambios en β -hidroxibutirato plasmático, adiponectina, leptina y FGF21 observados en estudios previos. La elevación en los niveles de hormonas catabólicas clave adiponectina y FGF21, acoplados con la aparición de cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato), sugiere la inhibición de MetAP2 con la fumagilina conjugada o modificada, fumagillol, o su análogo, derivado, sal o éster. Los compuestos de la presente invención estimulan el gasto de energía, la utilización de grasas y la excreción de lípidos. La reducción de leptina observada en estudios previos y en los estudios provistos en este documento es coherente con una reducción en el tejido adiposo total y en el balance de energía negativa. Es también posible que la fumagilina conjugada o modificada, el fumagillol, o su análogo, derivado, sal o éster, formen un enlace covalente con MetAP2, inhibiendo así de manera irreversible y silenciando la enzima existente hasta que se genera una combinación recién producida de MetAP2 en los tejidos diana (p. ej., tejido hepático y adiposo).

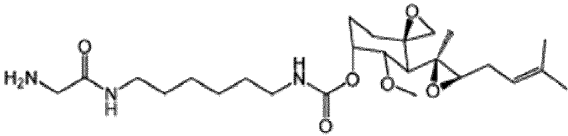
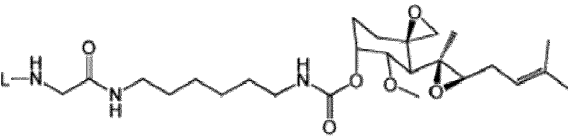
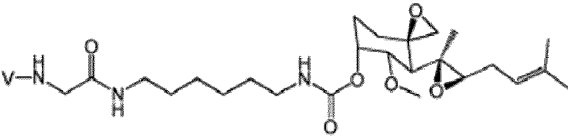
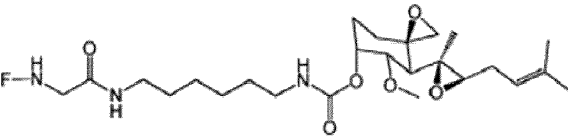
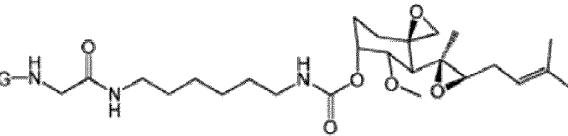
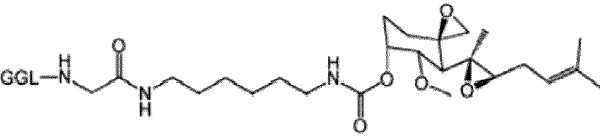
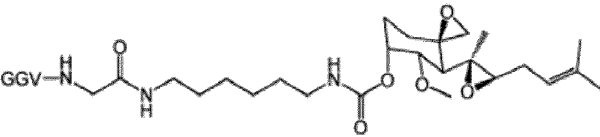
En determinadas realizaciones, la fumagilina conjugada o modificada, el fumagillol, su análogo, derivado, sal o éster tienen la siguiente fórmula como se muestra en la Tabla 1:

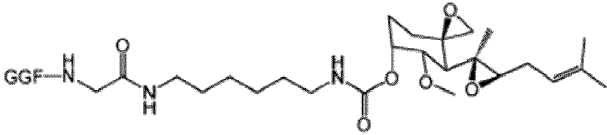
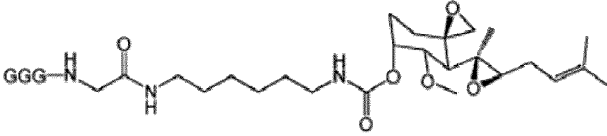
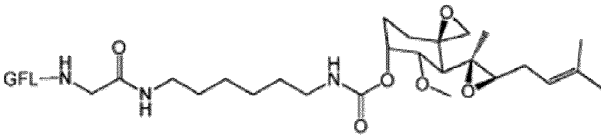
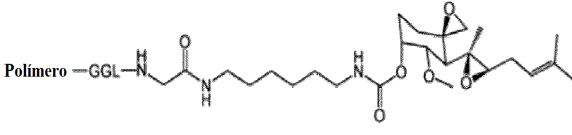
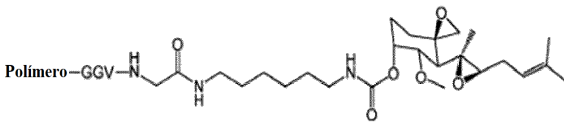
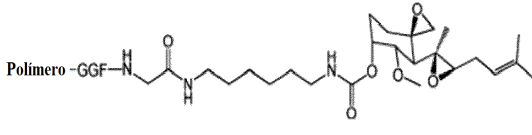
Tabla 1

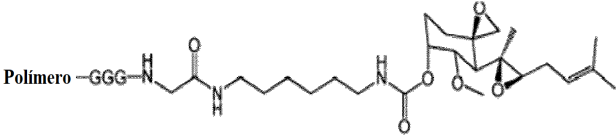
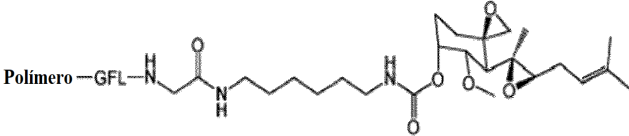
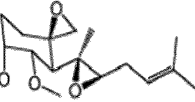
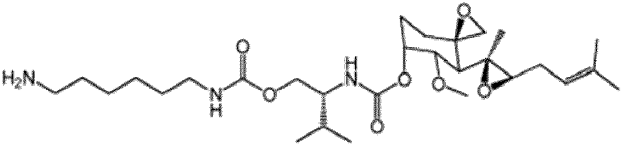
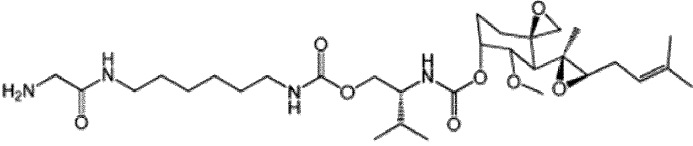
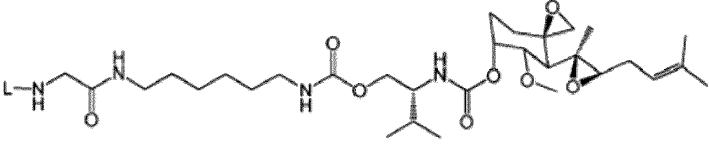
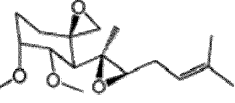
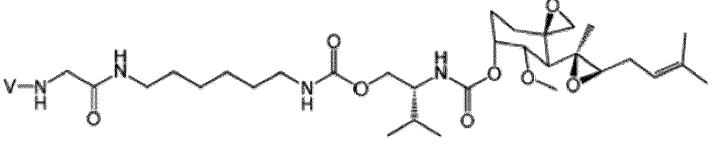
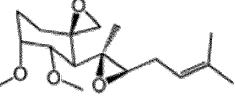
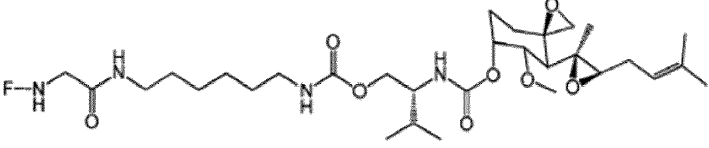
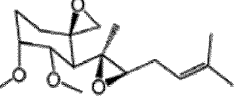
Compuesto núm.	Estructura química
1	
2	
3	
4	
5	
6	

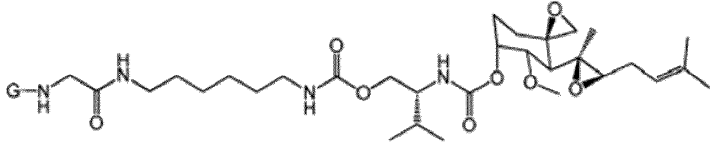
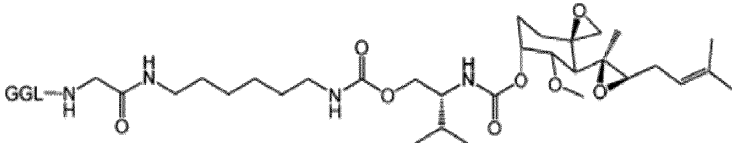
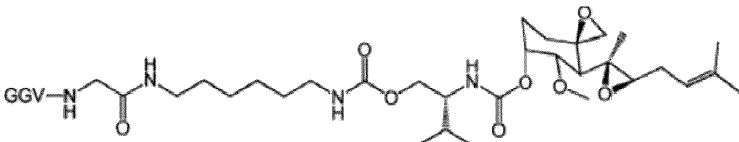
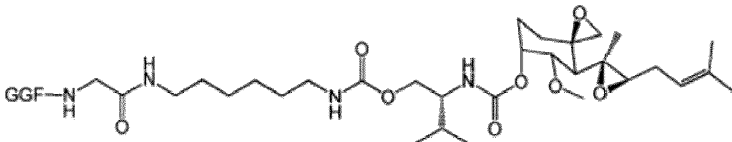
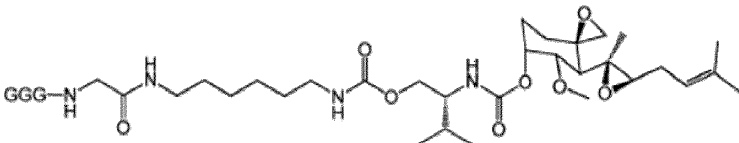
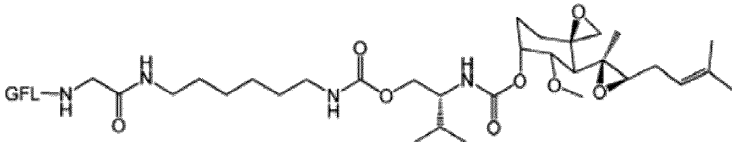
Compuesto núm.	Estructura química
7	
8	
9	
10	
11	

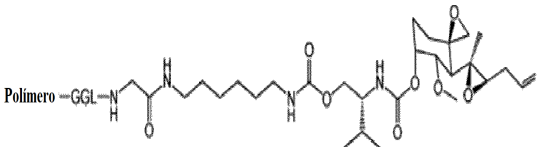
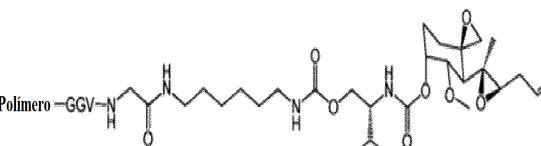
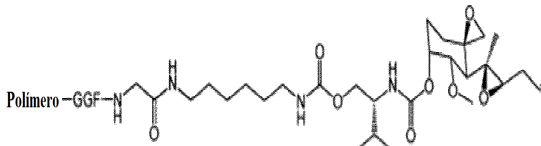
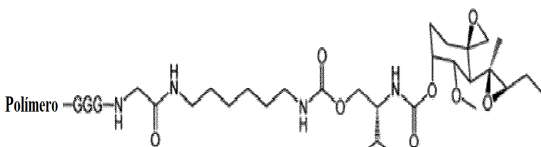
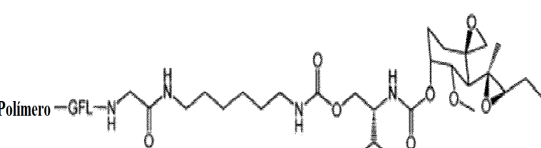
Compuesto núm.	Estructura química
12	 Polímero-GGL-NH-CH₂-C(=O)-NH-Cyclohexyl-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl
13	 Polímero-GGV-NH-CH₂-C(=O)-NH-Cyclohexyl-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl
14	 Polímero-GGF-NH-CH₂-C(=O)-NH-Cyclohexyl-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl
15	 Polímero-GGG-NH-CH₂-C(=O)-NH-Cyclohexyl-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl
16	 Polímero-GFL-NH-CH₂-C(=O)-NH-Cyclohexyl-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl
17	 H₂N-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-epoxide-allyl

Compuesto núm.	Estructura química
18	
19	
20	
21	
22	
23	
24	

Compuesto núm.	Estructura química
25	
26	
27	
28	
29	
30	

Compuesto núm.	Estructura química
31	 Polímero-GGG-NH-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
32	 Polímero-GFL-NH-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
33	 H₂N-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
34	 H₂N-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
35	 L-NH-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
36	 V-NH-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-
37	 F-NH-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-

Compuesto núm.	Estructura química
38	
39	
40	
41	
42	
43	

Compuesto núm.	Estructura química
44	 Chemical structure of compound 44: Polímero-GGL-NH-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-CH₂-CH(CH₃)-C(=O)-NH-C(=O)-O-Ad-CH₂-CH=CH₂. The Ad group is a bicyclic acetal derivative.
45	 Chemical structure of compound 45: Polímero-GGV-NH-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-CH₂-CH(CH₃)-C(=O)-NH-C(=O)-O-Ad-CH₂-CH=CH₂. The Ad group is a bicyclic acetal derivative.
46	 Chemical structure of compound 46: Polímero-GGF-NH-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-CH₂-CH(CH₃)-C(=O)-NH-C(=O)-O-Ad-CH₂-CH=CH₂. The Ad group is a bicyclic acetal derivative.
47	 Chemical structure of compound 47: Polímero-GGG-NH-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-CH₂-CH(CH₃)-C(=O)-NH-C(=O)-O-Ad-CH₂-CH=CH₂. The Ad group is a bicyclic acetal derivative.
48	 Chemical structure of compound 48: Polímero-GFL-NH-CH₂-C(=O)-NH-(CH₂)₆-NH-C(=O)-O-CH₂-CH(CH₃)-C(=O)-NH-C(=O)-O-Ad-CH₂-CH=CH₂. The Ad group is a bicyclic acetal derivative.

Compuesto núm.	Estructura química
49	
* en donde el Polímero tiene la estructura de:	
y preferiblemente la estructura de:	

Y en donde los Compuestos núm. 1-16 son de conformidad con la presente invención.

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 67^a Ed., 1986-87, portada interior.

- 5 El término "alquilo" se refiere a un radical de cadena de carbono ramificada o no ramificada totalmente saturado que tiene el número de átomos de carbono especificado, o hasta 30 átomos de carbono si no se especifica. Por ejemplo, un "alquilo inferior" se refiere a un alquilo que tiene entre 1 y 10 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo y octilo, y aquellos que son isómeros de posición de estos alquilos. 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 determinadas realizaciones, un alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada tiene 30 o menos átomos de carbono en su esqueleto (p. ej., C₁-C₃₀ para cadenas lineales, C₃-C₃₀ para cadenas ramificadas), y más preferiblemente 20 o menos. Asimismo, ciertos cicloalquilos tienen 3-10 átomos de carbono en su estructura anular, y pueden tener 5, 6, o 7 carbonos en la estructura anular.
- 10
- 15 A menos que el número de carbonos se especifique de otra manera, "alquilo inferior", tal como se emplea en esta memoria, significa un grupo alquilo, como se definió anteriormente, pero que tiene entre uno y diez carbonos, o entre uno y seis átomos de carbono en su esqueleto, tal como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo y terc-butilo. Asimismo, "alqueno inferior" y "alquino inferior" tienen longitudes de cadena similares. En toda la solicitud, ciertos grupos alquilo son alquilos inferiores. En determinadas realizaciones, un sustituyente designado en este documento como alquilo es alquilo inferior.
- 20

El término "carbociclo", tal como se emplea en este documento, se refiere a un anillo aromático o no aromático en el que cada átomo del anillo es carbono.

- El término "arilo", tal como se emplea en este documento, incluye grupos aromáticos de un solo anillo de 5, 6 y 7 miembros que pueden incluir cero a cuatro heteroátomos, por ejemplo, benceno, pirrol, furano, tiofeno, imidazol, oxazol, tiazol, triazol, pirazol, piridina, pirazina, piridazina y pirimidina, y similares. Aquellos grupos arilo que tienen
- 25

heteroátomos en la estructura anular también se pueden denominar "aril heterociclos" o "heteroaromáticos". El anillo aromático se puede sustituir en una o más posiciones con dichos sustituyentes anteriormente descritos, por ejemplo, halógeno, azida, alquilo, aralquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, hidroxilo, alcoxi, amino, nitro, sulfhidrilo, imino, amido, fosfonato, fosfinato, carbonilo, carboxilo, sililo, éter, alquiltio, sulfonilo, sulfonamido, cetona, aldehído, éster, heterociclilo, restos aromáticos o heteroaromáticos, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ o similares. El término "arilo" también incluye sistemas de anillos policíclicos que tienen dos o más anillos cíclicos en donde dos o más carbonos son comunes a dos anillos contiguos (los anillos son "anillos condensados") en donde por lo menos uno de los anillos es aromático, p. ej., los otros anillos cíclicos pueden ser cicloalquilos, cicloalquenos, cicloalquinos, arilos y/o heterociclos.

"Alquenilo" se refiere a cualquier radical de cadena de carbono ramificada o no ramificada insaturada que tiene el número de átomos de carbono especificado, o hasta 26 átomos de carbono si no se especifica una limitación sobre el número de átomos de carbono; y que tiene 1 o más dobles enlaces en el radical. Alquenilo de 6 a 26 átomos de carbono se ejemplifica mediante hexenilo, heptenilo, octenilo, nonenilo, decenilo, undecenilo, dodecilo, tridecenilo, tetradecenilo, pentadecenilo, hexadecenilo, heptadecenilo, octadecenilo, nonadecenilo, eicosenilo, heneicosenilo, docosenilo, tricosenilo y tetracosenilo, en sus diversas formas isoméricas, en donde el enlace(s) insaturado se puede localizar en cualquier parte en el radical y puede tener la configuración (Z) o (E) alrededor del doble enlace(s).

El término "alquinilo" se refiere a radicales hidrocarbilo del alcance de alquenilo, pero que tienen uno o más triples enlaces en el radical.

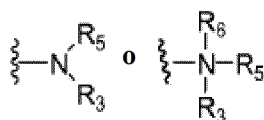
Los términos "alcoxilo" o "alcoxi", tal como se usan en el presente documento, se refieren a un grupo alquilo, como se define a continuación, que tiene un radical oxígeno adjunto. Los grupos alcoxi representativos incluyen metoxi, etoxi, propoxi, terc-butoxi y similares. Un "éter" consiste en dos hidrocarburos covalentemente enlazados por un oxígeno. Por consiguiente, el sustituyente de un alquilo que convierte ese alquilo en un éter es o se asemeja a un alcoxilo, tal como se puede representar con uno de $-\text{O}$ -alquilo, $-\text{O}$ -alquenilo, $-\text{O}$ -alquinilo, $-\text{O}-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$, en donde m y R_1 se describen a continuación.

El término "heterociclilo" o la expresión "grupo heterocíclico" se refiere a estructuras anulares de 3 a 10 miembros, más preferiblemente anillos de 3 a 7 miembros, en donde las estructuras anulares incluyen uno a cuatro heteroátomos. Los heterociclos pueden también ser policiclos. Los grupos heterociclilo incluyen, por ejemplo, tiofeno, tiantreno, furano, pirano, isobenzofurano, cromeno, xanteno, fenoxatina, pirrol, imidazol, pirazol, isotiazol, isoxazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazina, naftiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, pirimidina, fenantrolina, fenazina, fenarsazina, fenotiazina, furazán, fenoxazina, pirrolidina, oxolano, tiolano, oxazol, piperidina, piperazina, morfolina, lactonas, lactamas tales como azetidionas y pirrolidinonas, sultamas, sultonas y similares. El anillo heterocíclico se puede sustituir en una o más posiciones con dichos sustituyentes anteriormente descritos, 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 heterociclilo, un resto aromático o heteroaromático, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ o similares.

El término "alquiltio" se refiere a un grupo alquilo, como se definió anteriormente, que tiene un radical azufre acoplado. En determinadas realizaciones, el resto "alquiltio" se representa mediante uno de $-(\text{S})$ -alquilo, $-(\text{S})$ -alquenilo, $-(\text{S})$ -alquinilo y $-(\text{S})-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$, en donde m y R_1 son como se define a continuación. Los grupos alquilo representativos incluyen metiltio, etiltio y similares.

Tal como se emplea en este documento, el término "nitro" significa $-\text{NO}_2$; el término "halógeno" designa F, Cl, Br o I; el término "sulfhidrilo" significa $-\text{SH}$; el término "hidroxilo" significa $-\text{OH}$; y el término "sulfonilo" significa $-\text{SO}_2-$.

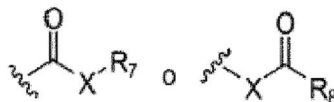
Los términos "amina" y "amino" son reconocidos en la técnica y se refieren a aminas insustituidas y sustituidas, p. ej., un resto que se puede representar con las fórmulas generales:



en donde R_3 , R_5 y R_6 representan cada uno en forma independiente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo, $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$, o R_3 y R_5 tomados junto con el átomo N al que están unidos completan un heterociclo que tiene entre 4 y 8 átomos en la estructura anular; R_1 representa un alquenilo, arilo, cicloalquilo, un cicloalquenilo, un heterociclilo o un policiclilo; y m es cero o un número entero en el intervalo de 1 a 8. En determinadas realizaciones, solamente uno de R_3 o R_5 puede ser un carbonilo, p. ej., R_3 , R_5 y el nitrógeno juntos no forman una amida. En determinadas realizaciones, R_3 y R_5 (y opcionalmente R_6) representan cada uno en forma independiente un hidrógeno, un alquilo, un alquenilo o $-(\text{CH}_2)_m-\text{R}_1$. Por lo tanto, el término "alquilamina", tal como se emplea en este documento, significa un grupo amina, como se definió anteriormente, que tiene un alquilo sustituido o insustituido acoplado, es decir por lo menos uno de

R₃ y R₅ es un grupo alquilo. En determinadas realizaciones, un grupo amino o una alquilamina es básica, lo que significa que tiene un pK_a ≥ 7,00. Las formas protonadas de estos grupos funcionales tienen pK_a relativos al agua encima de 7,00.

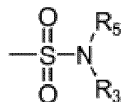
El término "carbonilo" (C(O)) es reconocido en la técnica e incluye dichos restos que se pueden representar con las fórmula general:



en donde 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, en donde m y R₁ son como se definieron anteriormente. Si X es un oxígeno y R₇ o R₈ no es hidrógeno, la fórmula representa un "éster". Si X es un oxígeno, y R₇ es como se definió anteriormente, se hace referencia al resto en este documento como un grupo carboxilo, y particularmente cuando R₇ es un hidrógeno, la fórmula representa un "ácido carboxílico". Si X es un oxígeno, y R₈ es hidrógeno, la fórmula representa un "formiato". En general, si el átomo de oxígeno de la fórmula anterior se reemplaza por azufre, la fórmula representa un grupo "tiocarbonilo". Si X es un azufre y R₇ o R₈ no es hidrógeno, la fórmula representa un grupo "tioéster". Si X es un azufre y R₇ es hidrógeno, la fórmula representa un grupo "ácido tiocarboxílico". Si X es un azufre y R₈ es hidrógeno, la fórmula representa un grupo "tioformiato". Por otra parte, si X es un enlace, y R₇ no es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "cetona". Si X es un enlace, y R₇ es hidrógeno, la fórmula anterior representa un grupo "aldehído".

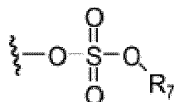
Tal como se emplea en este documento, se contempla que el término "sustituido" incluye todos los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. En un aspecto amplio, los sustituyentes permisibles incluyen sustituyentes de compuestos orgánicos acíclicos y cíclicos, ramificados y no ramificados, carbocíclicos y heterocíclicos, aromáticos y no aromáticos. Los sustituyentes ilustrativos incluyen, por ejemplo, aquellos descritos anteriormente en el presente documento. Los sustituyentes permisibles pueden ser uno o más y los mismos o diferentes compuestos orgánicos apropiados. Para los fines de la presente invención, los heteroátomos tales como nitrógeno pueden tener sustituyentes hidrógeno y/o cualquier sustituyente permisible de compuestos orgánicos descritos en este documento que satisfacen las valencias de los heteroátomos. Esta invención no tiene como fin estar limitada en modo alguno por los sustituyentes permisibles de compuestos orgánicos. Se ha de entender que "sustitución" o "sustituido con" incluye la salvedad implícita de que dicha sustitución es de conformidad con la valencia permitida del átomo sustituido y el sustituyente, y que la sustitución resulta en un compuesto estable, p. ej., que no se somete espontáneamente a transformación tal como por reordenamiento, ciclización, eliminación, etc.

El término "sulfamilo" es reconocido en la técnica e incluye un resto que se puede representar por la fórmula general:



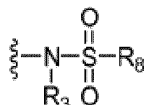
en donde R₃ y R₅ son como se definieron anteriormente.

El término "sulfato" es reconocido en la técnica e incluye un resto que se puede representar con la fórmula general:



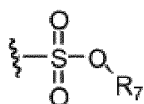
en donde R₇ es como se definió anteriormente.

El término "sulfamido" es reconocido en la técnica e incluye un resto que se puede representar con la fórmula general:



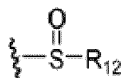
en donde R₂ y R₄ son como se definieron anteriormente.

El término "sulfonato" es reconocido en la técnica e incluye un resto que se puede representar mediante la fórmula general:



en donde R₇ es un par de electrones, hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o arilo.

Los términos "sulfóxido" o "sulfinilo", tal como se emplean en este documento, se refieren a un resto que se puede representar con la fórmula general:



en donde R₁₂ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, heterociclilo, aralquilo o arilo.

Se pueden realizar sustituciones análogas para grupos alquenilo y alquinilo para producir, por ejemplo, aminoalquenilo, aminoalquinilo, amidoalquenilos, amidoalquinilos, iminoalquenilos, iminoalquinilos, tioalquenilos, tioalquinilos, alquenilos o alquinilos sustituidos con carbonilo.

Tal como se emplea en este documento, la definición de cada expresión, p. ej., alquilo, m, n, etc., cuando ocurre más de una vez en cualquier estructura, tiene como fin ser independiente de su definición en cualquier otra parte en la misma estructura.

El término "aminoácido" tiene como fin abarcar todos los compuestos, o bien naturales o sintéticos, que incluyen una funcionalidad amino y una funcionalidad ácida, incluidos análogos de aminoácidos y derivados. En determinadas realizaciones, los aminoácidos contemplados en la presente invención son aquellos aminoácidos que ocurren naturalmente hallados en proteínas, o los productos anabólicos o catabólicos que ocurren naturalmente de dichos aminoácidos, que contienen grupos amino y carboxilo. Los aminoácidos que ocurren naturalmente se identifican mediante las abreviaturas convencionales de tres letras y/o una letra, correspondientes al nombre trivial del aminoácido, de conformidad con la siguiente lista. Las abreviaturas se aceptan en la técnica de péptidos y son recomendadas por la comisión IUPAC-IUB en la nomenclatura bioquímica.

Por la expresión "residuo de aminoácido" se entiende un aminoácido. En general, las abreviaturas utilizadas en este documento para designar a los aminoácidos que ocurren naturalmente se basan en las recomendaciones de IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (véase Biochemistry (1972) 11:1726-1732). Por ejemplo, Met, Ile, Leu, Ala y Gly representan "residuos" de metionina, isoleucina, leucina, alanina y glicina, respectivamente. Por residuo se entiende un radical derivado del correspondiente α-aminoácido eliminando la porción OH del grupo carboxilo y la porción H del grupo α-amino.

La expresión "cadena lateral de aminoácido" es la parte de un residuo de aminoácido exclusiva del esqueleto, según lo define K. D. Kopple, "Peptides and Amino Acids", W. A. Benjamin Inc., Nueva York y Ámsterdam, 1966, páginas 2 y 33; los ejemplos de dichas cadenas laterales de los aminoácidos comunes son -CH₂CH₂SCH₃ (la cadena lateral de metionina), -CH₂(CH₃)-CH₂CH₃ (la cadena lateral de isoleucina), -CH₂CH(CH₃)₂ (la cadena lateral de leucina) o H- (la cadena lateral de glicina). Estas cadenas laterales son colgantes del esqueleto carbono Cα.

El término "péptido", tal como se emplea en este documento, se refiere a una secuencia de residuos de aminoácidos enlazados entre sí por enlaces peptídicos o por enlaces peptídicos modificados. El término "péptido" tiene como fin 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 de péptidos expuestas en este documento se escriben de acuerdo con la convención generalmente aceptada en donde el aminoácido N-terminal está a la izquierda y el aminoácido C-terminal está a la derecha (p. ej., H₂N-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-CO₂H).

Ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas estereoisoméricas geométricas o racémicas particulares. La presente invención contempla todos esos compuestos, incluidos los isómeros cis y trans, los enantiómeros R y S, diastereómeros, isómeros (D), isómeros (L), sus mezclas racémicas y otras mezclas de estas, como dentro del alcance de la invención. Pueden estar presentes átomos de carbono asimétricos adicionales en un sustituyente tal como un grupo alquilo. Todos esos isómeros, además de sus mezclas, tienen como fin estar incluidos en la presente invención. Cualquier representación de un isómero particular es únicamente ilustrativa (p. ej., la ejemplificación de un isómero trans, también abarca un isómero cis).

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, en donde la mezcla diastereomérica resultante se separa y el grupo auxiliar se escinde para proporcionar el enantiómero deseado puro. Alternativamente, si la molécula contiene un grupo funcional básico, tal como amino, o un grupo funcional ácido, tal como carboxilo, las sales diastereoméricas se forman con un ácido o base ópticamente adecuado, seguido de resolución de los diastereómeros así formados con cristalización fraccionada o medios cromatográficos conocidos en la técnica, y posteriormente recuperación del enantiómero puro. Síntesis de los Compuestos de la invención

Los procedimientos sintéticos de los compuestos de la invención pueden tolerar una amplia variedad de grupos funcionales; por lo tanto se pueden usar varios materiales de partida sustituidos. Los procedimientos en general proporcionan el compuesto final deseado en el final o prácticamente en el final de todo el procedimiento, aunque puede ser conveniente en ciertos casos convertir además el compuesto a una sal, éster o profármaco farmacéuticamente aceptable de éste.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar en una diversidad de formas que usan materiales de partida disponibles en el mercado, compuestos conocidos en la bibliografía, o a partir de intermedios fácilmente preparados, empleando métodos y procedimientos sintéticos estándar, o bien conocidos por los expertos en la técnica o que serán obvios para los expertos en la técnica en función de las descripciones del presente documento. Los métodos y procedimientos sintéticos estándar para la preparación de moléculas orgánicas y transformaciones de grupos funcionales y manipulaciones se pueden obtener de la bibliografía científica relevante o de libros de texto estándar en el campo. Si bien no se limitan a una ni a varias fuentes, los textos clásicos tales como Smith, M. B., March, J., March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 200; y Greene, T.W., Wuts, P.G. M., Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons: Nueva York, 1999, son libros de texto de referencia útiles y reconocidos de síntesis orgánica conocidos por los expertos en la materia. Las siguientes descripciones de métodos sintéticos están diseñadas para ilustrar, pero no limitar, los procedimientos generales para la preparación de los compuestos de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente por una diversidad de métodos familiares para aquellos con experiencia en la técnica. Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con los esquemas y ejemplos que se dan a conocer en este documento a partir de materiales de partida comercialmente disponibles o de materiales de partida que se pueden preparar usando procedimientos de la bibliografía. Los compuestos de la presente invención, y su síntesis, se describen también en las publicaciones PCT núm. WO 2011/150088 y WO 2011/150022.

Composiciones farmacéuticas

La presente invención también da a conocer composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Tal como se emplean en este documento, "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "vehículo farmacéuticamente aceptable" tienen como fin incluir todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de demora de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Los vehículos adecuados se describen en la edición más reciente de Remington's Pharmaceutical Sciences, un texto de referencia estándar en el campo. Los ejemplos preferidos de dichos vehículos o diluyentes incluyen, aunque sin limitarse a ello, agua, disolución salina, disolución de Ringer, disolución de dextrosa y albúmina de suero humana al 5%.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen vehículos sólidos tales como lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Los vehículos líquidos ilustrativos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua y similares. De forma similar, el vehículo o diluyente puede incluir un material de demora conocido en la técnica, como gliceril monoestearato o gliceril diestearato, solo o con una cera, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metilmetacrilato o similares. Otras cargas, excipientes, saporíferos y otros aditivos que se conocen en la técnica pueden también incluirse en una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención. También se pueden usar liposomas y vehículos no acuosos tales como aceites no volátiles. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas se conoce en la técnica. Excepto en la medida que algún medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se contempla su uso en las composiciones. También se pueden incorporar a las composiciones compuestos activos complementarios. En determinadas realizaciones, la composición farmacéutica comprende DMSO.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales de adición ácidas orgánicas e inorgánicas relativamente no tóxicas del compuesto(s). Estas sales se puede preparar *in situ* durante el aislamiento final y la purificación del compuesto(s), o sometiendo a reacción por separado un compuesto(s) purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales de hidrobromuro, hidrocloreuro, sulfato, bisulfato, fosfato, nitrato, acetato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, benzoato, lactato, fosfato, tosilo, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. Las sales alcalinas o alcalino-térreas incluyen las sales de litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, y similares. Las aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básicas incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y similares (véase, por ejemplo, Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19).

La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en este documento para hacer referencia a aquellos ligandos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del criterio médico, seguros para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales, sustancialmente no pirogénicos, sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica ni otros problemas o complicaciones, con una relación razonable riesgo/beneficio.

Tal como se emplea en esta memoria, el término "metabolito" significa un producto de metabolismo del compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables, que exhibe una actividad similar *in vivo* al compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables.

- 5 Tal como se emplea en esta memoria, el término "profármaco" significa el compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables covalentemente enlazados a uno o más restos pro, tal como un resto de aminoácido u otro resto solubilizante en agua. El compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables se pueden liberar del resto pro mediante mecanismos de liberación hidrolítica, oxidativa y/o enzimática. En una realización, una composición del profármaco de la presente descripción exhibe el beneficio adicional de solubilidad acuosa aumentada, estabilidad mejorada y perfiles de farmacocinética mejorados. El resto pro se puede seleccionar para obtener las características del profármaco deseadas. Por ejemplo, el resto pro, p. ej., un resto de aminoácido u otro resto solubilizante en agua tal como fosfato dentro de R4, se puede seleccionar en base a la solubilidad, estabilidad, biodisponibilidad y/o administración o absorción *in vivo*. Los ejemplos de profármacos incluyen, aunque sin limitarse a ello, ésteres (p. ej., acetato, dialquilaminoacetatos, formiatos, fosfatos, sulfatos y derivados de benzoato) y carbamatos (p. ej., N,N-dimetilaminocarbonilo) de grupos funcionales hidroxilo, ésteres (p. ej., etilésteres, morfolinoetanol ésteres) de grupos funcionales carboxi, derivados de bases N-Mannich de N-acilo (p. ej., N-acetilo), bases Schiff y enaminonas de grupos funcionales amino, oximas, acetales, cetales y enol ésteres de cetona y grupos funcionales aldehído en los compuestos de la invención, y similares, véase Bundegaard, H., Design of Prodrugs, pág. 1-92, Elsevier, Nueva York-Oxford (1985).

Métodos de tratamiento

- Se describen compuestos de la presente invención para uso terapéutico a fin de inducir o causar adelgazamiento en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para inducir o causar adelgazamiento. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene sobrepeso o es obeso. En determinadas realizaciones, inducir o causar adelgazamiento consiste en aumentar la pérdida de peso.

- Se describen también métodos para prevenir o demorar el aumento de peso en un sujeto que exhibe riesgo de esto, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para prevenir o demorar el aumento de peso. En determinadas realizaciones, el sujeto conlleva riesgo de tener sobrepeso o de convertirse en obeso.

También se describen en la presente invención métodos para tratar la obesidad en sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para tratar o mitigar la obesidad.

- Se describen también en la presente invención métodos para prevenir o demorar el desarrollo de obesidad en un sujeto que presenta riesgo de esto, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para prevenir o demorar el desarrollo de la obesidad.

- Se describen también en este documento métodos para tratar el síndrome metabólico o uno o más de sus componentes en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para tratar o mitigar el síndrome metabólico o uno o más de sus componentes.

Se describen también en este documento métodos para prevenir o demorar el desarrollo del síndrome metabólico o uno o más de sus componentes en un sujeto que exhibe riesgo de padecerlo, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para prevenir o demorar el desarrollo del síndrome metabólico o uno o más de sus componentes.

- Se describen también en esta invención métodos para reducir el peso corporal en un paciente que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para reducir el peso corporal. En determinadas realizaciones, el sujeto tiene sobrepeso o es obeso. En determinadas realizaciones, el sujeto necesita reducir el exceso de tejido adiposo.

- Obesidad y sobrepeso se refieren a un exceso de grasa en un sujeto en relación a la masa corporal magra. El exceso de acumulación de grasa se asocia con un aumento del tamaño (hipertrofia o esteatosis) además del número (hiperplasia) de células de tejido adiposo. La obesidad se puede deber a cualquier causa, o bien genética (p. ej., síndrome Prader-Willi) o ambiental. La obesidad se mide de distintas maneras en términos de peso absoluto, relación peso: estatura, grado de exceso de grasa corporal distribución de grasa visceral o subcutánea y normas sociales y estéticas. Una medida común de la grasa corporal es el índice de masa corporal (IMC). El IMC hace referencia a la relación de peso corporal (expresado en kilogramos) al cuadrado de la estatura (expresada en metros). El índice de masa corporal se puede calcular de manera precisa usando las fórmulas: unidades SI: $IMC = \text{peso (kg)} / (\text{estatura}^2 (\text{m}^2))$, o unidades US: $IMC = (\text{peso (lb)} * 703) / (\text{altura}^2 (\text{pulgada}^2))$.

Como se describe en este documento, "sobrepeso" se refiere a cualquier condición mediante la cual un adulto de lo contrario sano tiene un IMC de 25 kg/m² a 29,9 kg/m². Como se describe en la presente invención, "obeso" u "obesidad" se refiere a una condición mediante la cual un sujeto de lo contrario sano tiene un IMC de 30 kg/m² o más. La obesidad tiene varias subcategorías. Un adulto que tiene un IMC de 35 kg/m² o más se denomina "severamente obeso" o presenta "obesidad severa". Un adulto que tiene un IMC de ≥ 40 -44,9 kg/m² o un adulto que tiene un IMC de 35 kg/m² o más y por lo menos una afección relacionada con la obesidad se denomina "obeso mórbido" o presenta "obesidad mórbida". Un adulto que tiene un IMC de 45 kg/m² o más se denomina "súper obeso" o presenta "súper obesidad". Para los niños, las definiciones de sobrepeso y obeso toman en cuenta los efectos de la edad y el género sobre la grasa corporal.

Los diferentes países pueden definir obesidad y sobrepeso con diferente IMC. Se entiende que el término "obesidad" abarca las definiciones de todos los países. Por ejemplo, el aumento del riesgo asociado con obesidad ocurre con un índice de masa corporal (IMC) inferior en Asia. En los países asiáticos, incluido Japón, "obesidad" se refiere a una condición mediante la cual un sujeto con por lo menos una comorbilidad inducida por la obesidad o relacionada con la obesidad, que requiere la reducción de peso o que mejoraría con la reducción de peso, tiene un IMC mayor o igual a 25,0 kg/m². Las personas de América del Sur y Central tienden a categorizarse de manera más similar a los asiáticos que a los europeos o norteamericanos.

El IMC no explica el hecho de que el exceso de tejido adiposo pueda ocurrir selectivamente en diferentes partes del cuerpo, y el desarrollo de tejido adiposo puede ser más peligroso para la salud en algunas partes del cuerpo que en otras. Por ejemplo, la "obesidad central", típicamente asociada con un cuerpo con "forma de manzana", resulta del exceso de adiposidad especialmente en la región abdominal, incluida grasa en el abdomen y grasa visceral, y conlleva un riesgo mayor de comorbilidad que la "obesidad periférica", que típicamente se asocia con un cuerpo con "forma de pera" resultante del exceso de adiposidad, especialmente en la cadera. La medición de la relación de la circunferencia cintura/cadera (WHR) se puede usar como un indicador de obesidad central. Una WHR mínima indicativa de obesidad central se ha fijado de varias maneras, y un adulto centralmente obeso típicamente tiene una WHR de aproximadamente 0,85 o más si es mujer y aproximadamente 0,9 o más si es hombre.

La evaluación de la enfermedad se realiza usando métodos estándar conocidos en la técnica, monitoreando uno o más marcadores apropiados. Por ejemplo, se pueden monitorear los siguientes marcadores para obesidad: peso corporal, IMC, estudio de la composición corporal, distribución de la grasa corporal, distribución de la grasa central, ingesta de alimentos o calorías, medición conductual de hambre y saciedad, tasa metabólica y comorbilidades relacionadas con la obesidad.

Los métodos para determinar si un sujeto tiene sobrepeso o es obeso que determinan la relación de exceso de tejido adiposo a masa corporal magra pueden implicar obtener una composición corporal del sujeto. La composición corporal se puede obtener midiendo el espesor de la grasa subcutánea en múltiples partes del cuerpo, tales como el área abdominal, la región subescapular, los brazos, las nalgas y los muslos. Estas mediciones se utilizan luego para estimar la grasa corporal total con un margen de error de aproximadamente cuatro puntos en porcentaje. Otro método es el análisis de impedancia bioeléctrica (BIA), que usa la resistencia del flujo eléctrico por el cuerpo para estimar la grasa corporal. Otro método consiste en usar un tanque grande de agua para medir la flotación corporal. El aumento de grasa corporal resultará en mayor flotación, mientras que la mayor masa muscular resultará en una tendencia al hundimiento. Otro método es absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA). DEXA permite que la composición corporal, particularmente la grasa corporal total y/o la masa regional, se determinen en forma no invasiva. La MRI también se puede emplear para determinar la composición en forma no invasiva.

Con respecto a todos los métodos descritos en este documento, la referencia a los compuestos de la presente invención también incluye composiciones, tales como las composiciones farmacéuticas que se describen en esta invención, que comprenden uno o más de estos compuestos. Estas composiciones comprenden excipientes adecuados, como excipientes farmacéuticamente aceptables que incluyen tampones, que se conocen en la técnica. La presente invención se puede usar sola o combinada con otros métodos de tratamiento convencionales.

Un sujeto que necesita el tratamiento descrito en la presente invención puede también tener (es decir, estar diagnosticado con o padecer) por lo menos una comorbilidad inducida por la obesidad o relacionada con la obesidad, es decir, enfermedades y otras afecciones asociadas con, exacerbadas por o precipitadas por el sobrepeso o la obesidad. En otras realizaciones, el sujeto puede tener por lo menos dos comorbilidades inducidas por la obesidad o relacionadas con la obesidad.

Las comorbilidades inducidas por la obesidad o relacionadas con la obesidad incluyen, entre otras, diabetes, diabetes mellitus de tipo II no insulino dependiente, tolerancia anormal a la glucosa, tolerancia anormal a la glucosa en ayunas, disglucemia, concentraciones elevadas de insulina plasmática, síndrome de resistencia a la insulina, hiperlipidemia, dislipidemia, ácidos grasos libres elevados, hipertensión, hiperuricemia, gota, arteriopatía coronaria, enfermedad cardíaca, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad microvascular, apnea del sueño, apnea del sueño obstructiva, síndrome de Pickwickian, hígado graso; infarto cerebral, accidente cerebrovascular, trombosis cerebral, complicaciones respiratorias, coleditiasis, colecistopatía, nefropatía, reflujo gastroesofágico, incontinencia urinaria por estrés, arteriosclerosis, cardiopatía, ritmo cardíaco anormal, arritmia cardíaca, ataque isquémico transitorio, trastornos ortopédicos, artrosis, artritis reumatoide, lumbodinia, trastornos menstruales, desequilibrios hormonales,

endocrinopatías y esterilidad. En particular, las comorbilidades incluyen: hipertensión, hiperlipidemia, dislipidemia, intolerancia a la glucosa, enfermedad cardiovascular, apnea del sueño, diabetes mellitus y otras patologías relacionadas con obesidad.

5 Se describen también en este documento, además de tratar la obesidad o inducir, causar o aumentar la pérdida de peso (reducir el peso) en un sujeto que lo necesita, métodos para tratar una o más comorbilidades inducidas por la obesidad o relacionadas con la obesidad en un sujeto que padece dichas comorbilidades, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para tratar o mitigar la obesidad o reducir el peso corporal, y tratar o aliviar una o más comorbilidades inducidas por la obesidad o relacionadas con la obesidad.

10 Se describen también en este documento métodos para tratar trastornos metabólicos o síndrome metabólico en un sujeto que lo necesita, en donde dicho síndrome se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólico que incluyen: 1) obesidad abdominal (exceso de tejido graso en y alrededor del abdomen); 2) dislipidemia aterogénica (triglicéridos elevados; colesterol HDL bajo y colesterol LDL alto o una baja relación HDL: LDL); 3) hipertensión arterial; 4) resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa; 5) estado protrombótico (p. ej., inhibidor del activador de fibrinógenos o plasminógenos altos 1 en la sangre); 6) estado proinflamatorio (p. ej., CRP elevada en la sangre); y 7) prediabetes o diabetes de tipo 2. La presente invención puede tratar una o más enfermedades metabólicas solas o combinadas con el tratamiento de la obesidad, o inducir, causar o aumentar la pérdida de peso.

20 Se describen también en la presente invención, además de tratar la obesidad o inducir, causar o aumentar la pérdida de peso en un sujeto que lo necesita, métodos para tratar, reducir o mejorar uno o más factores de riesgo cardiometabólicos seleccionados, de manera no taxativa, del grupo que consiste en niveles de triglicéridos en el plasma, niveles de colesterol LDL, niveles de proteína C reactiva (CRP) y tensión arterial (sistólica y/o diastólica) en un sujeto que exhibe dichos factores de riesgo, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para tratar o mitigar la obesidad, o reducir el peso corporal, y tratar o mitigar uno o más de los factores de riesgo

25 Un compuesto de la presente invención, o su sal, profármaco, metabolito, análogo o derivado farmacéuticamente aceptable, se puede administrar en combinación con un segundo agente activo. El segundo agente activo también se puede conjugar a un polímero.

Los segundos agentes activos contemplados incluyen aquellos administrados para tratar la diabetes de tipo 2 tales como sulfonilureas (p. ej., clorpropamida, glipizida, gliburida, glimepirida); meglitinidas (p. ej., repaglinida y nateglinida); biguanidas (p. ej., metformina); tiazolidinadonas (rosiglitazona, troglitazona y pioglitazona); miméticos de péptido de tipo glucagón 1 (p. ej., exenatida y liraglutida); inhibidores del co-transportador de sodio-glucosa (p. ej., dapagliflozin), inhibidores de dipeptidil peptidasa 4 (p. ej., gliptinas), inhibidores del transportador asociado a sodio-glucosa, inhibidores de renina e inhibidores de alfa-glucosidasa (p. ej., acarbosa y meglitol) y/o aquellos administrados para tratar enfermedades y trastornos cardíacos, como hipertensión, dislipidemia, cardiopatía isquémica, cardiomiopatía, infarto cardíaco, accidente cerebrovascular, enfermedad tromboembólica venosa e hipertensión pulmonar, que se han asociado a sobrepeso u obesidad, por ejemplo, clortalidona; hidroclorotiazida; indapamida, metolazona; diuréticos del asa (p. ej., bumetanida, ácido etacrínico, furosemida, lasix, torsemida); agentes ahorradores de potasio (p. ej., hidrocloruro de amilorida, espironolactona y triamtereno); agentes periféricos (p. ej., reserpina); alfa-agonistas centrales (p. ej., hidrocloruro de clonidina, acetato de guanabenz, hidrocloruro de guanfacina, y metildopa); alfa-bloqueantes (p. ej., mesilato de doxazosin, hidrocloruro de prazosin e hidrocloruro de terazosin); beta-bloqueantes (p. ej., acebutolol, atenolol, betaxolol, fumarato de nisoprolol, hidrocloruro de carteolol, tartrato de metoprolol, succinato de metoprolol, Nadolol, sulfato de penbutolol, hidrocloruro de pindolol, propranolol y maleato de timolol); alfa y beta bloqueantes combinados (p. ej., hidrocloruro de carvedilol y labetalol); vasodilatadores directos (p. ej., hidrocloruro de hidrazina y minoxidil); antagonistas del calcio (p. ej., hidrocloruro de diltiazem e hidrocloruro de verapamil); dihidropiridinas (p. ej., besilato de amlodipina, felodipina, isradipina, nifedipina y nisoldipina); inhibidores ACE (hidrocloruro de benazepril, captopril, maleato de enalapril, fosinopril sódico, lisinopril, moexipril, hidrocloruro de quinapril, ramipril, trandolapril); bloqueantes del receptor de angiotensina II (p. ej., losartán potásico, valsartán e Irbesartán); y combinaciones de estos, además de estatinas tales como mevastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina, velostatian, dihidrocompactina, fluvastatina, atorvastatina, dalvastatina, carvastatina, crilvastatina, bevastatina, cefvastatina, rosuvastatina, pitavastatina y glenvastatina., típicamente para el tratamiento de dislipidemia.

Otros segundos agentes activos que se pueden co-administrar (p. ej., secuencial o simultáneamente) incluyen agentes administrados para tratar cardiopatía isquémica que incluyen estatinas, nitratos (p. ej., dinitrato de isosorbida y mononitrato de isosorbida), beta-bloqueantes y antagonistas de los canales de calcio, agentes administrados para tratar cardiomiopatía que incluyen agentes inotrópicos (p. ej., Digoxin), diuréticos (p. ej., Furosemida), inhibidores ACE, antagonistas del calcio, agentes antiarrítmicos (p. ej., Sotalol, Amiodarona y Disopiramida) y beta-bloqueantes administrados para tratar un infarto cardíaco incluyen inhibidores ACE, bloqueantes del receptor de angiotensina II, vasodilatadores directos, betabloqueantes, agentes antiarrítmicos y agentes trombolíticos (p. ej., Alteplasa, Retaplase, Tenecteplase, Anistreplase y Urocinasa), agentes administrados para tratar accidentes cerebrovasculares como agentes antiplaquetarios (p. ej., Aspirina, Clopidogrel, Dipiridamol y Ticlopidina), agentes anticoagulantes (p. ej., Heparina) y agentes antitrombóticos, agentes administrados para tratar enfermedad tromboembólica venosa incluidos agentes antiplaquetarios, agentes anticoagulantes y agentes trombolíticos, agentes administrados para tratar

hipertensión pulmonar como agentes inotrópicos, anticoagulantes y diuréticos, potasio (p. ej., K-dur), vasodilatadores (p. ej., Nifedipina y Diltiazem), Bosentan, Epoprostenol y Sildenafil, agentes administrados para tratar asma que incluyen broncodilatadores, agentes antiinflamatorios, bloqueantes de leucotrieno y agentes anti-Ige. Los agentes para el asma en particular incluyen Zafirlukast, Flunisolida, Triamcinolona, Beclometasona, Terbutalina, Fluticasona, Formoterol, Beclometasona, Salmeterol, Teofilina y Xopenex, agentes administrados para tratar apnea del sueño que incluyen Modafinil y anfetaminas, agentes administrados para tratar enfermedad de hígado graso no alcohólico que incluyen antioxidantes (p. ej., Vitaminas E y C), sensibilizantes de insulina (Metformina, Pioglitazona, Rosiglitazona y Betaína), hepatoprotectores y agentes reductores de lípidos, agentes administrados para tratar la artrosis de las articulaciones que cargan peso, que incluyen Acetaminofeno, agentes antiinflamatorios no esteroideos (p. ej., Ibuprofeno, Etodolac, Oxaprozin, Naproxeno, Diclofenac y Nabumetona), inhibidores de COX-2 (p. ej., Celecoxib), esteroides, suplementos (p. ej., glucosamina y sulfato de condroitina) y líquido articular artificial, agentes administrados para tratar el síndrome de Prader-Willi que incluyen la hormona del crecimiento humana (HGH), somatropina, y agentes adelgazantes (p. ej., Orlistat, Sibutramina, Meanfetamina, Ionamin, Fentermina, Bupropión, Dietilpropión, Fendimetrazina, Benzfetermina y Topamax), agentes administrados para tratar el síndrome del ovario poliquístico que incluyen sensibilizantes de insulina, combinaciones de estrógeno y progesterona sintéticos, Espironolactona, Eflornitina y Clomifeno, agentes administrados para tratar la disfunción eréctil que incluyen inhibidores de fosfodiesterasa (p. ej., Tadalafil, citrato de Sildenafil y Vardenafil), análogos de prostaglandina E (p. ej., Alprostadil), alcaloides (p. ej., Yohimbina) y testosterona, agentes administrados para tratar la esterilidad que incluyen Clomifeno, citrato de Clomifeno, Bromocriptina, Hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), agonista de GnRH, antagonista de GnRH, Tamoxifeno/nolvadex, gonadotropinas, gonadotropina coriónica humana (HCG), gonadotropina menopáusica humana (HmG), progesterona, hormona foliculo estimulante recombinante (FSH), Urofollitropina, Heparina, Follitropina alfa y Follitropina beta, agentes administrados para tratar complicaciones obstétricas que incluyen hidrocloreuro de Bupivacaína, Dinoprostona PGE2, Meperidina HCl, Ferro-folic-500/iberet-folic-500, Meperidina, maleato de metilergonovina, Ropivacaína HCl, Nalbufina HCl, Oximorfona HCl, Oxitocina, Dinoprostona, Ritodrina, hidrobromuro de Escopolamina, citrato de Sufentanil y Oxitocina, agentes administrados para tratar la depresión que incluyen inhibidores de recaptación de serotonina (p. ej., Fluoxetina, Escitalopram, Citalopram, Paroxetina, Sertralina y Venlafaxina); antidepresivos tricíclicos (p. ej., Amitriptilina, Amoxapina, Clomipramina, Desipramina, hidrocloreuro de Dosulepin, Doxepin, Imipramina, Iprindol, Lofepamina, Nortriptilina, Opipramol, Protriptilina y Trimipramina); inhibidores de monoamina oxidasa (p. ej., Isocarboxazid, Moclobemida, Fenelzina, Tranilcipromina, Selegilin, Rasagilina, Nialamida, Iproniazid, Iproclozida, Toloxatona, Linezolid, Dienolida kavapirona desmetoxyangonin y Dextroanfetamina); psicoestimulantes (p. ej., Anfetamina, Metanfetamina, Metilfenidato y Arecolina); antipsicóticos (p. ej., Butirofenonas, Fenotiazinas, Tioxantenos, Clozapina, Olanzapina, Risperidona, Quetiapina, Ziprasidona, Amisulprida, Paliperidona, Symbyax, Tetrabenazina y Cannabidiol); y estabilizantes del ánimo (p. ej., carbonato de litio, ácido valproico, Divalproex sódico, valproato sódico, Lamotrigina, Carbamazepina, Gabapentina, Oxcarbazepina y Topiramato), agentes administrados para tratar la ansiedad que incluyen inhibidores de recaptación de serotonina, estabilizantes del ánimo, benzodiazepinas (p. ej., Alprazolam, Clonazepam, Diazepam y Lorazepam), antidepresivos tricíclicos, inhibidores de monoamina oxidasa y beta-bloqueantes, y otros agentes de adelgazamiento como inhibidores de recaptación de serotonina y noradrenérgicos; inhibidores de recaptación noradrenérgicos; inhibidores selectivos de recaptación de serotonina; e inhibidores de lipasa intestinal. Los agentes de pérdida de peso particulares incluyen orlistat, sibutramina, metanfetamina, ionamina, fentermina, bupropión, dietilpropión, fendimetrazina, benzfetermina y topamax.

Se describen también en este documento métodos para reducir los adipocitos en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para reducir los adipocitos o el tejido adiposo. La presente invención también da a conocer métodos para prevenir un incremento en los adipocitos en un sujeto que presenta riesgo de esto, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para prevenir un incremento de adipocitos. Reducir los adipocitos significa reducir el número o reducir el tamaño (contenido graso) de los adipocitos. Prevenir el incremento de adipocitos significa reducir o mantener el número o reducir o mantener el tamaño de los adipocitos. En determinadas realizaciones, la administración de los compuestos de la presente invención contrae los adipocitos en el sujeto que lo necesita. El tejido adiposo puede ser tejido adiposo blanco o tejido adiposo pardo.

Se describen también en este documento métodos para reducir la ingesta de alimentos en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para reducir la ingesta de alimentos.

Una reducción en la ingesta de alimentos significa una reducción en la ingesta de alimentos diaria. Una reducción en la ingesta de alimentos diaria puede ser una disminución de aproximadamente 5% a aproximadamente 50% (p. ej., aproximadamente 5%, aproximadamente 10%, aproximadamente 20%, aproximadamente 30%, aproximadamente 40% o aproximadamente 50%). En base a una dieta diaria de 2000 kcal, la reducción es una reducción de aproximadamente 100 kcal a aproximadamente 1000 kcal por día (p. ej., aproximadamente 100 kcal, aproximadamente 200 kcal, aproximadamente 400 kcal, aproximadamente 600 kcal, aproximadamente 800 kcal o aproximadamente 1000 kcal).

Se describen también en este documento métodos para reducir una sensación de hambre en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para reducir el hambre. El sujeto se puede someter también a una reducción en la ingesta de alimentos.

La sensación de hambre se puede evaluar en un estado de ayuno usando una escala análoga visual de 10 puntos (VAS), que es muy utilizada en investigaciones sobre el apetito. Véase, Flint et al. Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 24(1): 38-48, 2000. Concretamente, se les pide a los sujetos que califiquen su sensación de hambre general durante los 2 días previos en una escala de 1-10, en donde 10 es extremadamente hambriento y 1 es absolutamente inapetente.

5 Los métodos anteriormente mencionados pueden además reducir la circunferencia de la cintura en un sujeto que lo necesita. La circunferencia de la cintura se evalúa usando una cinta métrica dispuesta alrededor del abdomen 1 cm encima de la cresta ilíaca. Los sujetos de la presente invención pueden tener una reducción de la circunferencia de la cintura de aproximadamente 1 pulgada a aproximadamente 20 pulgadas (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 pulgadas).

10 En los métodos anteriores, la administración de los compuestos resulta en una reducción de la grasa corporal y un mantenimiento sustancial de la masa muscular en dicho paciente. En determinadas realizaciones, tras la administración, la oxidación grasa se potencia en un paciente en comparación con el paciente bajo una ingesta de alimentos restringida sola. Por ejemplo, se da a conocer en este documento un método para reducir la grasa corporal en un paciente que lo necesita. Dicho paciente puede retener sustancialmente más masa muscular en comparación con la reducción de grasa corporal en un paciente que usa una dieta restringida en energía sola.

Se describen también en este documento métodos para mejorar el resultado quirúrgico en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar, antes de la cirugía, por lo menos un compuesto de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz al sujeto para mejorar el resultado quirúrgico. En determinadas realizaciones, la administración reduce la grasa hepática y/o abdominal en dicho paciente y mejora el resultado quirúrgico. En 20 determinadas realizaciones, la cirugía es una cirugía no aguda. Dichas cirugías pueden incluir cirugía bariátrica, cirugía cardiovascular, cirugía abdominal o cirugía ortopédica.

Un "paciente" o "sujeto" descrito en este documento puede significar un ser humano o un sujeto no humano. En determinadas realizaciones, el sujeto es un vertebrado. En determinadas realizaciones, el vertebrado es un mamífero. Los mamíferos también incluyen, aunque sin limitarse a ello, animales de granja, animales deportivos, mascotas, 25 primates (incluidos seres humanos), caballos, perros, gatos, ratones y ratas. En determinadas realizaciones, el mamífero es un ser humano.

Tal como se emplea en este documento, un "sujeto que lo necesita" es un sujeto que tiene sobrepeso o es obeso (que puede tener o no una o más comorbilidades), o un sujeto que presenta mayor riesgo de tener sobrepeso o desarrollar obesidad en relación a la población en general. En ciertos aspectos, un sujeto que lo necesita es obeso y tiene un IMC 30 de 30 kg/m² o más. En ciertos aspectos, el sujeto que lo necesita es un sujeto que tiene sobrepeso o es obeso o que tiene mayor riesgo de tener sobrepeso o desarrollar obesidad en relación a la población general que no padece, o no está diagnosticada con un trastorno seleccionado del grupo que consiste en cáncer, trastorno hiperproliferativo, neovascularización retiniana debida a degeneración macular, psoriasis y granuloma piogénico, artritis reumatoidea, inmune y degenerativa.

35 La expresión tratamiento "profiláctico o terapéutico" se conoce en la técnica e incluye la administración al hospedante de una o más de las composiciones en cuestión. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección indeseada (p. ej., enfermedad u otro estado indeseado del animal hospedante), entonces el tratamiento es profiláctico, (es decir, protege al hospedante contra el desarrollo de la afección indeseada), mientras que si se administra después de la manifestación de la afección indeseada, el tratamiento es terapéutico, (es decir, pretende disminuir, aliviar o 40 estabilizar la afección indeseada existente o sus efectos colaterales).

Tal como se emplea en este documento, "tratamiento" es un planteamiento para obtener resultados clínicos beneficiosos o deseados. Para los propósitos de la presente invención, los resultados beneficiosos o deseados incluyen, aunque sin limitarse a ello, uno o más de los siguientes: mejorar, reducir la gravedad, aliviar uno o más 45 síntomas asociados con una enfermedad. Para obesidad, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen uno cualquiera o más de los siguientes: reducir o mantener el peso corporal; controlar (incluye reducir) la ingesta de alimentos o la ingesta calórica; aumentar la tasa metabólica o inhibir la reducción de la tasa metabólica; y mejorar, reducir la gravedad y/o mitigar cualquiera de los trastornos relacionados con obesidad, tales como diabetes mellitus no insulino dependiente, hiperglucemia, baja tolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, trastorno de lípidos, dislipidemia, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, obesidad abdominal, trastorno alimentario, 50 síndrome metabólico, hipertensión, artrosis, infarto de miocardio, enfermedad de hígado graso, esteatohepatitis, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD), accidente cerebrovascular y otras enfermedades asociadas; aumentar la calidad de vida de aquellos que padecen obesidad y/o prolongar el período de vida.

Tal como se emplea en este documento, "demorar" el desarrollo de la obesidad significa diferir, obstaculizar, ralentizar, 55 retrasar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad. Esta demora puede ser de longitudes de tiempo variables, dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del individuo que esté siendo tratado. Como será obvio para el experto en la técnica, una demora suficiente o significativa puede, en efecto, abarcar la prevención, es decir que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, un resultado de demorar el desarrollo puede ser reducir el peso corporal de un sujeto en riesgo de obesidad en relación con el peso corporal de ese sujeto

inmediatamente antes de la administración de las composiciones descritas en este documento. Otro resultado de demorar el desarrollo puede ser prevenir la recuperación del peso corporal previamente perdido como resultado de dieta, ejercicio o farmacoterapia. Otro resultado de demorar el desarrollo puede ser prevenir que ocurra la obesidad si el tratamiento se administra antes del inicio de la obesidad en un sujeto que exhibe riesgo de obesidad. Otro resultado de demorar el desarrollo puede ser disminuir la aparición y/o gravedad de trastornos relacionados con obesidad si el tratamiento se administra antes del inicio de la obesidad en un sujeto con riesgo de obesidad.

Un individuo "en riesgo" de obesidad puede o no tener enfermedad detectable, y puede o no tener enfermedad detectable exhibida antes de los métodos de tratamiento descritos en esta invención. "En riesgo" ilustra que un individuo exhibe uno o más de los llamados factores de riesgo, que son parámetros mensurables que se correlacionan con el desarrollo de la obesidad. Un individuo que tiene uno o más factores de riesgo tiene una probabilidad mayor de ser obeso que un individuo sin este o estos factores de riesgo. Estos factores de riesgo incluyen, aunque sin limitarse a ello, edad, dieta, inactividad física, síndrome metabólico, antecedentes familiares de obesidad, etnia, síndromes hereditarios, antecedentes de enfermedad previa (p. ej., trastorno alimentario, síndrome metabólico y obesidad), presencia de enfermedad precursora (p. ej., sobrepeso). Por ejemplo, un individuo de lo contrario sano con un IMC de 25,0 a menos de 30,0 kg/m² o un individuo con por lo menos una comorbilidad con un IMC de 25,0 kg/m² a menos de 27,0 kg/m² presenta riesgo de obesidad.

"Desarrollo" de obesidad significa el inicio y/o la progresión de la enfermedad dentro de un individuo (que puede ser diferentes realizaciones de la invención). El desarrollo de la obesidad puede ser detectable usando técnicas clínicas estándar como se describe en este documento. No obstante, el desarrollo también se refiere a la progresión de la enfermedad que puede ser inicialmente indetectable. Para los propósitos de la presente invención, progresión se refiere al curso biológico del estado de enfermedad, en este caso, según lo determinado evaluando la estatura y el peso para estimar el IMC, midiendo la circunferencia de la cintura, evaluando las comorbilidades, además del inicio y/o el empeoramiento de las complicaciones de la obesidad tales como arteriosclerosis, diabetes de tipo II, enfermedad del ovario poliquístico, enfermedades cardiovasculares, artrosis, enfermedades dermatológicas, hipertensión, resistencia a la insulina, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y coleditiasis. Se conocen en la técnica una diversidad de estas pruebas diagnósticas. "Desarrollo" incluye la aparición, recurrencia e inicio. Tal como se emplea en esta memoria, "inicio" o "aparición" de la obesidad incluyen el inicio y/o la recurrencia.

Tal como se emplea en este documento, "controlar el peso corporal" o "mejorar el peso corporal" hacen referencia a reducir o mantener el peso corporal en un individuo (en comparación con el nivel antes del tratamiento). En algunas realizaciones, el peso corporal en general se mantiene dentro del intervalo normal. El peso corporal se puede reducir disminuyendo la ingesta calórica y/o disminuyendo la acumulación de grasa corporal. En algunas realizaciones, el peso corporal se reduce por lo menos aproximadamente 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40% o 50% en el individuo en comparación con el nivel antes del tratamiento.

Tal como se emplea en este documento, "controlar la ingesta de alimentos" se refiere a reducir o mantener la ingesta de alimentos en un individuo (en comparación con el nivel antes del tratamiento). En algunas realizaciones, la ingesta de alimentos en general se mantiene en el intervalo normal. En algunas realizaciones, la ingesta de alimentos se reduce en aproximadamente 3%, 4%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, o 50%, en el individuo, en comparación con el nivel antes del tratamiento.

Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto, con respecto al uso en el tratamiento, se refiere a una cantidad de un compuesto en una preparación que, cuando se administra como parte de un esquema de administración deseado (a un mamífero, preferiblemente un ser humano) alivia un síntoma, mitiga una afección o demora o previene el inicio de enfermedades de acuerdo con estándares clínicamente aceptables para el trastorno o la afección que se ha de tratar o el propósito estético, p. ej., en una relación razonable de riesgo/beneficio aplicable a cualquier tratamiento médico. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" es sinónimo de "dosis eficaz".

Tal como se emplea en este documento, una "dosis eficaz" o "cantidad eficaz" de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para producir resultados beneficiosos o deseados. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como eliminar o reducir el riesgo, disminuir la gravedad o demorar el inicio de la enfermedad, incluidos síntomas bioquímicos, histológicos y/o conductuales de la enfermedad, sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como reducir la intensidad, duración o frecuencia del ataque de la enfermedad, y reducir uno o más síntomas resultantes de la enfermedad (bioquímicos, histológicos y/o conductuales), incluidas sus complicaciones y fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad, aumentar la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad, reducir la dosis de otros medicamentos requeridos para tratar la enfermedad, potenciar el efecto de otros medicamentos y/o demorar la progresión de la enfermedad en los pacientes. Una dosis eficaz se puede administrar en una o más administraciones. Para los propósitos de la presente invención, una dosis eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para lograr el tratamiento profiláctico o terapéutico o bien directa o indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una dosis eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede o no lograrse en conjunto con otro fármaco, compuesto o composición farmacéutica. Por lo tanto, una "dosis eficaz" se puede considerar en el contexto de administrar uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar la administración de un agente individual en una cantidad eficaz si,

en conjunto con uno o más de otros agentes, se puede lograr o se logra un resultado deseable. Por ejemplo, una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención para tratar la obesidad es una cantidad suficiente para tratar o aliviar uno o más síntomas asociados con la obesidad. Una "cantidad eficaz" es una cantidad suficiente para dar como resultado uno o más de los siguientes (que también pueden corresponder a diversas realizaciones de la invención): disminuir, reducir o controlar el peso corporal, disminuir, reducir o controlar la ingesta de alimentos, aumentar la tasa metabólica, disminuir uno o más síntomas resultantes de las enfermedades asociadas con obesidad, aumenta la calidad de vida y/o prolongar el período de vida de aquellos que padecen obesidad.

Al proporcionar al sujeto uno o más de los compuestos descritos en esta memoria, la dosis del compuesto(s) administrado variará dependiendo de factores tales como la edad, el peso, la estatura, el sexo del sujeto, la afección médica general, los antecedentes médicos previos, la progresión de la enfermedad, la ruta de administración, la formulación y similares.

La dosis para un compuesto de la presente invención se puede determinar empíricamente en individuos que han recibido una o más administraciones. Los individuos reciben dosis graduales de un compuesto de la presente invención. Para evaluar la eficacia de un compuesto de la presente invención, se pueden monitorear los marcadores del estado de enfermedad. Será obvio para el experto en la técnica que la dosis variará dependiendo del individuo, la etapa de la enfermedad (p. ej., etapa de obesidad) y los tratamientos pasados y concurrentes que se estén utilizando.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de los compuestos de la presente invención se pueden determinar por procedimientos farmacéuticos estándar en animales experimentales. Se pueden determinar las dosis tóxicas como la dosis máxima tolerada (MTD) o alternativamente la LD50 (la dosis letal para el 50% de la población). Las dosis eficaces se pueden determinar como la ED50 (la dosis terapéuticamente eficaz en 50% de la población) o la dosis requerida para proporcionar cierta cantidad promedio de cambio en un animal (p. ej., la dosis requerida para proporcionar una reducción promedio en la tensión arterial sistólica de 10 mm Hg en un grupo de sujetos).

Idealmente, las dosis eficaces y tóxicas se pueden determinar en la misma especie. No obstante, si se determinan en especies diferentes, se puede usar la escala alométrica para traducir la dosis eficaz o tóxica para otras especies. La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación LD50/ED50. Al comparar ratones con ratas, el factor de la escala comúnmente aceptado es 2; se estima que la dosis de la rata es una mitad de la dosis del ratón. Por consiguiente, la dosis tóxica en una rata es 100 mg/kg y la dosis eficaz en un ratón es 1 mg/kg, el índice terapéutico en la rata se puede calcular como la dosis eficaz en la rata que equivale a 1 mg/kg /2 o 0,5 mg/kg, y el índice terapéutico es 200. La FDA define un fármaco como con un intervalo terapéutico estrecho si: (a) existe una diferencia de menos del doble entre la mediana de dosis letal y la mediana de dosis eficaz, o (b) existe una diferencia de menos del doble entre las concentraciones tóxicas mínimas y eficaces mínimas en la sangre.

Se prefieren los compuestos de la presente invención que exhiben grandes índices terapéuticos. Si bien los compuestos de la presente invención que exhiben efectos colaterales tóxicos se pueden usar, se debe tomar la precaución de diseñar un sistema de administración que dirija dichos compuestos de la presente invención al sitio de tejido afectado con el fin de minimizar el daño potencial a células no afectadas y reducir así los efectos colaterales.

Se pueden utilizar los datos obtenidos de estudios animales para formar un intervalo de dosis para uso en seres humanos. Las dosis de dichos compuestos de la presente invención preferiblemente yacen dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen el intervalo de dosis eficaz con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este intervalo, dependiendo de la forma de administración y la ruta de administración utilizadas. Para los compuestos de la presente invención con un PM de menos de 1000, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular, mientras que los modelos animales proporcionan un mejor cálculo de la dosis para conjugados en donde el enlazador requiere la escisión para liberar un resto activo. Dicha información se puede utilizar para determinar más precisamente las dosis útiles en seres humanos. Se sabe en la técnica que la conjugación de polímeros diluye la actividad del resto activo (el polímero es un diluyente). Esto se ejemplifica en el modelo de administración del ratón de los fármacos antineoplásicos que se muestran en la Tabla que sigue.

Fármaco original	Dosis del fármaco (mg/kg)	Conjugado	Dosis del conjugado (mg/kg)
TNP-470	30 (qod)	XMT-1107	800
Docetaxel	12 (Q4d)	Opaxio	480
CPT-11	20 (q2d)	EZN-2208	145 (q2d)
Doxorrubicina	5 (q4d)	PK1	62 (q7d)
Carboplatino	60 (Qd)	AP-5356	2200

Por lo tanto, se entiende que la conjugación de polímeros aumenta la dosis clínica, mientras que el índice terapéutico no se mejora. Esto se ejemplifica en el modelo de administración humano de los fármacos antineoplásicos que se muestran en la Tabla que sigue.

Fármaco original	Dosis del fármaco (mg/m ²)	Conjugado	Dosis del conjugado (mg/m ²)
TNP-470	180	XMT-1107	Tbd
Paclitaxel	175	Opaxio	473
CPT-11	125	EZN-2208	260
Doxorrubicina	75	PK1	280
Oxaliplatino	85	AP-5346	6400

5

El conjugado polimérico y los compuestos modificados de la presente invención sorprendentemente proporcionan eficacia superior y menos toxicidad en comparación con el fármaco original/resto activo no conjugado y/o no modificado.

10 Por ejemplo, los conjugados de fumagillol y los compuestos de fumagillol modificado de la presente invención son sorprendentemente superiores a las moléculas pequeñas de fumagillol, ya que proporcionan una mayor reducción del peso en ratones DIO con dosis molares equivalentes. Los compuestos de la presente invención se pueden usar en dosis molares inferiores y con administraciones menos frecuentes para proveer una pérdida de peso equivalente. Las dosis molares inferiores y la frecuencia de administración reducida disminuyen la exposición del fármaco sistémica y la toxicidad del fármaco sistémica. Además, los conjugados de fumagillol y los compuestos de fumagillol modificado de la presente invención proporcionan la siguiente acción similar a las moléculas pequeñas de fumagillol: pérdida preferencial de grasa en ratones DIO y reducción del consumo de alimento.

15

Los conjugados de polímeros tradicionales diluyen la actividad, incrementan la dosis en 5-20x y proporcionan pocos cambios en el índice terapéutico (< 2x). En contraste, los compuestos de conjugados poliméricos de la presente invención sorprendente e inesperadamente proporcionan mejor índice terapéutico (mejora del orden de magnitud) y demuestran un incremento de la actividad con una dosis reducida.

20

En los métodos anteriores, los compuestos de conjugados poliméricos de la presente invención sorprendentemente demuestran una administración de la dosis menos frecuente (p. ej., q4d, administración cada cuatro días, q7d, administración cada siete días, q8d, administración cada ocho días), dosis que se reducen por lo menos 84 % en moles de equivalente de fumagillol, AUC reducida en los compartimientos no diana, a la vez que aumenta el índice terapéutico (> 10x).

25

En otra realización, se dan a conocer en este documento dosis eficaces, p. ej., una dosis diaria de un compuesto de la presente invención. Por ejemplo, se dan a conocer en este documento métodos que incluyen administrar dosis de un compuesto de la presente invención que son eficaces para adelgazar. Por ejemplo, la dosis contemplada de un compuesto de la presente invención en los métodos descritos en esta memoria puede incluir administrar una dosis independiente del peso corporal de aproximadamente 200 mg/día, aproximadamente 80 mg/día, aproximadamente 40 mg/día, aproximadamente 20 mg/día, aproximadamente 10 mg/día, aproximadamente 5 mg/día, aproximadamente 3 mg/día, aproximadamente 2 mg/día, aproximadamente 1 mg/día, aproximadamente 0,5 mg/día, aproximadamente 0,2 mg/día, aproximadamente 0,05 mg/día, aproximadamente 0,01 mg/día o aproximadamente 0,001 mg/día.

30

Una cantidad eficaz del fármaco para adelgazamiento en un paciente puede ser también administrada en función del peso corporal o el área superficial, y puede ser aproximadamente 0,0001 mg/kg a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por día. Por ejemplo, una dosis contemplada puede ser entre aproximadamente 0,001 y 5 mg/kg de peso corporal por día, entre aproximadamente 0,001 mg/kg y 1 mg/kg de peso corporal por día, entre aproximadamente 0,001 mg/kg y 0,1 mg/kg de peso corporal por día, entre aproximadamente 0,001 y aproximadamente 0,010 mg/kg de peso corporal por día o aproximadamente 0,007mg/kg de peso corporal por día.

35

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en una cantidad suficiente para reducir el peso corporal del paciente en aproximadamente 0,5 kg/semana a aproximadamente 1 kg/semana (o aproximadamente 0,5% de peso corporal por semana a aproximadamente 1% de peso corporal por semana). En determinadas realizaciones, la reducción semanal del peso corporal ocurre durante todo el tratamiento.

40

La administración de un compuesto de la presente invención de conformidad con el método anteriormente mencionado puede ser continua o intermitente, dependiendo de, por ejemplo, el estado fisiológico del receptor, si el propósito de la administración es terapéutico o profiláctico, y otros factores conocidos por los expertos en la materia. La administración de un compuesto de la presente invención puede ser esencialmente continua durante un período de tiempo preseleccionado, o puede ser en una serie de dosis espaciadas.

Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la afección, el tratamiento se sostiene hasta que ocurre una supresión deseada de los síntomas de la enfermedad o hasta que se alcanzan niveles terapéuticos suficientes. Por ejemplo, se contempla la administración entre una y cinco veces por semana. En determinadas realizaciones, un compuesto de la presente invención se administra aproximadamente cada cuatro días. Otros esquemas de administración incluyen un esquema de 1 a 5 veces por semana, cada tres o cuatro días o menos frecuentemente. En algunas realizaciones, un compuesto de la presente invención se administra aproximadamente una vez por semana, una vez cada dos semanas o aproximadamente 1 a 4 veces por mes, dependiendo de la duración de la respuesta a la administración del fármaco. Se puede usar un esquema de administración intermitente con dosis escalonadas espaciadas por 2 días hasta 7 días o incluso 14 días. En algunas realizaciones, el tratamiento puede comenzar con una administración diaria y luego cambiar a una administración semanal, incluso mensual. El progreso de esta terapia se monitorea fácilmente con técnicas y ensayos convencionales, o midiendo MetAP2 como se describe en la patente de EE. UU. núm. 6.548.477.

La frecuencia de administración se puede determinar y ajustar durante el curso de la terapia. Por ejemplo, la frecuencia de administración se puede determinar o ajustar en base al tipo y a la intensidad de la enfermedad que se ha de tratar, si el agente se administra para fines preventivos o terapéuticos, la terapia previa, los antecedentes clínicos del paciente y la respuesta al agente, y el criterio del médico. Típicamente, el médico administrará un compuesto de la presente invención hasta alcanzar una dosis que logre el resultado deseado.

El tratamiento puede continuar durante un período tan corto o tan prolongado como se desee. Un período de tratamiento adecuado puede ser, por ejemplo, por lo menos aproximadamente una semana, por lo menos aproximadamente cuatro semanas, por lo menos aproximadamente un mes, por lo menos aproximadamente seis meses, por lo menos aproximadamente 1 año, por lo menos aproximadamente 2 años, o indefinidamente. Un período de tratamiento puede finalizar cuando se obtiene un resultado deseado, por ejemplo, un objetivo de pérdida de peso. Por ejemplo, cuando se ha logrado una pérdida de aproximadamente 5% peso corporal, aproximadamente 10% peso corporal, aproximadamente 20% peso corporal, aproximadamente 30% peso corporal o más. Un esquema de tratamiento puede incluir una fase correctiva, durante la cual se administra un compuesto de la presente invención en una dosis o frecuencia de administración suficiente para proporcionar reducción de adiposidad excesiva, seguida de una fase de mantenimiento, durante la cual se administra una dosis inferior del compuesto, o una frecuencia de administración reducida, para prevenir el re-desarrollo de exceso de adiposidad.

Los compuestos, o sus sales o ésteres farmacéuticamente aceptables (o sus composiciones farmacéuticas) se pueden administrar por medios conocidos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos o las composiciones de la presente invención se administran por vía oral, transdérmica, tópica, pulmonar, por inhalación, bucal, sublingual, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, rectal, intrapleural, intratecal y parenteral. La administración puede ser sistémica, p. ej., administración intravenosa, o localizada. En determinadas realizaciones, la ruta de administración puede ser intravenosa, intramuscular, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal, intratecal, intrapleural, intrauterina, rectal, vaginal, tópica y similar. En determinadas realizaciones, el compuesto se administra por vía subcutánea.

En un aspecto, los compuestos de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables, se administran en una forma farmacéutica adecuada o en una formulación preparada combinando una cantidad terapéuticamente eficaz (p. ej., un nivel de eficacia suficiente para lograr el efecto terapéutico deseado) del compuesto de la presente invención, o sus sales, solvatos, diastereómeros y polimorfismos farmacéuticamente aceptables (como ingrediente activo) con vehículos o diluyentes farmacéuticos estándar de acuerdo con procedimientos convencionales (es decir, produciendo una composición farmacéutica de la invención). Estos procedimientos pueden implicar mezclar, granular y comprimir o disolver los ingredientes según sea apropiado para obtener la preparación deseada.

Las formas farmacéuticas parenterales se pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, se pueden formular suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles de acuerdo con la técnica conocida, usando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión.

Las formas farmacéuticas orales, como cápsulas, comprimidos, pastillas, polvos y gránulos, se pueden preparar usando cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención se pueden mezclar con materiales entéricos y formar comprimidos. Alternativamente, las formulaciones de la invención se incorporan en comprimidos masticables, comprimidos triturables, comprimidos que se disuelven rápidamente en la boca, o en un enjuague bucal.

Para administración pulmonar (p. ej., intrabronquial), los compuestos de la presente invención se pueden formular con excipientes convencionales para preparar una composición inhalable en la forma de un polvo fino o líquido atomizable. Para administración ocular, los compuestos de la presente invención se pueden formular con excipientes

convencionales, por ejemplo, en la forma de gotas oculares o de un implante ocular. Entre los excipientes útiles en las gotas oculares están los agentes de viscosidad o gelificación, para minimizar la pérdida por lagrimeo a través de una mejor retención en el ojo.

Las formas farmacéuticas líquidas u otra administración incluyen, aunque sin limitarse a ello, emulsiones, microemulsiones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del agente(s) activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de etilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de algodón, cacahuete, maíz, germen de trigo, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácido graso de sorbitán, y sus mezclas. Además de diluyentes inertes, las composiciones administradas por las rutas ocular, oral u otras sistémicas también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes y agentes emulsionantes y de suspensión.

Los nebulizadores comerciales para formulaciones líquidas, incluidos los nebulizadores a chorro y los nebulizadores ultrasónicos, son útiles para la administración. Las formulaciones líquidas pueden nebulizarse directamente, y el polvo liofilizado puede nebulizarse después de la reconstitución. Alternativamente, los compuestos de la presente invención se pueden pulverizar usando una formulación de fluorocarbono y un inhalador dosificador, o se pueden inhalar como un polvo liofilizado y triturado.

Las formas farmacéuticas para administración tópica o transdérmica de una composición de la invención pueden incluir ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, disoluciones, aerosoles, inhalantes o parches. El agente activo se mezcla bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable, y se puede requerir algún conservante o tampón necesario. Por ejemplo, las rutas de administración subcutánea se logran con gotas acuosas, una bruma, una emulsión o una crema.

Los parches transdérmicos pueden tener la ventaja adicional de proporcionar la administración controlada de los ingredientes activos al organismo. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar disolviendo o dispensando el compuesto en el medio correcto. También se pueden emplear potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto en la piel. La tasa se puede controlar proporcionando una membrana que controle la tasa o dispersando el compuesto en una matriz o gel de polímero.

Las composiciones para administración rectal o vaginal pueden ser supositorios que se pueden preparar mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o vehículos no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o cera para supositorios, que son sólidos a temperatura ambiente, pero líquidos a temperatura corporal y por lo tanto se funden en el recto y la cavidad vaginal y liberan el agente(s) activo. De manera alternativa, las formulaciones contempladas se pueden administrar por liberación desde el lumen de un endoscopio una vez que el endoscopio ha sido insertado en el recto de un sujeto.

El experto en la técnica puede consultar los textos de referencia generales para descripciones detalladas de las técnicas conocidas analizadas en este documento o técnicas equivalentes. Estos textos incluyen Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, Inc. (2005); Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3ª ed.), Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, Nueva York (2000); Coligan et al., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, N.Y.; Enna et al., Current Protocols in Pharmacology, John Wiley & Sons, N.Y.; Fingl et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics (1975), Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, PA, 18ª edición (1990). Estos textos pueden consultarse, desde ya, para preparar o usar un aspecto de la invención.

Ejemplos

Los ejemplos se exponen a continuación para ilustrar en más detalle las diferentes características de la presente invención. Los ejemplos también ilustran la metodología útil para poner en práctica la invención. Estos ejemplos no limitan la invención reivindicada.

Procedimientos generales

Se usó Filtración de Flujo Tangencial (TFF) para purificar los productos poliméricos de la invención. La TFF se realizó con un sistema de TFF Pall Minimate™ Capsule and Minimate™ de conformidad con las instrucciones del fabricante. Se usó un cartucho Minimate TFF Capsule con una membrana Omega de 5 kDa (5K) o Minimate TFF Capsule con una membrana Omega de 10 kDa (10K) para purificación. En todos los casos, se desechó la fracción permeada y la fracción retenida se liofilizó para dar el producto polimérico. Las estructuras de productos se confirmaron por 1 H NMR, también se caracterizaron moléculas pequeñas por MS. Los pesos de los polímeros indicados en los ejemplos no se corrigieron para contenido de agua.

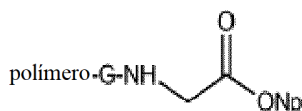
Carbamoilfumagillol y cloroacetilcarbamoilfumagillol se pueden preparar de acuerdo con los métodos descritos en la patente de EE. UU. 5.166.172. Carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo se puede preparar de acuerdo con procedimientos publicados. (Véase Han, C. et al. Biorg. Med. Chem. Lett. 2000, 10, 39-43). MA-GFLG-ONp se puede preparar de acuerdo con los métodos descritos en la patente de EE. UU. 5.258.453.

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp)

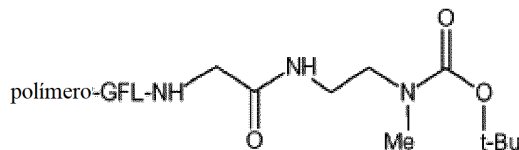
Una mezcla de hidroxipropilmetacrilamida (HPMA, 22,16 g, 155 mmol), N-metacril-gly-phe-leu-gly p-nitrofenil éster (MA-GFLG-ONp, 10,00 g, 17,19 mmol), AIBN (1,484 g, 9,037 mmol) y acetona (225 g) se desgaseó (congelamiento, bomba, descongelamiento, 4 ciclos). La mezcla de reacción resultante se agitó a 50°C durante 48 horas, luego se enfrió hasta temperatura ambiente. El producto deseado se purificó por trituración con acetona, luego se secó al vacío para dar 17,6 g de poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) en la forma de un sólido blanco. La estructura se verificó por ¹H NMR y el producto se mostró libre de impurezas sustanciales (p. ej., p-nitrofenol). En base a la absorbancia de UV, el copolímero contenía 0,47 mmoles de p-nitrofenil éster por gramo de polímero. El copolímero de este ejemplo se usa en la mayoría de los ejemplos subsiguientes. Se puede preparar una amplia gama de copolímeros en base a diferentes monómeros y/o relaciones monoméricas siguiendo este procedimiento, ajustando la estequiometría y/o usando distintos monómeros.

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GFLG-OH)

Se añadió poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (700 mg) en porciones a una disolución de NaOH 0,1 M (11,3 ml) a 0°C. La mezcla de reacción amarilla se agitó a 0°C durante 0,5 horas, luego a temperatura ambiente durante 4 horas. Una mitad de la disolución se acidificó con HCl 0,1 M hasta pH= 6. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo para eliminar el exceso de p-nitrofenol. La fase acuosa se liofilizó para dar poli(HPMA-co-MA-GFLG-OH) en la forma de un sólido incoloro (360 mg).

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GG-ONp)

Una mezcla de hidroxipropilmetacrilamida (HPMA, 82,5 g), N-metacril-gly-gly p-nitrofenil éster (MA-GG-ONp, 16,8 g), AIBN (5,7 g) y acetona (875 g) se pulverizó con argón durante 90 min. La mezcla de reacción resultante se agitó a 50°C durante 48 horas, luego se enfrió hasta temperatura ambiente. El producto deseado se purificó por trituración con acetona, luego se secó al vacío para dar 69,3 g de poli(HPMA-co-MA-GG-ONp) en la forma de un sólido blanco. La estructura se verificó por ¹H NMR y el producto demostró estar libre de impurezas sustanciales (p. ej., p-nitrofenol). La cantidad de p-nitrofenil éster por gramo de polímero se determinó por absorbancia de UV. Se puede preparar una amplia gama de copolímeros en base a diferentes monómeros y/o relaciones monoméricas siguiendo este procedimiento, al ajustar la estequiometría y/o usar distintos monómeros.

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC) y procedimiento general A.

Una disolución de poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 g, 0,534 mmol) en DMF (6 ml) y H₂O (10 ml) se añadió gota a gota durante un intervalo de 15 minutos a una disolución de N-(2-aminoetil)-N-metilcarbamato de terc-butilo (0,20 g, 1,15 mmol) en agua (20 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 15 minutos, luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. Los disolventes se evaporaron a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en agua (50 ml), el pH se ajustó hasta aproximadamente 8,0 con NaOH 0,1 M. La disolución se filtró a través de un filtro VacuCap, luego se purificó usando TFF (10 K). La disolución que contenía el polímero se lavó (como parte del procedimiento de TFF) con disolución de NaCl 25 mM (800 ml) para eliminar el p-nitrofenol, el pH de la disolución se ajustó hasta aproximadamente 4 con HCl 0,1 M, y luego se lavó (como parte del procedimiento de TFF) con agua (400 ml). La disolución de polímero se liofilizó para aislar el compuesto poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂N(Me)BOC) en la forma de un sólido amarillo pálido (720 mg, 71%).

Síntesis de Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc:

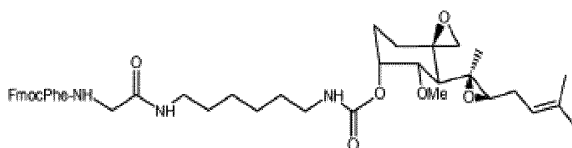
A una disolución de Fmoc-Phe-Gly-OH (0,66 g) en THF anhidro (20 ml) a 0 °C bajo N₂ se le añadieron N,N'-diciclohexilcarbodiimida (0,307 g) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (0,201 g). Después de agitar durante 15 min, se añadió N-Boc-1,6-diaminohexano (0,322 g). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta TA y se agitó durante la noche. Los sólidos se separaron por filtración y se lavaron con EtOAc. El filtrado y los lavados se concentraron luego

a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (0 a 10% MeOH en CH₂Cl₂) para dar Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc en la forma de un sólido blanco (0,9 g).

Síntesis de Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH₂ · TFA:

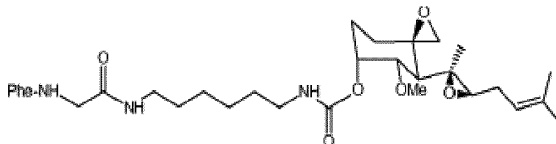
- 5 Se disolvió Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-Boc (0,7 g) en CH₂Cl₂ (4 ml) a 0 °C bajo N₂ y luego se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (4 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar a TA y se agitó durante 2 horas en N₂. Los disolventes se eliminaron a presión reducida, y el residuo se secó en alto vacío para proveer 0,71 g de Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH₂ · TFA. Este material bruto se usó para preparar sin purificación adicional.

- 10 *Síntesis de Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-Fumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención):*



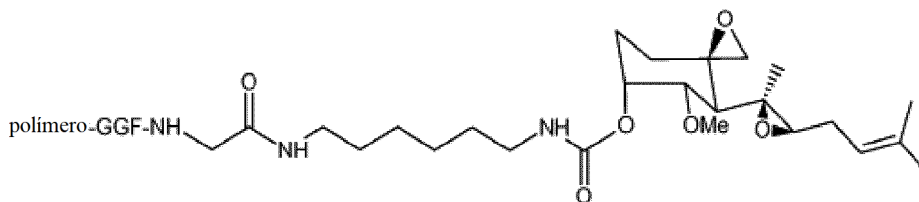
- 15 A una disolución a 0 °C del compuesto Fmoc-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH₂ · TFA (0,71 g) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml) y DMF (1 ml) en N₂ se le añadió carbonato de nitrofenil fumagill-6-ilo (0,536 g). Se añadió luego diisopropiletilamina (DIPEA) (0,74 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta TA y luego se agitó a la misma temperatura. Los disolventes se eliminaron a presión reducida y el residuo resultante se disolvió en EtOAc (70 ml). El EtOAc se lavó con agua y salmuera. La disolución de acetato de etilo se secó luego sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (0 a 10% MeOH en CH₂Cl₂) para proveer Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-CO-fumagillol en la forma de un sólido blanquecino (0,81 g).

- 20 *Síntesis de H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NH-CO-fumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)*



- 25 A una disolución a 0 °C del compuesto Fmoc-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-CO-fumagillol (0,80 g) en CH₂Cl₂ anhidro (20 ml) bajo N₂ se le añadió DBU (0,15 g). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta TA. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (0 a 10% MeOH en CH₂Cl₂) para proveer H-Phe-Gly-NH-(CH₂)₆NH-CO-fumagillol en la forma de una goma de color amarillo pálido (0,45 g, 76%).

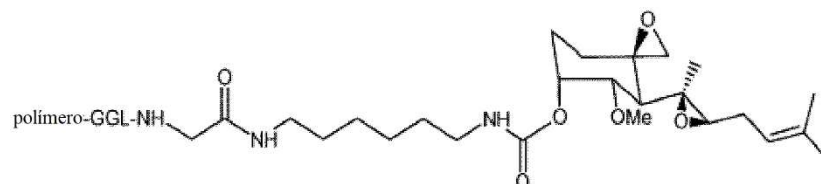
Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GGFG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención) y Procedimiento general B



- 30
35 A una disolución de poli(HPMA-co-MA-GG-ONp) (0,68 g) en DMF anhidra (12 ml) a 0 °C bajo N₂ se le añadió H-Phe-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-fumagillol (0,45 g) en DMF anhidra (5 ml) seguido de la adición de diisopropiletilamina (DIPEA) (0,25 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta TA y, después de agitar durante la noche en N₂, se añadió 3-amino-1-propanol (0,032 g). La mezcla se dejó agitar durante una hora más. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo resultante se disolvió en 300 ml de agua destilada y se extrajo con EtOAc (4x). Se usó una disolución saturada acuosa de NaCl (50 ml) para facilitar la separación de fases. Se eliminaron cantidades mínimas de EtOAc de la disolución de polímero, agitando bajo un flujo de gas nitrógeno. La disolución de polímero se filtró a través de un filtro VacuCap (pH = 5,56), se concentró hasta 30 ml por TFF con una cápsula de 10K y se lavó con agua (700 ml) por

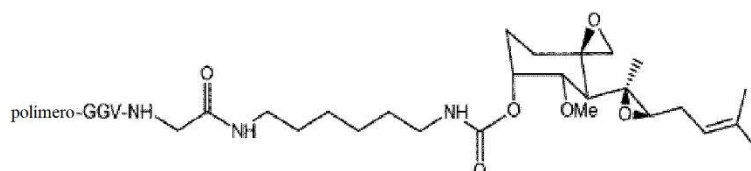
TFF. El polímero después se liofilizó para proveer el conjugado de polímero deseado poli[HPMA-co-MA-GGFG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillo] en la forma de una espuma rosada ligera (0,685 g). El contenido de espiroepóxido se midió por reacción con 2-mercaptopirimidina y se determinó que era 0,4 mmol/g.

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GGLG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillo] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



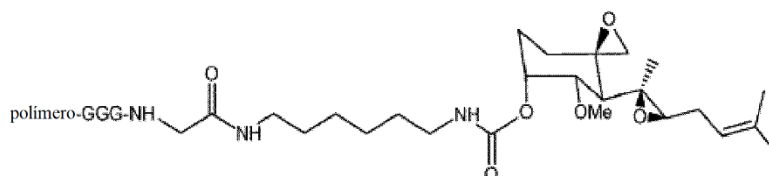
Utilizando técnicas estándar, se preparó el dipéptido H-Leu-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum y se acopló a poli(HPMA-co-MA-GG-ONp) usando el Procedimiento general B.

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GGVG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillo] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



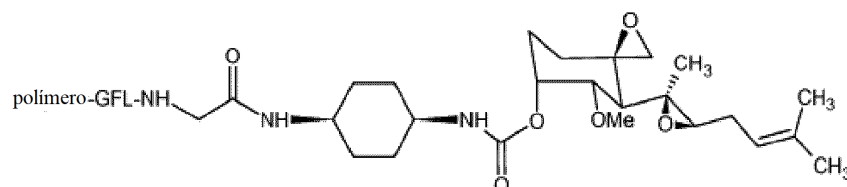
Utilizando técnicas estándar, se preparó el dipéptido H-Val-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum y se acopló a poli(HPMA-co-MA-GG-ONp) usando el Procedimiento general B.

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GGGG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillo] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



Utilizando técnicas estándar, se preparó el dipéptido H-Gly-Gly-NH(CH₂)₆NHCO-Fum y se acopló a poli(HPMA-co-MA-GG-ONp) usando el Procedimiento general B.

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(cis-4-aminociclohexil)carbamoilfumagillo] vía poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(cis-4-aminociclohexilamina-HCl)]

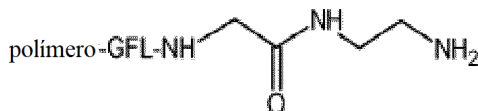


Se siguió el Procedimiento general C usando *cis*-1,4-diaminociclohexano (0,914 g) y poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,5 g) para dar poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-aminociclohexilamina-HCl)] en la forma de un sólido blanquecino (1,08 g).

Se siguió el Procedimiento general F usando poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-aminociclohexilamina-HCl)] (0,98 g), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (0,465 g) y DIEA (0,268 g) en DMF 16 ml. El disolvente se evaporó y la disolución se diluyó con agua. La fase acuosa (500 ml total) se extrajo con acetato de etilo (80 ml total) y se purificó por TFF usando 350 ml adicionales de agua. La fracción retenida se diluyó con agua, se extrajo con acetato de etilo y se liofilizó para dar poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(*cis*-4-aminociclohexil)carbamoilfumagillo] en la forma de un sólido rosado ligero (0,79 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 7,90-8,35 (m, 4H, amida-NH), 7,0-7,70 (m, 25H, Fenilalanina y amida-NH), 5,26 (m,

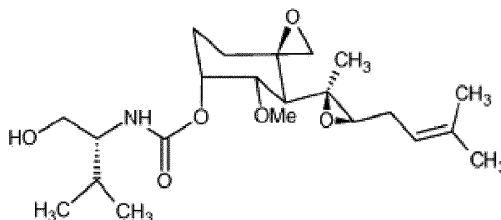
H-5-Fum), 5,18 (bt, alqueno-Fum), 4,60-4,90 (m, 14H), 4,50-4,60 (m, 1H, fenilalanina alfa protón), 4,10-4,30 (m, 1H, leucina alfa protón), 3,40-3,80 (m, 21H), 3,26 (s, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (m, 31H), 2,17 (m, 2H, alílico-Fum), 0,37-2,0 [m, 166H {1,69 (s, 3H, Fum-Me), 1,59 (s, 3H, Fum-Me), 1,07 (s, 3H, Fum-Me)}].

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) y Procedimiento general C para la reacción de diaminas con poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp)



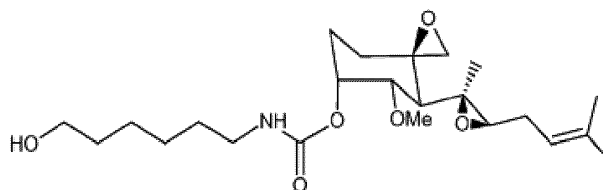
Una disolución de etilendiamina (0,33 g, 5,49 mmol) en agua (20 ml), pH 11,7, se ajustó hasta pH 9,1 por adición de 37% HCl ac. (17-18 gotas). La disolución se enfrió en un baño de hielo y se añadió poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,03 g) en DMF (6 ml) gota a gota durante 20 minutos mientras se mantenía la temperatura debajo de 4°C. La disolución se agitó 20 minutos a 4°C, 50 minutos a temperatura ambiente para dar una disolución de color amarillo limón, pH 8,1. La disolución se evaporó a 40°C. Se añadió H₂O (3 x 10 ml) y se evaporó. El producto se diluyó con agua (60 ml), la disolución se ajustó con NaOH hasta pH 8,0. La disolución se filtró a través de un filtro VacuCap y se purificó por TFF de la siguiente manera. La disolución de polímero se lavó primero con disolución de NaCl 25 mM (800 ml) para eliminar el p-nitrofenol. La disolución se lavó con agua (400 ml), luego se ajustó hasta pH 4 con HCl 0,1 M. La fracción retenida de TFF se recogió y el filtro se lavó con 2x10 ml de agua. La fracción retenida combinada y los lavados produjeron una disolución que se liofilizó para aislar el compuesto poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) en la forma de un sólido amarillo pálido (0,71 g, 72%).

Síntesis de N-[(2R)1-hidroxi-2-metilbutan-2-il]carbamoilfumagillol y Procedimiento general D



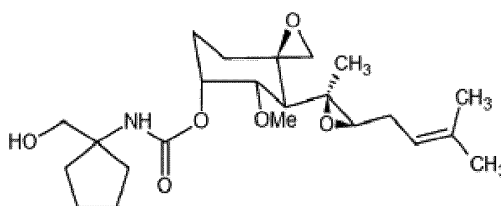
Una disolución de carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (400 mg, 0,89 mmol) y (R)-2-amino-3-metil-1-butanol (280 mg, 2,71 mmol) se agitó en etanol (10 ml) a temperatura ambiente durante 12 horas. La disolución amarilla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (metanol/cloruro de metileno) para dar N-[(2R)1-hidroxi-2-metilbutan-2-il]carbamoilfumagillol (340 mg, 0,83 mmol) en la forma de un aceite incoloro.

Síntesis de N-(6-hidroxihexil)carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



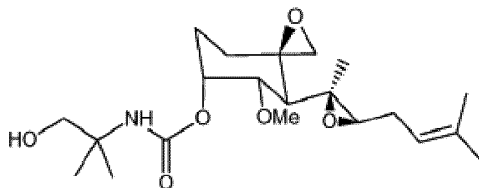
Se siguió el Procedimiento general D usando carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (150 mg) en etanol (10 ml) y 6-aminohexanol (48 mg). El producto se aisló en la forma de un aceite incoloro (110 mg, 78%).

Síntesis de N-[1-(hidroximetil)ciclopentil]carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



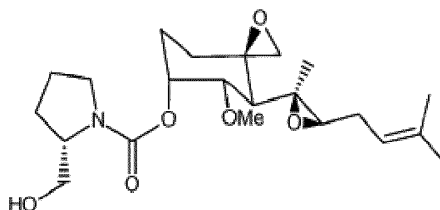
Se siguió el Procedimiento general D usando carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (100 mg) en etanol (3 ml) y THF (1 ml) y ciclopentanol (52 mg) para proporcionar N-[1-(hidroximetil)ciclopentil]carbamoilfumagillol en la forma de un aceite (50 mg).

Síntesis de N-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



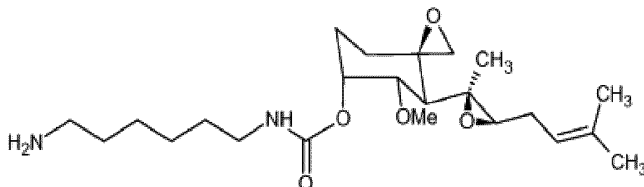
- 5 Se siguió el Procedimiento general D usando carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (100 mg) en etanol (3 ml) y THF (2 ml) y 2-amino-2-metilpropanol (40 mg) para proporcionar N-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)carbamoilfumagillol en la forma de un aceite (37 mg).

Síntesis de (2S)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de fumagill-6-ilo (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



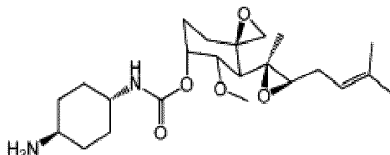
- 10 Se siguió el procedimiento general D. Se sometió a reacción S-prolinol (68 mg, 0,67 mmol) con carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (150 mg, 0,335 mmol) en etanol (4 ml). El producto se purificó por cromatografía ultrarrápida (metanol/cloruro de metileno) para producir (2S)-2-(hidroximetil)pirrolidina-1-carboxilato de fumagill-6-ilo (en la forma de una espuma blanca (81 mg, 63%).

Síntesis de N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



- 15 Se enfrió una disolución de 1,6-diaminohexano (0,13 g) en metanol (8 ml) hasta 0°C y se añadió gota a gota carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (0,13 g) en metanol (2 ml). El disolvente se redujo hasta aproximadamente 2 ml por evaporación rotatoria. Se añadió acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con agua, NaOH 0,1 N, agua, salmuera, y se secó con sulfato de sodio. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en etanol (15 ml). Se añadió ácido DL-tartárico (16 mg), la disolución se conservó durante la noche y luego se evaporó hasta aproximadamente 0,5 ml. Se añadió éter y se formó un sólido blanco. El sólido se recogió por filtración, se lavó con éter y se secó para dar la sal de tartrato de N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillol (74 mg).
- 20

Síntesis de [trans-(4-aminociclohexil)]carbamato de fumagill-6-ilo

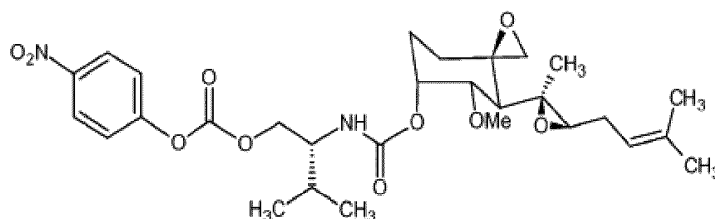


- 25 A una disolución de *trans*-1,4-diaminociclohexano (1,3 g) en metanol (80 ml) a 0-5 °C se le añadió durante 30 min una disolución de 4-nitrofenil carbonato de fumagill-6-ilo (1,0 g) en metanol (20 ml,) y CH₂Cl₂ (20 ml) y luego se agitó durante 30 minutos. Después de concentrar hasta 20 ml en un evaporador rotatorio y diluir con acetato de etilo (75 ml), la capa orgánica se lavó con agua (30 ml), NaOH 0,1 N (30 ml), agua y salmuera (30 ml), se secó (MgSO₄) y concentró a presión reducida para dar 0,78 g de un sólido. Esto se disolvió en etanol (80 ml) y se añadió ácido DL-tartárico (127 mg). Después de 1 hora se formó una disolución que se dejó reposar durante la noche antes de concentrarse a presión reducida para eliminar prácticamente todo el etanol. Se añadió MTBE (100 ml) y se concentró seguido de MTBE (30 ml). Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con MTBE (2 × 10 ml) y se secaron al vacío para dar hemi-tartrato de [*trans*-(4-aminociclohexil)]carbamato de fumagill-6-ilo (0,73 g); m.p. 180-185 °C.
- 30

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG- NH(CH₂)₆NH₂·HCl]

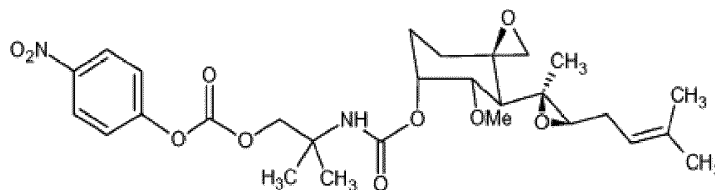
5 Se siguió el Procedimiento general C usando 1,6-diaminohexano (621 mg, 5.36 mmol) y poli(HPMA-co-MA-GFLG-ONp) (1,0 g). El producto bruto se purificó por TFF (5 K) usando NaCl acuoso (25 mM) y luego se acidificó hasta pH 4,0 con HCl 0.1 M y se purificó adicionalmente por TFF con agua para dar poli[HPMA-co-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NH₂·HCl] en la forma de un sólido blanquecino (860 mg).

Síntesis de carbonato de p-nitrofenil N-[(2R)1-hidroxi-2-metilbutan-2-il]carbamoilfumagill-6-ilo (un compuesto no de conformidad con la presente invención) y el Procedimiento general E



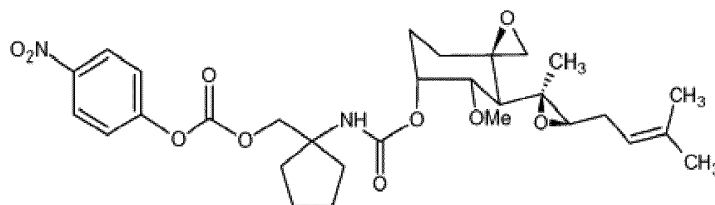
10 A una disolución del alcohol N-[(2R)1-hidroxi-2-metilbutan-2-il]carbamoilfumagillol (1,11 g) en cloruro de metileno a 0°C en N₂ se le añadió DMAP (660 mg, 5,40 mmol) seguido de la adición en porciones de cloroformato de p-nitrofenilo (810 mg). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hora. El disolvente se evaporó y el residuo resultante se disolvió en EtOAc y se lavó con agua, salmuera y se secó (Na₂SO₄). La evaporación de EtOAc provista por el producto
15 bruto, se purificó por cromatografía ultrarrápida (sílice, eluyendo con 100% hexanos y luego con 2-30% EtOAc). Las fracciones que contenían el producto bruto se combinaron y evaporaron para aislar N-[(2R)1-(p-nitrofenilcarbonilhidroxi-2-metilbutan-2-il]carbamoilfumagillol (1,25 g, 80%) en la forma de un sólido blanco.

Síntesis de N-[1-(p-nitrofenoxycarbonilhidroximetil)-2-metilpropan-2-il]carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



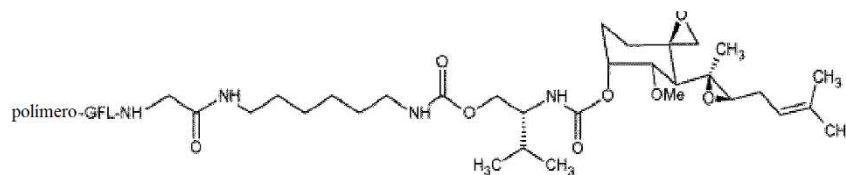
20 Siguiendo el Procedimiento general E, se sometieron a reacción dimetilalcohol (60 mg), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (46 mg) y DMAP (37 mg) en cloruro de metileno (8 ml). La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua (3x) y luego salmuera. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄) y evaporó para dar una espuma amarilla (87 mg) que se usó sin purificación adicional.

25 *Síntesis de N-[1-(p-nitrofenoxycarbonilhidroximetil)ciclopentil]carbamoilfumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)*



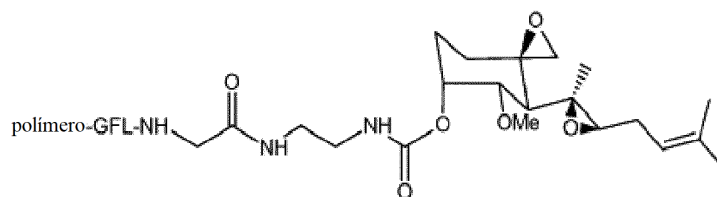
30 Siguiendo el Procedimiento general E, se sometieron a reacción N-[1-(hidroximetil)ciclopentil]carbamoilfumagillol (producto del Ejemplo 14, 74 mg), cloroformato de p-nitrofenilo (53 mg) y DMAP (43 mg) en cloruro de metileno (5 ml). Después del tratamiento de extracción, se usó N-[1-(p-nitrofenoxycarbonilhidroximetil)ciclopentil]carbamoil fumagillol (100 mg) sin purificación adicional.

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-NH(CH₂)₆NHcarbamoil-[1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención) y Procedimiento general F



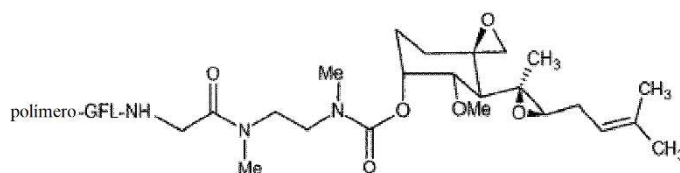
A una disolución de polímero (400 mg) y carbonato de p-nitrofenil N-[(2R)1-hidroxi-3-metilbutan-2-il]carbamoilfumagill-6-ilo (240 mg) en DMF (8 ml), a 0°C, se le añadió DIEA (0,11 g) gota a gota. La disolución se agitó a 0°C durante una hora y se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de 3 días, el disolvente se evaporó y se añadió agua (80 ml). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (500 ml total) hasta que no se detectó nada del carbonato de partida por MS. La fase acuosa se purificó por TFF (10 K) y la fracción retenida se liofilizó para dar el conjugado en la forma de un sólido blanco (380 mg, 77%).¹H NMR (DMSO-d₆): δ 8,25 (bs, 2H, amida-NH), 8,0 (bs, 1H, amida-NH), 7,70 (bs, 2H, amida-NH), 7,10-7,30 (m, 15H, Fenilalanina y amida-NH), 7,10 (bt, 1H, NH-Fum), 6,92 (bd, 1H, NH-Fum), 5,26 (m, H-5-Fum), 5,18 (bt, alqueno-Fum), 4,50-4,80 (m, 1H, fenilalanina alfa protón), 4,0-4,21 (m, 1H, leucina alfa protón), 3,50-3,84 (m, 19H), 3,29 (s, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (m, 28H), 2,51 (d, 1H, J = 4,4 Hz, H-2-Fum), 2,19 (m, 2H, alílico-Fum), 0,82-1,92 [m, 131H {1,84 (m, 2H, Fum), 1,72 (s, 3H, Fum-Me), 1,60 (s, 3H, Fum-Me), 1,09 (s, 3H, Fum-Me), 0,84 (dd, 6H, Fum-isopropilo)}].

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(2-aminoetil)carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



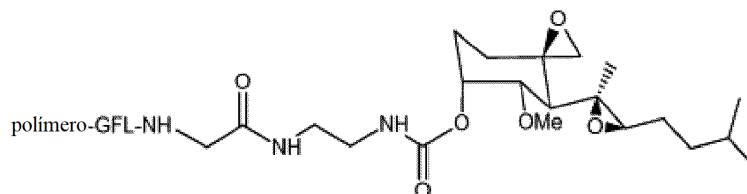
Se siguió el procedimiento general F usando poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 mg), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (100 mg) y DIEA (57 mg) en DMF (10 ml). El producto se purificó por TFF (10 K) con agua y se liofilizó para dar el conjugado en la forma de un sólido amarillo pálido (160 mg).

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N(Me)-(2-metilaminoetil)carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



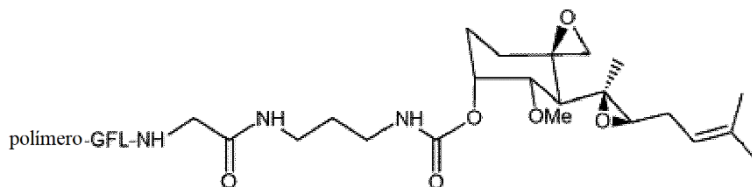
Se siguió el procedimiento general F usando poli(HPMA-co-MA-GFLG-N(Me)CH₂CH₂NHMe·HCl) (200 mg), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (100 mg) y DIEA (57 mg) en DMF (5 ml). El producto se purificó usando TFF (10 K) con agua y se liofilizó para dar el conjugado en la forma de un sólido blanquecino (180 mg).

Síntesis de poli(HPMA-co-MA-GFLG-N-(2-aminoetil)carbamoildihidrofumagillol (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



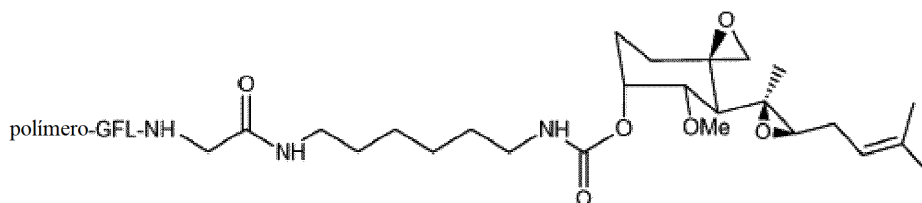
Se siguió el Procedimiento general F usando poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 mg), carbonato de p-nitrofenil dihidrofumagill-6-ilo (200 mg) y DIEA (57 mg) en DMF (10 ml). El producto se purificó por TFF (10 K) con agua (150 ml) y se liofilizó para dar poli(HPMA-co-MA-GFLG-N-(2-aminoetil)carbamoildihidrofumagillol) en la forma de un sólido amarillo pálido (160 mg).

- 5 *Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(3-aminopropil)carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)*



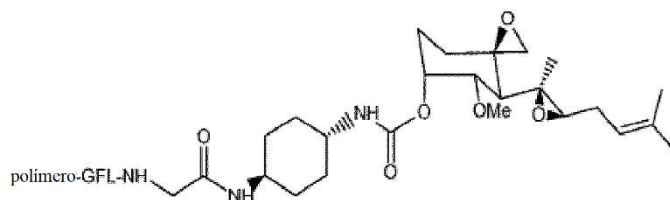
- 10 Se siguió el Procedimiento general F usando poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 mg), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (110 mg) y DIEA (63 mg) en DMF (6 ml). El disolvente se evaporó y la disolución resultante se diluyó con agua. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y se purificó por TFF usando 350 ml de agua. La fracción retenida se liofilizó para proporcionar poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(3-aminopropil)carbamoilfumagillol] en la forma de un polvo rosado ligero (200 mg).

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-aminohexil)carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



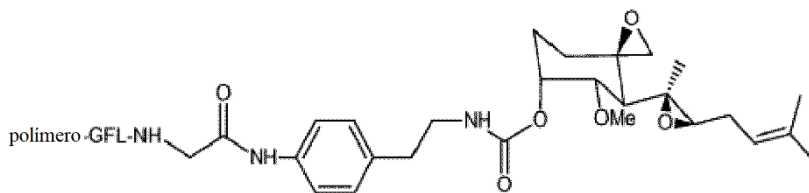
- 15 Se siguió el Procedimiento general F usando poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(trans-4-aminociclohexilamina·HCl)] (1,0 g), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (0,48 g) y DIEA (0,27 g) en DMF (25 ml). El disolvente se evaporó y la disolución se diluyó con agua. La fase acuosa (300 ml) se extrajo con acetato de etilo (700 ml totales) y se purificó por TFF usando 350 ml de agua adicionales. La fracción retenida se liofilizó para dar poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(4-aminociclohexil)carbamoilfumagillol] en la forma de un sólido rosado ligero (0,9 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 8,10-8,35 (m, 3H, amida-NH), 7,90-8,10 (m, amida-NH), 7,05-7,32 (m, 22H, amida-NH) 5,27 (m, H-5-Fum), 5,18 (bt, alqueno-Fum), 4,60-4,90 (m, 14H), 4,50-4,60 (m, 1H, fenilalanina alfa protón), 4,10-4,30 (m, 1H, leucina alfa protón), 3,40-3,80 (m, 21H), 3,27 (s, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,20 (m, 33H), 2,56 (d, 1H, H = 3,90 Hz, H-2-Fum), 2,18 (m, 2H, alílico-Fum), 0,37-2,0 [m, 147H {1,70 (s, 3H, Fum-Me), 1,60 (s, 3H, Fum-Me), 1,07 (s, 3H, Fum-Me)}].

- 25 *Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(trans-4-aminociclohexil)carbamoilfumagillol]*



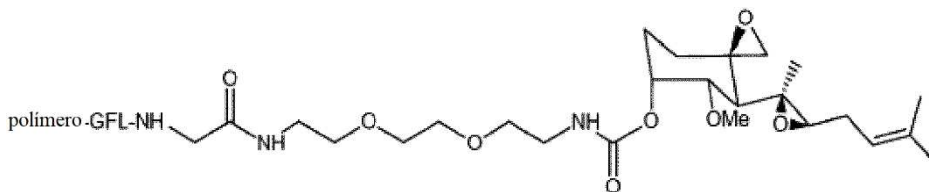
- 30 Se siguió el procedimiento general F usando poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(trans-4-aminociclohexilamina·HCl)] (1,0 g), carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (0,48 g) y DIEA (0,27 g) en DMF 25 ml. El disolvente se evaporó, y la disolución se diluyó con agua. La fase acuosa (300 ml) se extrajo con acetato de etilo (700 ml totales) y se purificó por TFF usando 350 ml de agua adicionales. La fracción retenida se liofilizó para dar poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(3-aminohexil)carbamoilfumagillol] en la forma de un sólido rosado ligero (0,9 g). ¹H NMR (DMSO-d₆): δ 7,90-8,35 (m, 4H, amida-NH), 7,0-7,70 (m, 25H, Fenilalanina y amida-NH), 5,26 (m, H-5-Fum), 5,18 (bt, alqueno-Fum), 4,60-4,90 (m, 14H), 4,50-4,60 (m, 1H, fenilalanina alfa protón), 4,10-4,30 (m, 1H, leucina alfa protón), 3,40-3,80 (m, 21H), 3,26 (s, 3H, OMe-Fum), 2,80-3,10 (m, 31H), 2,17 (m, 2H, alílico-Fum), 0,37-2,0 [m, 166H {1,69 (s, 3H, Fum-Me), 1,59 (s, 3H, Fum-Me), 1,07 (s, 3H, Fum-Me)}].

Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-[2-(4-aminofenil)etil]carbamoilfumagillol] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



5

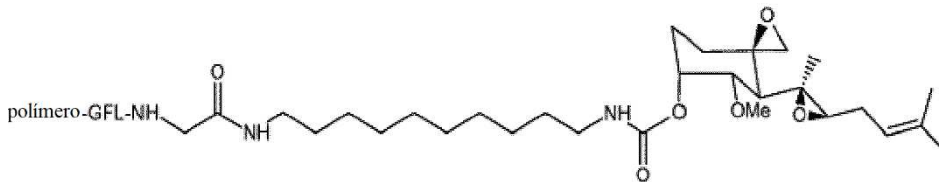
Síntesis de poli[HPMA-co-MA-GFLG-NH-2-[(2-(2-aminoetoxi)etoxi)etil]carbamoilfumagillo] (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



10

20

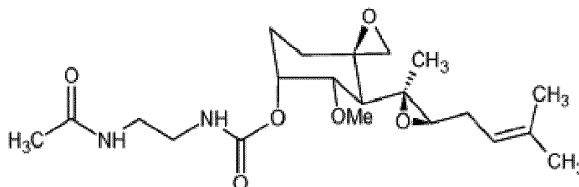
30



35

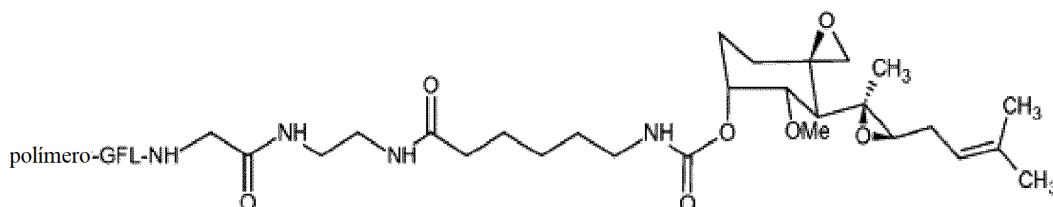
hidrocloruro de DIEA. La disolución de polímero se liofilizó para obtener el conjugado de polímero deseado poli[HPMA-co-MA-GFLG-NH-(10-aminodecil)carbamoilfumagilloil] (300 mg, 87%) en la forma de un sólido blanquecino.

Síntesis de N-(2-acetamidoetil)carbamoilfumagilloil (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



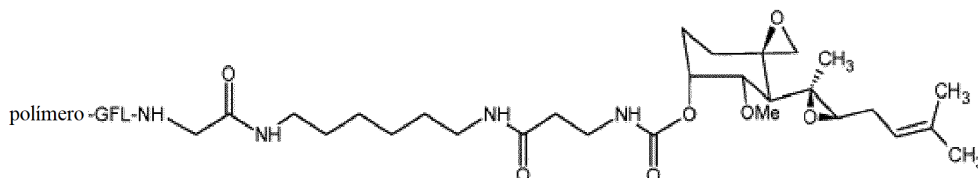
- 5 A una disolución de carbonato de p-nitrofenil fumagill-6-ilo (200 mg) en etanol (5 ml) a 0°C se le añadió N-(2-aminoetil)acetamida (0,132 ml). La disolución se agitó a 0°C durante una hora y durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua. La fase acuosa se re-extrajo con acetato de etilo, y las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄). El producto bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida. El producto fue un sólido amarillo (120 mg).

- 10 *Síntesis del siguiente compuesto (un compuesto no de conformidad con la presente invención)*



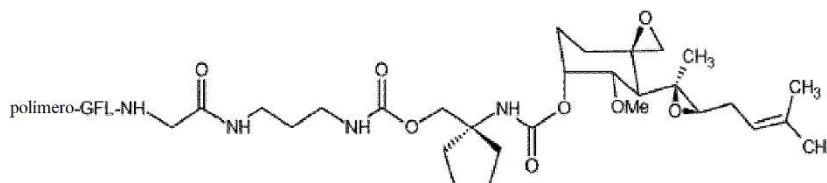
- 15 A una disolución de poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂NH₂·HCl) (200 mg) y N-(5-carboxypentil)carbamoilfumagilloil (96 mg) en DMF (6 ml) a 0°C se le añadió DIEA (104 mg) seguida de hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (42 mg). La disolución se dejó calentar a TA durante la noche. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (200 ml). La fase acuosa se purificó por TFF con agua (450 ml). La fracción retenida se liofilizó para dar el polímero (200 mg) en la forma de un sólido amarillo pálido.

Síntesis del siguiente compuesto (un compuesto no de conformidad con la presente invención)



- 20 A una disolución de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N(CH₂)₆NH₂·HCl] (216 mg), 2-carboxietilcarbamoilfumagilloil (91 mg) en DMF (8 ml) a 0°C se le añadió DIEA (118 mg) seguida de hidrocloruro de N-(3-Dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (88 mg). La disolución se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El disolvente se evaporó, y el residuo se disolvió en agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (200 ml). La fase acuosa se purificó por TFF (10 K) con agua (1 l). La fracción retenida se liofilizó para producir el polímero (170 mg) en la forma de un sólido amarillo pálido.

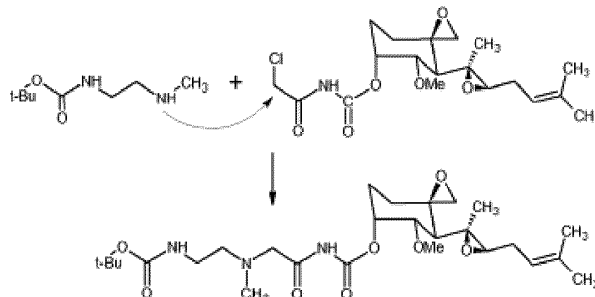
- 25 *Síntesis del siguiente compuesto (un compuesto no de conformidad con la presente invención)*



Se siguió el Procedimiento general F usando poli(HPMA-co-MA-GFLG-NHCH₂CH₂CH₂NH₂·HCl) (220 mg) y carbonato (Ejemplo 24, 100 mg) en DMF (6 ml) con DIEA (63 mg). La reacción se extrajo con acetato de etilo. Después de la

TFF (10 K), la purificación con agua y la liofilización, el producto se aisló en la forma de un polvo rosado ligero (140 mg).

BocNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂-fumagill-6-il (un compuesto no de conformidad con la presente invención) (Alquilación de N-BOC, N'-metiletilendiamina con cloroacetilcarbamoilfumagillol)

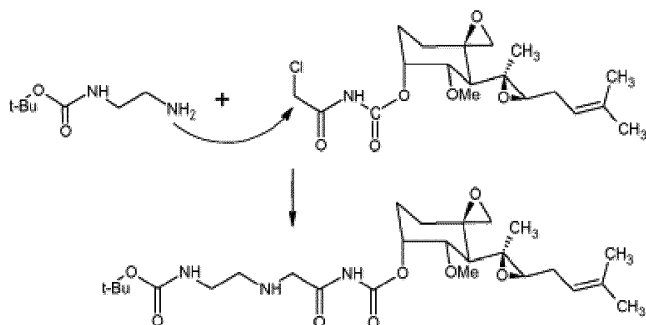


5

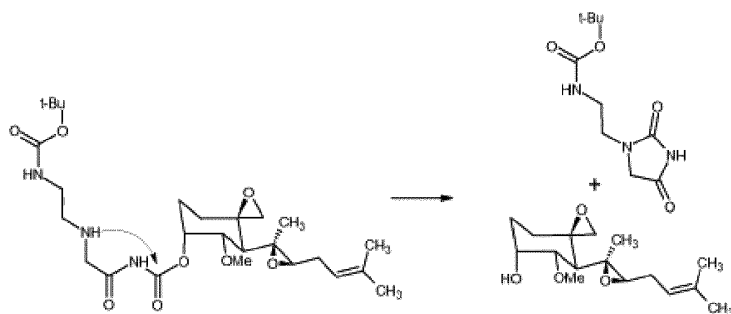
Una disolución de TNP-470 (0,2 g) y DIEA (0,105 g) en DMF (3 ml) se enfrió a 0°C. Se añadió una disolución de N-[2-(metilamino)etil]carbamato de terc-butilo (0,105 g) en DMF (3 ml), y la mezcla se agitó durante 3 horas a 0°C y luego durante la noche. La reacción se diluyó con acetato de etilo y se extrajo con agua. La fase acuosa se re-extrajo con acetato de etilo, y las fases orgánicas combinadas se extrajeron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se evaporaron para dar un aceite. La purificación por cromatografía en gel de sílice (metanol/cloruro de metileno) y la evaporación de las fracciones del producto proporcionaron BocNHCH₂CH₂N(Me)CH₂C(O)NHC(O)₂-fumagill-6-ilo como una espuma blanca (0,16 g, 60%).

10

Reacción de N-[2-aminoetil]carbamato de terc-butilo con cloroacetilcarbamoilfumagillol



15



Se añadió una alícuota de 30 ul de una disolución 1 M de Boc-etilendiamina en DMF a DMF (270 ul). La disolución se enfrió hasta 0°C, y se añadió gota a gota una disolución de TNP-470 (48 mg) en DMF (600 ul) durante 2 minutos. La reacción se vigiló por LC/MS. La cantidad más grande del producto de alquilación deseado observada fue 34%. Se produjo también carbamoilfumagillol. La relación del producto deseado a carbamoilfumagillol fue 1,0 a 0,4. El aislamiento intentado del producto deseado resultó en el aislamiento de hidantoína y fumagillol. Por consiguiente, el producto deseado no pudo aislarse debido a la tasa de descomposición. Por lo tanto, TNP-470 no pudo alquilarse de acuerdo con el método descrito.

20

25

Ensayo de ratones DIO C57Bl6 in vivo – Cambios de peso, consumo de alimentos, composición corporal

Ratones macho C57Bl6 (N=6) de 13 semanas de vida con un promedio de peso de 34 g se alimentaron a voluntad con una dieta rica en grasas, TD.06414, compuesta por 60% Kcal de grasa (dieta Harlan). El día 1 del estudio, los animales fueron aleatorizados en grupos de manera tal que el peso promedio de cada grupo fuera 33,9 g. Los ratones fueron tratados o bien con disolución salina tamponada con fosfato (vehículo), TNP-470 o el Compuesto 16 (administración subcutánea, dorsal). El tratamiento continuó durante 31 días según las dosis y esquemas que se muestran en la Tabla que sigue. Los animales fueron pesados día por medio. El consumo de alimento se midió semanalmente. El día 33, se efectuó patología macroscópica para determinar la composición corporal.

La Figura 1 compara el adelgazamiento en un ratón DIO obeso después del tratamiento con un compuesto conjugado de fumagillol de la presente invención (Compuesto 16) o TNP-470 (análogo de fumagilina sintético) en distintas dosis/esquemas como se expone en la Tabla 2.

Tabla 2

Peso corporal día 33	Dosis mg/kg/día	Dosis*	Esquema	Fármaco
39.6	0	0	qod	Vehículo
34.1	0.5	1.12	qod	TNP-470
30.4	0.5	0.18	qod	Compuesto 16
27.4	1.5	0.56	q4d	Compuesto 16
*Dosis diaria como micromoles/kg Fumagillol				

Los resultados de la Figura 1 muestran un incremento en el peso en el grupo control de vehículo de 16% y una reducción de peso de 19 % cuando se administra el Compuesto 16 en un esquema de administración q4d. La administración del compuesto 16 proporciona efectos tanto terapéuticos como profilácticos. Concretamente, el compuesto 16 induce o aumenta el adelgazamiento y también previene el aumento de peso. El Compuesto 16 es superior a TNP-470 en el grado de adelgazamiento. El Compuesto 16 es superior a TNP-470 en el sentido que se reducen las dosis de fumagillol.

La Tabla 3 compara la composición de grasa corporal en un ratón DIO obeso después del tratamiento con el Compuesto 16 o TNP-470 en las distintas dosis/esquemas descritos en este documento. El análisis se realizó el día 33 de la patología macroscópica. El porcentaje de grasa total de peso corporal en el grupo vehículo fue 13,2% mientras que la grasa total en los grupos tratados con el Compuesto 16 fue 8,2% (1 mg/kg qod) o 5,6% (6 mg/kg q4d).

Tabla 3. Pesos en gramos, promedios grupales

	P.C.	Grasa total	Grasa epididimal	Grasa inguinal	Grasa retroperitoneal	Hígado
Vehículo	39.6	5.24	2.21	1.93	1.10	1.46
TNP qod	34.1	3.55	1.54	1.21	0.80	1.15
Comp 16 1 mg/kg/qod	30.4	2.52	1.18	0.92	0.42	1.10
Comp 16 6 mg/kg.q4d	27.4	1.55	0.78	0.53	0.23	1.17

La Figura 2 compara el consumo de alimento diario promedio en un ratón DIO obeso después del tratamiento con el Compuesto 16 o TNP-470 en distintas dosis/esquemas. Los resultados de la Figura 2 muestran la reducción del consumo de alimentos después del tratamiento con el Compuesto 16, y el Compuesto 16 causa una mayor reducción en el consumo de alimentos que TNP-470.

La Figura 3 compara la composición corporal (grasa frente a peso corporal) en un ratón DIO obeso después del tratamiento con el Compuesto 16 o TNP-470 en distintas dosis/esquemas. Los resultados de la Figura 3 muestran que la cantidad de peso corporal perdido se correlaciona directamente con la pérdida de grasa.

Ensayos in vivo de ratones DIO C57B16 – Cambios de peso, consumo de alimentos, tolerancia a la glucosa y respuesta a la dosis en la composición corporal

Ratones macho C57B16 (N=6) de 15 semanas de vida con un peso promedio de 42 g recibieron alimento a voluntad, TD.06414, una dieta rica en grasas compuesta por 60% Kcal de grasa (dieta Harlan). El día 1 del estudio, los animales fueron tratados con disolución salina tamponada con fosfato (vehículo) o con el Compuesto 16 en distintas dosis (administración subcutánea, dorsal). El tratamiento continuó durante 29 días en las dosis y esquemas que se muestran en la Tabla que sigue. Los animales se pesaron día por medio. El consumo de alimento se midió semanalmente. El día 24 (ratones que habían sido tratados recientemente con el Compuesto 16 en el día 21) se administró una prueba de tolerancia a la glucosa IP en ayunas durante toda la noche (GTT) al grupo vehículo y a los cuatro grupos de tratamiento con el Compuesto 16. Cada animal fue pesado y se obtuvo una medición inicial de la glucosa en ayunas. Cada animal recibió una dosis de 1 gramo por kilogramo de dextrosa como una disolución al 25% por inyección intraperitoneal. Los niveles de glucemia se midieron a los 15 minutos, 30 minutos, 60 minutos, 90 minutos y 120 minutos de la administración IP de glucosa (vía muestras de sangre de la vena del rabo, usando un sistema de monitoreo de glucemia AlphaTRAK (incluye un glucómetro y tiras reactivas) de Abbott Laboratories, (North Chicago, Illinois, EE. UU.)). El glucómetro AlphaTRAK exhibe resultados entre 20 y 750 mg/dl (1,1 – 41,7 mmol/l). El día 32 (ratones que habían recibido recientemente la dosis el día 29) se mantuvo a los animales en ayunas por tres horas, se pesaron, se tomaron muestras de sangre por punción cardíaca, y se efectuó la patología macroscópica para determinar la composición corporal. El análisis de sangre fue realizado por laboratorios Idexx. La glucemia fue 278, 290, 265, 259 y 227 mg/dl para dosis de 0, 0,2, 0,6, 2,0 y 6,0 respectivamente. BUN fue 21,8, 22,0, 19,7, 15,3 y 16,5 para dosis de 0, 0,2, 0,6, 2,0 y 6,0 respectivamente.

La Tabla 4 muestra el nivel de glucemia en función del tiempo y la dosis del Compuesto 16. La Tabla 4 muestra que dosis superiores del Compuesto 16 resultan en niveles de glucemia inferiores incluso con la dosis más baja de 0,2 mg/kg; estos resultados se exhiben en la Figura 4.

4 Glucemia, promedio grupal

Dosis	Promedio	Glucemia mg/dl promedio±SEM grupos					
mg/kg	BW(g)	Ayuno	15 min	30 min	60 min	90 min	120
Vehículo - 0	43.0	226±22.9	502±30.3	621±38.4*	580±48.7*	459±54.0	297±33.7
0.2	43.4	254±5.8	505±33.9	446±20.5	456±25.9	341±15.5	241±16.8
0.6	40.9	206±14.9	442±50.0	441±35.54	388±56.7	302±43.3	192±12.9
2.0	36.8	198±11.6	388±20.7	361±24.3	327±26.7	244±24.0	166±6.4
6.0	33.0	185±6.5	473±39.1	355±23.8	324±19.1	240±6.7	177±9.3
*un ratón en cada grupo exhibió glucemia >750 mg/dl; tratado como igual a 750 mg/dl							

La Tabla 5 muestra que aumentar la dosis del Compuesto 16 produce incrementos significativos en el adelgazamiento en dosis mayores que 0,2 mg/kg q4d. La Tabla 6 muestra que las dosis de 2 mg/kg q4d y 6 mg/kg q4d se asociaron con reducciones significativas en el consumo de alimento, en relación con los controles vehículo, y que el consumo de alimento es sensible a la dosis. A partir del día 9-29, el consumo de alimento semanal en el grupo de 2 mg/kg fue 90% del vehículo, mientras que el consumo de alimento en el grupo de 6 mg/kg fue 75% del vehículo.

Tabla 5. Pesos corporales en el día 32

Dosis mg/kg	Grupo PC (g) ± SEM	Cambio de peso desde el día 1	Fumagilol*
Vehículo - 0	45.7±1.12	+8.3%	0.00

Dosis mg/kg	Grupo PC (g) $\pm$ SEM	Cambio de peso desde el día 1	FumagilloI*
0.2	46.5 $\pm$ 0.65	+10.5%	0.02
0.6	43.3 $\pm$ 0.42	+2.9%	0.06
2.0	38.8 $\pm$ 0.70	-7.4%	0.18
6.0	33.6 $\pm$ 0.72	-20.0%	0.54
* micromoles/kg/día; administración q4d			

Tabla 6. Consumo de alimento semanal, promedio grupal

	Día 1-8	Día 9-15	Día 15-22	Día 22-29
Grupo	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)
Vehículo	22.4	23.3	22.4	21.5
0,2 mg/kg	25.8	22.6	20.3	19.7
0,6 mg/kg	19.5	21.5	20.2	18.4
2 mg/kg	14.3	22.2	19.9	18.5
6 mg/kg	9.0	17.5	17.8	16.1

5 La Tabla 7 muestra que el tejido adiposo se pierde con preferencia a otros tejidos, ya que los ratones del grupo control tienen aproximadamente 13% de grasa, mientras que los ratones en el grupo de 2 mg/kg q4d y el grupo de 6 mg/kg q4d tienen 11% y 10% de grasa, respectivamente.

Tabla 7. Pesos del tejido en el día 32, promedios grupales

Dosis mg/kg	PC promedio (g)	Grasa total promedio	Promedios de pesos de los tejidos (g)				Grasa % PC
			Grasa epid.	Grasa ing	Grasa RP	Hígado	
0.0	45.70	5.88	1.88	2.65	1.35	2.0	12.9%
0.2	46.50	6.02	2.01	2.54	1.48	2.06	13.0%
0.6	43.32	6.01	2.24	2.51	1.26	1.75	13.9%
2.0	38.82	4.42	1.72	1.81	0.89	1.44	11.4%
6.0	33.60	3.25	1.11	1.54	0.60	1.30	9.7%

10 Los resultados de la Figura 5 demuestran el aumento del adelgazamiento después del tratamiento con el Compuesto 16 en dosis mayores o iguales que 0,6 mg/kg utilizando un esquema q4d. El adelgazamiento es sensible a la dosis, dosis más elevadas provocan pérdida de peso mayor.

Los resultados de la Tabla 8 muestran reducciones en los niveles de colesterol, triglicéridos, HDL, LDL y relaciones HDL/LDL asociados con el aumento de la dosis del Compuesto 16. Estos resultados se exponen en la Figura 6.

Tabla 8. Lípidos en la sangre en el día 32

Dosis mg/kg	COLESTEROL mg/dl	TRIGLÍCERIDO mg/dl	COLESTEROL HDL mg/dl	LDL mg/dl	relación HDL/LDL
0	244±12.6	140±7.7	112±4.0	24±2.2	4.8±0.4
0.2	253±8.4	158±10.9	117±2.7	24±1.1	4.9±0.2
0.6	210±3.7	116±3.1	106±1.2	20±0.3	5.4±0.1
2	149±4.7	95±8.7	92±2.6	10±0.5	9.0±0.4
6	109±2.6	81±13.6	72±1.3	8±0.5	9.0±0.5
Los valores son ± SEM					

- 5 Los resultados de la Tabla 9 muestran cambios favorables en fosfatasa alcalina, SGPT, SGOT y CPK asociados con el aumento de la dosis del Compuesto 16.

Tabla 9. Análisis de enzimas en la sangre

Dosis mg/kg	FOSFATASA ALCALINA	SGPT (ALT)	SGOT (AST)	CPK
0	61±1.2	74±11.2	72±5.4	34±2.5
0.2	51±3.2	79±16.8	77±10.1	74±18.5
0.6	44±1.4	50±2.3	57±2.4	66±11.3
2	43±2.4	35±3.1	53±3.7	68±17.8
6	36±0.9	42±5.9	59±2.2	84±13.3

Ejemplo

- 10 Ratones macho C57B16 (N=6) de 15 semanas de vida con un peso promedio de 42 g recibieron alimento a voluntad, TD.06414, una dieta rica en grasas compuesta por 60% Kcal de grasa (dieta Harlan). El día 1 del estudio, los animales fueron tratados según un esquema q4d con disolución salina tamponada con fosfato (vehículo), o con los Compuestos 16, 28, 29 o 30 en dosis de 2 mg/kg, o con el Compuesto 31 a 6 mg/kg (administración subcutánea, dorsal). Los animales se pesaron día por medio. La Figura 10 compara la pérdida de peso en un ratón DIO obeso después del tratamiento durante 23 días con distintos conjugados de la presente invención. Los resultados de la Figura 10 muestran que los cambios en el enlazador solo provocan cambios en el grado de adelgazamiento.

Ejemplo

- 20 Ratitas macho Sprague Dawley (N=3) de 9 a 10 semanas de vida con un peso promedio de 300 g recibieron una dieta para roedores estándar a voluntad (dieta de laboratorio PharmaServ 5001). Figura 7 – Las ratas recibieron tratamiento con el Compuesto 16, o bien 100 mg/kg o 200 mg/kg (IV, vena del rabo), los días 1, 8, 15, 22 y 29. Las ratas fueron pesadas periódicamente, y se les extrajo sangre el día 10, el día 17, el día 24. Para recolecciones de sangre en vivo, las ratas fueron anestesiadas con una mezcla de inhalación de 4% Isoflurano y 1,5% oxígeno, luego se recogió la sangre por punción del plexo retro-orbital en un volumen de por lo menos 1 ml. El día 31, los animales se pesaron, se extrajo sangre por punción cardíaca y se realizó la patología macroscópica para determinar la composición corporal.
- 25 Dentro de los límites de comparación con intervalos normales y datos previos a la dosis, los hallazgos clínicos para albúmina, relación albúmina/globulina, fosfatasa alcalina, ALT (SGPT), AST (SGOT), bicarbonato, bilirrubina directa,

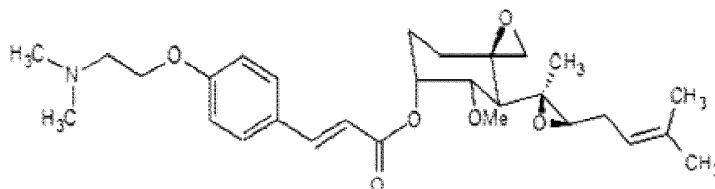
bilirrubina indirecta, bilirrubina total, BUN, relación BUN/creatinina, cloruro de calcio, colesterol, CK, creatinina, globulina, glucosa, fósforo, potasio, sodio, relación sodio/potasio, proteína total fueron insustanciales. Más allá de la pérdida de peso y los otros hallazgos descritos en este documento, los animales lucieron normales y no exhibieron evidencias de neurotoxicidad tales como ataxia, desorientación, temblores o convulsiones. Los resultados de la Figura 7 muestran que el Compuesto 16 se tolera en altas dosis en un esquema de administración q7d.

Ejemplo

Ratas macho Sprague Dawley (N=3, promedio de peso 350 g) recibieron una dosis de un solo bolo IV de vehículo, Compuesto 1 (30 mg/kg) o Compuesto 16 (200 mg/kg). Se extrajeron muestras de sangre por punción de la vena safena a las 0, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 24 y 48 horas. Se diluyó una alícuota de cada muestra con metanol que contenía propranolol como el estándar interno y se analizó por LC/MS/MS con un límite inferior de cuantificación de 2,5 nM. En el caso de administración del Compuesto 1 o el Compuesto 16, el analito fue el Compuesto 1. La semivida del Compuesto 1 de moléculas pequeñas oscila entre 10 y 15 minutos; la $C_{máx}$ es aproximadamente 15 μ M y ocurre a T_0 . Para el conjugado de polímero, el Compuesto 16, la molécula pequeña liberada exhibe una $C_{máx}$ de aproximadamente 0,3 μ M a aproximadamente 3 horas y una semivida de eliminación terminal de 10 horas. Estos resultados se exponen en la Figura 9.

Ensayos in vivo ilustrativos en ratas DIO Levin – Cambios de peso, consumo de alimento, composición corporal, esquema-respuesta a la dosis, niveles de leptina

Se realizó un estudio para evaluar la eficacia relativa del conjugado de polímero fumagillol, Compuesto 16, y los derivados de fumagillol de moléculas pequeñas, el Compuesto 1 y CKD-732 (también conocido como beloranib y ZGN-433). CKD-732, según se hace referencia en este documento, es la sal de hemitartrato de la siguiente estructura:



El Compuesto 1 también se ensayó en la forma de la sal de hemitartrato.

Se administraron los artículos de prueba por vía subcutánea en un esquema cada 4 días (q4d) en un modelo de rata Levin-DS de obesidad inducida por la dieta (DIO). La eficacia del Compuesto 16 también se evaluó en un esquema de administración semanal (q7d). Se incluyó una intervención dietaria (Comida Estándar, Labdiet 5001; 3,4 kcal/g) para comparar las intervenciones del fármaco. Tras el arribo a las tres semanas de vida, las ratas macho recibieron gránulos a voluntad de Dieta Harlan TD.06414, 60% de calorías de grasa, 21% de calorías de carbohidratos; 5,1 kcal/g. Antes de la administración, las ratas fueron aleatorizadas en grupos de tres animales con un peso corporal promedio de 595 gm. Las ratas fueron tratadas con disolución salina tamponada con fosfato (vehículo), Compuesto 16 o Compuesto 1, o CKD-732 (administración subcutánea, dorsal). El Compuesto 16 se disolvió en vehículo. El Compuesto 1 en la forma del hemitartrato y CKD-732 en la forma del hemitartrato se disolvieron en etanol antes de la dilución con vehículo. Todas las dosis se administraron en un volumen de 5,0 ml/kg. El tratamiento continuó durante 68 días en las dosis y esquemas que se muestran en la Tabla 10 que sigue. Ya que el peso molecular de CKD-732 es 15% mayor que el peso molecular del Compuesto 1, se administró CKD-732 a 1,15 mg/kg mientras que el Compuesto 1 se administró a 1 mg/kg para fines comparativos en una base molar. El día 1, primera dosis, las ratas tenían 14 semanas de vida. También el día 1, el Grupo 2 se cambió de dieta rica en grasas a dieta con comida estándar; el resto de los grupos se mantuvo bajo una dieta rica en grasas durante todo el estudio.

Tabla 10

Grupo #	Artículo de ensayo	# de ratas	Ruta	Dieta	Frecuencia de la dosis	Volumen de la dosis (ml/kg)	Conc. (mg/ml)	Dosis (mg/kg)
1	Vehículo	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0	0
2	Vehículo	3	SC	Standard	q4día	5.0	0	0
3	Comp. 16	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.067	0.3

Grupo #	Artículo de ensayo	# de ratas	Ruta	Dieta	Frecuencia de la dosis	Volumen de la dosis (ml/kg)	Conc. (mg/ml)	Dosis (mg/kg)
4	Comp. 16	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.2	1.0
5	Comp. 16	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.6	3.0
6	Comp. 16	3	SC	60% grasa	q7día	5.0	1.2	6.0
7	Comp. 1	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.2	1.0
8	Comp. 1	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.6	3.0
9	CKD-732	3	SC	60% grasa	q4día	5.0	0.23	1.15

Los animales se pesaron día por medio. El consumo de alimento se midió semanalmente. Aproximadamente en forma semanal durante el estudio, se tomaron muestras de sangre para evaluación de las químicas del suero, incluidas glucosa e insulina. El día 48, todas las ratas se sometieron a una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ayunas durante 4 horas (OGTT). Los animales recibieron una administración oral (por boca, PO) de 8 ml/kg 25% glucosa (2 g/kg). El día 68, se efectuó la patología macroscópica para determinar la composición corporal.

La Figura 11 muestra el cambio en el peso corporal frente al día del estudio para cada grupo. Se observó una reducción significativa del peso corporal en ambos grupos de tratamiento a los que se les administró conjugado de polímero Q4D y Q7D. El tratamiento con el Compuesto 16 a 3 mg/kg (Q4D) o 6 mg/kg (Q7D) demostró una mayor pérdida de peso que el cambio a una comida estándar. Al final del estudio, el Compuesto 16 a 3 mg/kg en un esquema Q4D demostró un peso corporal 22,1% inferior que el control vehículo, y un peso corporal 6,2% inferior que las ratas de la dieta con comida estándar. Después de aproximadamente diez semanas, el tratamiento con el Compuesto 16 a 6 mg/kg en un esquema Q7D demostró un peso corporal comparable al tratamiento con dosis de 3 mg/kg en un esquema Q4D. El Compuesto 1 administrado a 1 mg/kg y CDK-732 administrado a 1,15 mg/kg en un esquema Q4D exhibieron una reducción de los pesos corporales de 3,9% o 3,2% inferior al vehículo. El Compuesto 1 administrado a 3 mg/kg en un esquema Q4D demostró un peso corporal 8,9% inferior que el vehículo. Los conjugados de polímero son aproximadamente 1/6^o del derivado de fumagillol activo en peso.

La Figura 12 muestra el peso corporal final del día 68 para todos los grupos en función de la exposición a fumagillol diaria promedio. Tanto el Vehículo como la Dieta Estándar no tuvieron exposición al fumagillol. El Compuesto 16 muestra mayor pérdida de peso con significativamente menos exposición al fumagillol, en comparación con el Compuesto 1 o CKD-732 bajo el mismo esquema que el conjugado de polímero. Todos los grupos recibieron un esquema Q4D, excepto por el Compuesto 16 a 6 mg/kg, que se administró Q7D.

Tabla 11, Promedio (n=3) PC final de ratas *DIO* (g) en función de la dosis de fumagillol

Adelgazamiento frente a exposición después de 6B días de intervención				
Grupo	Dosis (mg/kg)	Esquema	µM Fumagillol kg/día	PC final (g)
Vehículo HF	0	q4d	0	742.3
Dieta estándar	0	q4d	0	645.0
Comp. 16	0.3	q4d	25	727.3
Comp. 16	1.0	q4d	83	668.6

Adelgazamiento frente a exposición después de 6B días de intervención				
Grupo	Dosis (mg/kg)	Esquema	µM Fumagillol kg/día	PC final (g)
Comp. 16	3.0	q4d	250	604.7
Comp. 16	6.0	q7d	286	596,7
Comp. 1	1.0	q4d	500	717.3
Comp. 1	3.0	q4d	1500	684.0
CKD-732	1.15	q4d	500	714.0

La Figura 13 muestra reducciones en los niveles de insulina en suero en ratas Levi DIO macho mantenidas bajo una dieta 60% en grasa con los compuestos de la presente invención en un esquema de q4d (3 mg/kg) y q7d (6 mg/kg) en comparación con una intervención de dieta estándar y el grupo vehículo.

5

Tabla 12: Promedio (n=3) insulina ratas *DIO* en función del tiempo

Insulina promedio (ng/ml) en ratas Levin DIO macho					
	Pre-dosis	Día 7	Día 15	Día 23	Día 48
Vehículo	1.74	2.66	3.37	3,15	3.00
Dieta estándar	1.96	1.68	1.40	1.78	1.51
Comp. 16, 0,3 mg/kg	1.76	2.27	1.65	1.66	1.70
Comp. 16, 0,6 mg/kd	2.95	2.09	1.38	1.72	1.91
Comp. 16 3 mg/kg	1.49	0.66	0.54	1.26	1.03
Comp. 16 6 mg, q7d	3.06	1,96	1.00	1,11	1.32
Comp. 1,1 mg/kg	1.92	1.83	1,39	1,20	1.75
Comp. 1, 3 mg/kg	2.10	1.35	1.68	1.27	1.40
CKD-732, 1,15 mg/kg	2.58	2.08	1.91	1.60	1.56

La Tabla 12 muestra los cambios en los niveles de insulina en ayunas para cada grupo. Todos los grupos (excepto el grupo control vehículo) exhibieron niveles reducidos de insulina, lo que demuestra que los Compuestos de la presente invención reducen los niveles de insulina en un esquema de administración infrecuente.

10

La Figura 14 muestra los resultados de una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) sobre los niveles de insulina en ratas tratadas con los compuestos de la presente invención en un esquema q4d y q7d en comparación con la intervención de dieta estándar y los grupos vehículo. La intervención de dieta estándar también resultó en niveles de insulina inferiores. Los niveles de insulina permanecieron reducidos frente al vehículo, en presencia de niveles de glucosa anormalmente altos, lo que indica que se necesitaron niveles inferiores de insulina para reducir la glucemia (véase la Figura 15) sugiriendo una mejor o restaurada sensibilidad a la insulina.

15

La Figura 15 muestra niveles de glucosa reducidos frente al tiempo para diversos tratamientos después de una ingesta de glucosa.

Tabla 13. Niveles de glucemia después de una prueba de tolerancia a la glucosa oral (OGTT) en ratas *DIO* bajo una dieta con 60% grasa

Glucemia (mg/dl) en ratas Levin macho durante una prueba de tolerancia a la glucosa							
Tiempo grupal	pre-OGTT	15	30	60	90	120	PC (g)
Vehículo HF	126	158	153	163	160	132	702
Dieta estándar	110	147	145	134	124	129	617
Comp. 16, 0,3 mg/kg	121	156	145	157	149	147	697
Comp. 16, 0,6 mg/kg	121	150	148	149	143	150	662
Comp. 16 3 mg/kg	120	157	144	140	127	129	582
Comp. 166 mg, q7d	128	161	141	145	145	138	604
Comp. 1, 1 mg/kg	124	155	142	152	151	142	686
Comp. 1, 3 mg/kg	123	175	171	149	147	129	668
CKD-732, 1,15 mg/kg	123	174	171	158	153	144	686

La Figura 16 muestra el producto de glucosa (mM/L) x insulina (uU/ml)/22,5 en ratas Levin DIO macho como un parámetro aceptado de sensibilidad a la insulina (Matthews et al., Diabetologia (1985) 28, 412 + 419; Pickavance et al., British Journal of Pharmacology (1999) 128, 1570 ± 1576).

Tabla 14. Cálculo HOMA-ir para ratas *DIO*

HOMA-ir (sensibilidad a la insulina)			
	Pre-dosis	15 min	30 min
Vehículo HF	26.7	73.6	24.3
Dieta estándar	11.7	36.5	11.7
Comp. 16 0,3 mg/kg	14,6	40.1	10.8
Comp. 16, 1 mg/kg	16.4	50.1	16.1
Comp. 16, 3 mg/kg	9.2	13.7	4.6
Comp. 16, 6 mg, q7d	12.0	37.2	3.5
Comp. 1, 1 mg/kg	15.4	42.7	21.1
Comp. 1, 3 mg/kg	12.2	29.2	9.5
CKD- 732, 1,15 mg/kg	13.6	49.0	35.9

La hormona leptina de los adipocitos es un supresor del apetito conocido. Se sabe que la resistencia a la leptina (niveles anormalmente altos independientes de la ingesta de alimento) ocurre en pacientes y animales con obesidad dietaria (Levin et al., Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2002 Oct; 283(4):R941-8). Los niveles bajos de leptina se han asociado con hiperfagia dietaria (Sindelar et al., 1999, Enriori et al., 2006). El consumo de alimentos se midió semanalmente. Los niveles de leptina sérica se midieron el día 29 y se trazaron contra el consumo de alimentos para la semana que contenía el día 29. Los animales bajo una dieta de comida estándar fueron hierpfágicos y exhibieron una ingesta alimentaria significativamente mayor que los compuestos de la presente invención. El tratamiento con el

Compuesto 1 no produjo reducciones significativas en los niveles de leptina. La Figura 17 muestra el consumo de alimento semanal en gramos para cada grupo. El grupo de comida estándar exhibió un incremento significativo de la ingesta de alimentos después del cambio de una dieta rica en grasas a una dieta estándar. Se sabe que la hiperfagia ocurre con el fin de mantener la ingesta calórica.

5

Tabla 15. Consumo de alimentos

	Día 1-8	Día 9-15	Día 16-23	Día 24-30	Día 31-36	Día 37-43	Día 44-56	51-52	Día 58-63	Día 63-68
Grupo de dosis	alimento (g)	Alimento (g)	alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)	Alimento (g)
Vehículo	119.7	136.8	146.9	113.6	124.0	129.4	120.9	131.8	117.9	99.0
Dieta estándar	108.1	158.6	204.7	174.6	194.8	201.8	250.4	208.3	201.1	120.6
Comp. 165, 0,3 mg/kg	126.2	125.9	128.2	129.3	122.4	331.9	135,6	134.5	134.2	52.6
Comp. 16, 0,6 mg/kd	123.2	101.0	109.7	122.3	123.8	116.6	118.2	123.1	130.7	43.9
Comp. 16, 3 mg/kg	97.3	63.2	123.4	108.7	10.2.6	105.5	129.9	115.2	128.0	43.3
Comp. 16, 6 mg, q7d	105.2	48.3	43.9	139.8	117.4	126.3	81.2	107.5	107.7	19.8
Comp. 1, 1 mg/kg	128.6	109.3	121.1	145.9	144.6	141.7	122.4	147.7	140.7	55.1
Comp. 1, 3 mg/kg	123.6	98.9	110.1	149.3	138.8	130.9	94.7	116.2	124.9	49.8
CKD-732 1,15 mg/kg	131.8	110.5	108.7	133.9	153.9	148.7	112.3	135.0	125.5	61.9

La Figura 18 muestra cambios desde la situación inicial en los niveles de leptina en ratas Levin DIO macho bajo una dieta rica en grasas y tratadas con los conjugados de la presente invención o con una intervención de comida estándar. Se observó una respuesta dependiente de la dosis en el cambio en los niveles de leptina desde la situación inicial para el Compuesto 16.

10

Tabla 16. Cambios en los niveles de leptina desde la situación inicial

Niveles de leptina, día 29, cambios desde la situación inicial			
Grupo	% Cambio	Pre-dosis	Día 29
Vehículo HF	5.3%	4.43	4.67
Dieta estándar	-63.9%	3.33	1.20
Comp. 16 0,3 mg/kg.	30.3%	2.53	3.30
Comp. 16, 1 mg/kg	-2.9%	4.67	4.53
Comp. 16, 3 mg/kg	-45,0%	2.47	1.36
Comp. 16, 6 mg, q7d	-49.2%	3.93	2.00
Comp. 1,1 mg/kg	-1,3%	2.50	2.47
Comp. 1,3 mg/kg	11.3%	3.23	3.60
CKD-732, 1,15 mg/kg	-3.0%	4.43	4.30

Ejemplo: ensayos in vivo en ratones DIO – Cambios de peso, consumo de alimento, esquema-respuesta de la dosis

- 5 Ratones C57B1/6 macho (N=9/grupo) de 21 semanas de vida con un peso promedio de 46,8 g se alimentaron a voluntad con una dieta rica en grasas compuesta por 60% Kcal de grasa. La administración a los animales se realizó de conformidad con el esquema de la Tabla 17 que sigue.

Tabla 17

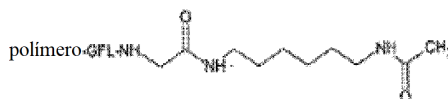
Grupo	Tratamiento	Dosis	Vehículo	Frecuencia
		mg/kg		
1	Vehículo-1	0	PBS	q4d
2	Polímero	12	PBS	q4d
3	Compuesto 16	2	PBS	q4d
4	Compuesto 16	6	PBS	q4d
5	Compuesto 16	12	PBS	q8d*
6	CKD-732	1	Vehículo-2	qod
7	Vehículo-2	0	Vehículo-2	qod
8	CKD-732	2	Vehículo-2	q4d
9	Vehículo-2	0	Vehículo-2	q4d
*vehículo-1 alternado q4d				

La administración del Compuesto ocurrió entre las 9 y las 10 am del día de la administración. Los grupos 6 y 7 recibieron un total de 17 dosis. Los grupos q4d (1, 2, 3, 4, 8, 9) recibieron un total de 9 dosis. El grupo q8d (5) recibió un total de 5 dosis del fármaco. El peso corporal y la ingesta de alimento se midieron día por medio. La glucemia se midió el día 7, el día 0, el día 7, el día 14, el día 21 y el día 28 a las 9:00 am en ayunas (la glucemia se midió antes de la dosis los días de la administración). La glucemia se midió con un glucómetro. Se realizó una prueba de tolerancia al a glucosa intraperitoneal (ipGTT, 6h ayuno).

El estudio finalizó el día 34. Se cosecharon los tejidos adiposos blancos del hígado y epididimales (eWAT), se pesaron y se conservaron a -80°C. Se recogieron los sueros para determinar: AST, ALT, ALP, CK, BUN, creatinina, calcio, potasio, sodio, cloruro, proteína total, albúmina, bilirrubina total, glucosa, triglicéridos y colesterol. Las muestras de insulina se midieron usando un kit comercial.

El polímero, tal como se hace referencia en este ejemplo, se refiere a poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-aminohexil)acetamida, un polímero que no contiene fumagillol. La síntesis de poli[HPMA-co MA-GFLG-N-(6-aminohexil)acetamida se describe en el documento WO2011/150022.

Estructura de poli[HPMA-co-MA-GFLG-N-(6-aminohexil)acetamida]



La Figura 19 muestra el sorprendente e inesperado hallazgo de que una dosis de 12 mg/kg en un esquema Q8D resultó en mayor adelgazamiento inicial que la dosis de 6 mg/kg en un esquema Q4D. Al terminar el estudio, el grupo Q8D había cesado de perder peso, mientras que el grupo de 6 mg/kg pareció seguir adelgazando. El polímero que no contiene fumagillol muestra cambios de peso similares al vehículo.

La Figura 20 muestra que CKD-732 de moléculas pequeñas (Compuesto B) administrado en un esquema Q2D (QOD) exhibió mejor respuesta que la misma dosis diaria promedio administrada en un esquema Q4D. Como se espera, las moléculas pequeñas exhiben mejores respuestas con administraciones más frecuentes.

La Figura 21 muestra la reducción en la ingesta de alimento para los compuestos de la presente invención. Obsérvese la reducción significativa inicial de la ingesta de alimentos para el grupo de 12 mg/kg en el esquema Q8D, y la recuperación subsiguiente seguida de un patrón de recuperación de reducción cíclica.

La Figura 22 muestra niveles de insulina significativamente reducidos durante una ipGTT en ratones C57B16 macho bajo una dieta rica en grasas. Los compuestos de la presente invención reducen en gran medida la cantidad de insulina excretada por las células β en presencia de glucosa elevada, lo que indica una resistencia reducida y una mejor sensibilidad a la insulina. Cabe destacar también que la insulina en ayunas también se redujo en los ratones de todos los grupos del Compuesto 16.

La Figura 23 muestra cambios en el ABC de insulina total en ratones C57B16 macho mantenidos bajo una dieta rica en grasa durante una ingesta de glucosa en función del grupo de tratamiento.

La Figura 24 muestra una reducción de la glucemia frente a los grupos de vehículo y polímero durante el período de tratamiento.

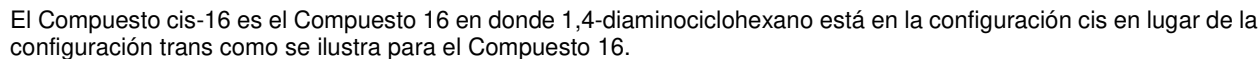
La Figura 25 muestra el producto de glucosa (mg/dl) x insulina (μ U/ml)/405 (Akagiri et al., A Mouse Model of Metabolic Syndrome, J. Clin. Biochem. Nutr., 42, 150-157, marzo de 2008) o la medición HOMA-ir, una medición aceptada de resistencia a la insulina y un indicador de enfermedad cardiovascular (Bonora et al., Diabetes Care. 2002, 25, 1135-1141).

Tabla 18. Datos utilizados para el cálculo HOMA-ir

IpGTT	Insulina (uU/ml)		Glucosa (mg/dl)	
	0 min	15 min	0 min	16 min
Vehículo Q4D	205.0	263.4	239.2	482.0
Vehículo 12 mg/Kg Q4D	291.9	299.4	215.6	525.9
Comp. 16, 2 mg/kg	104.6	133.4	182.8	488.6
Comp. 16, 6 mg/kg	53.2	84.3	179.8	557.3

10

15



20

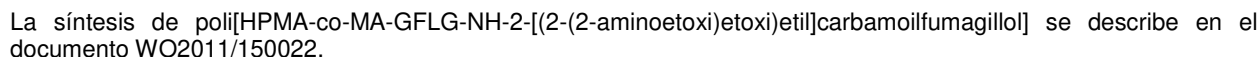
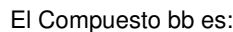
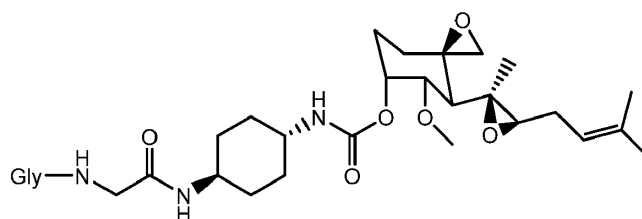
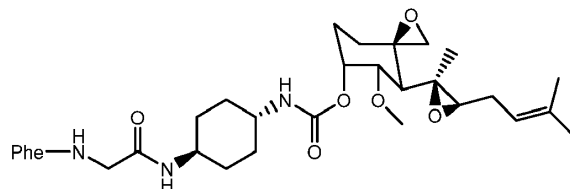
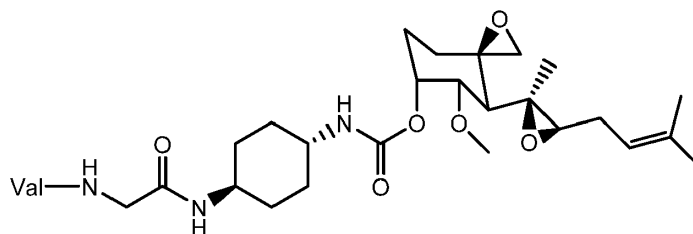
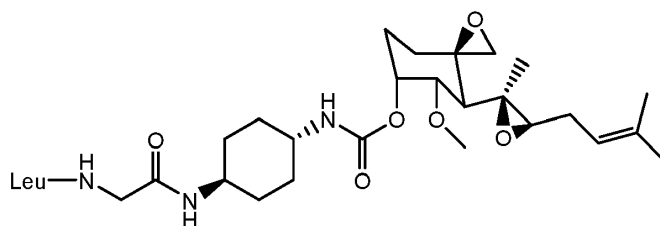
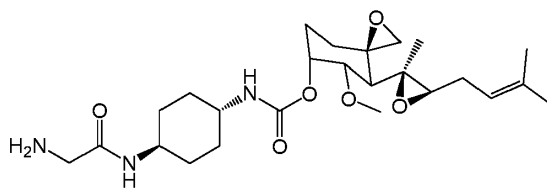
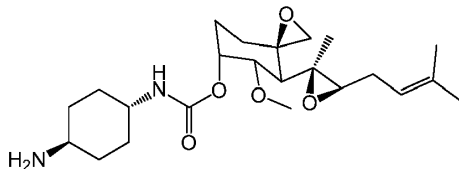


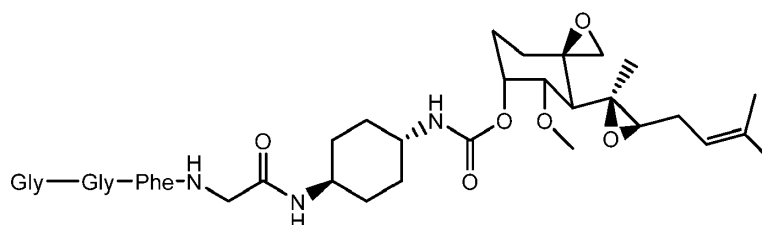
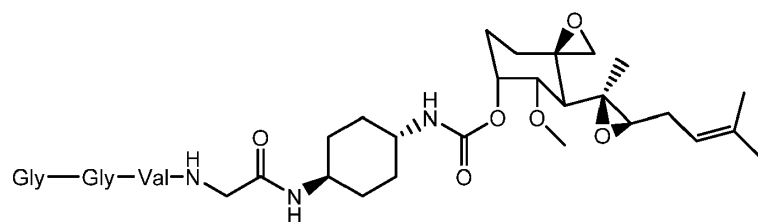
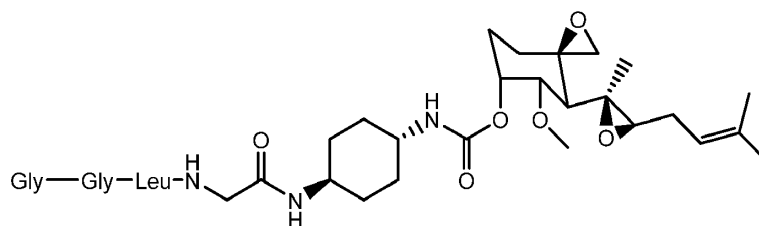
Tabla 19. Peso corporal frente a tiempo en un modelo de ratón DIO

	Dosis (q4d)		PC promedio grupal (g) por día del estudio					cambio PC
Grupo	mg/kg	Esquema	1	7	15	21	26	frente a vehículo
Vehículo	0	q4d	47.0	45.0	45.8	46.1	46.1	0.0%
Compuesto 16	2	q4d	47.0	43.4	43.2	42.0	41.7	-9.6%
Compuesto 16q8d	12	q8d	47.0	41.3	38.3	36.2	38.0	-17.5%
Compuesto 32	2	q4d	47.0	42.0	40.6	41.6	40.5	-12.1 %
Compuesto 48	2	q4d	47.0	44.3	43.8	42.9	43.6	-5.5%
Polímero	12	q4d	47.0	44.8	46.1	46.3	46.5	0.8%
Compuesto cis-16	2	q4d	47.0	42.7	42.6	40.9	40.6	-12.0%
Compuesto aa	2	q4d	47.0	44.3	45.2	45.4	45.8	-0.8%
Compuesto bb	2	q4d	47.0	43.6	43.9	42.2	42.5	-7.8%

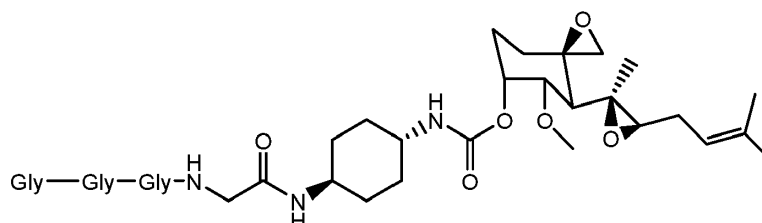
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para uso terapéutico que tiene como propósito mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene sobrepeso o es obeso, en donde el compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable se selecciona del grupo que consiste en:

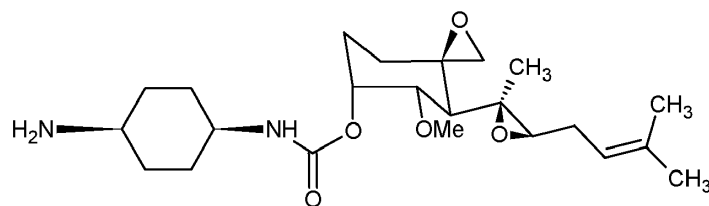




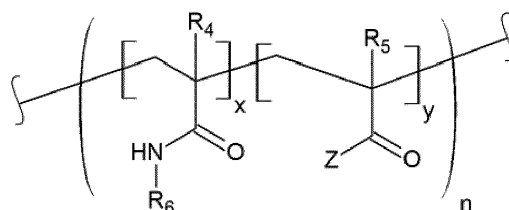
5



y



10 2. Un compuesto de la Fórmula



o su sal farmacéuticamente aceptable para uso terapéutico que tiene como propósito mejorar o restaurar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que lo necesita, en donde el sujeto tiene sobrepeso o es obeso;

en donde, independientemente en cada caso,

R₄ es H o alquilo C₁-C₆;

R₅ es H o alquilo C₁-C₆;

R₆ es hidroxialquilo C₂-C₆;

Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W o -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W;

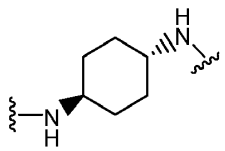
5 AA₁ es glicina, alanina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5;

AA₂ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

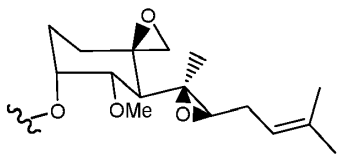
AA₃ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

10 AA₄ es un enlace, o alanina, cisteína, ácido aspártico, ácido glutámico, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, prolina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptófano o tirosina;

-Q-X-Y es



W es



15

x está en el intervalo de 1 a 450;

y está en el intervalo de 1 a 30;

n está en el intervalo de 1 a 50; y

el compuesto tiene un peso molecular de menos de aproximadamente 60 kDa;

20 en donde:

cuando Z es -NH-AA₁-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, entonces AA₅ es un enlace, o glicina, valina, tirosina, triptófano, fenilalanina, metionina, leucina, isoleucina o asparagina; y AA₆ es un enlace, o alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5; y

25 cuando Z es -HN-AA₂-AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W entonces: AA₅ es un enlace, alanina, cisteína, glicina, isoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, valina o triptófano; y AA₆ es alanina, asparagina, citrulina, glutamina, glicina, leucina, metionina, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina o H₂N(CH₂)_mCO₂H, en donde m es 2, 3, 4 o 5.

3. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde:

30 R₄ es metilo,

R₅ es metilo,

R₆ es 2-hidroxipropilo, y/o

Z es -NH-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, opcionalmente en donde AA₆ es glicina.

4. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde Z es -NH-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, en donde:

35 AA₅ es leucina y AA₆ es glicina,

AA₅ es valina y AA₆ es glicina,

AA₅ es fenilalanina y AA₆ es glicina, o

AA₅ es glicina y AA₆ es glicina.

5. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde Z es -NH- AA₃-AA₄-AA₅-AA₆-C(O)-Q-X-Y-C(O)-W, opcionalmente en donde:

5 AA₅ es leucina y cada uno de AA₃, AA₄ o AA₆ es glicina,

AA₅ es valina y cada uno de AA₃, AA₄ o AA₆ es glicina,

AA₅ es fenilalanina y cada uno de AA₃, AA₄ o AA₆ es glicina,

AA₃ es glicina, AA₄ es fenilalanina, AA₅ es leucina y AA₆ es glicina, o

cada uno de AA₃, AA₄, AA₅ y AA₆ es glicina.

10 6. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde la relación de x a y oscila entre 20:1 y 4:1, preferiblemente 11:1.

7. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el sujeto tiene un IMC de 25 kg/ m² a 29,9 kg/ m²; 30 kg/ m² o más; 35 kg/ m² o más, o 40 kg/ m² o más.

15 8. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el sujeto tiene por lo menos una comorbilidad inducida por la obesidad o relacionada con la obesidad seleccionada del grupo que consiste en diabetes, diabetes mellitus de tipo II no insulino dependiente, tolerancia anormal a la glucosa, tolerancia anormal a la glucosa en ayunas, concentraciones elevadas de insulina en el plasma, síndrome de resistencia a la insulina, hiperlipidemia, dislipidemia, hipertensión, hiperuricemia, gota, arteriopatía coronaria, enfermedad cardíaca, infarto de miocardio, angina de pecho, apnea del sueño, apnea del sueño obstructiva, síndrome de Pickwickian, hígado graso, infarto cerebral, accidente cerebrovascular, trombosis cerebral, complicaciones respiratorias, colelitiasis, colecistopatía, enfermedad renal, reflujo gastroesofágico, incontinencia urinaria por estrés, arteriosclerosis, cardiopatía, ritmos cardíacos anormales, arritmias cardíacas, ataque isquémico transitorio, trastornos ortopédicos, artrosis, artritis reumatoide, lumbodinia, trastornos menstruales, endocrinopatías, desequilibrios hormonales y esterilidad.

25 9. El compuesto para uso en la reivindicación 1 o 2, que además comprende tratar, reducir o mejorar uno o más factores de riesgo cardiometabólicos en dicho sujeto; preferiblemente los factores de riesgo cardiometabólicos se seleccionan entre niveles de triglicéridos en el plasma, niveles de colesterol LDL, niveles de proteína C reactiva (CRP), tensión arterial sistólica y tensión arterial diastólica.

10. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, que además comprende administrar un segundo agente activo.

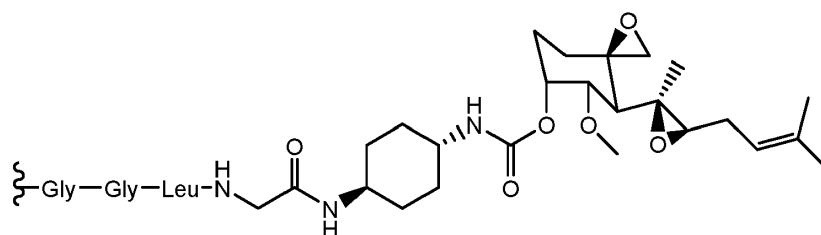
30 11. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz oscila entre 0,0001 mg/kg y 5 mg/kg de peso corporal por día o entre 0,001 y 1 mg/kg de peso corporal per día.

12. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho compuesto es adecuado para administración entre 1 y 5 veces por semana, preferiblemente para administración cada dos semanas, más preferiblemente para administración en un esquema q4d o lo más preferiblemente en un esquema de administración q7d.

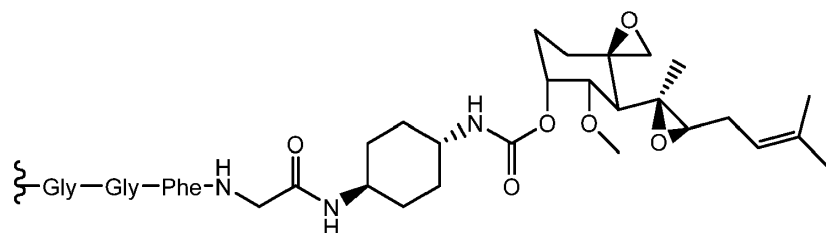
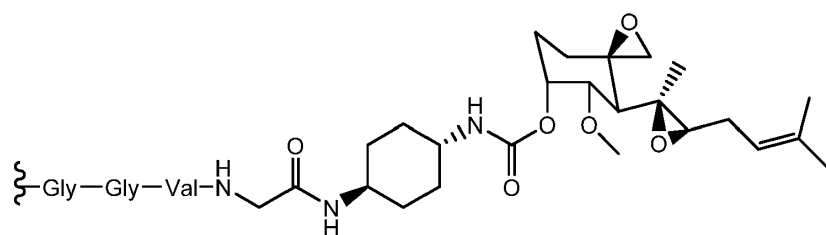
35 13. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho compuesto es adecuado para administración parenteral o subcutánea.

14. El compuesto para uso según la reivindicación 1 o 2, en donde dicho compuesto se provee como una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

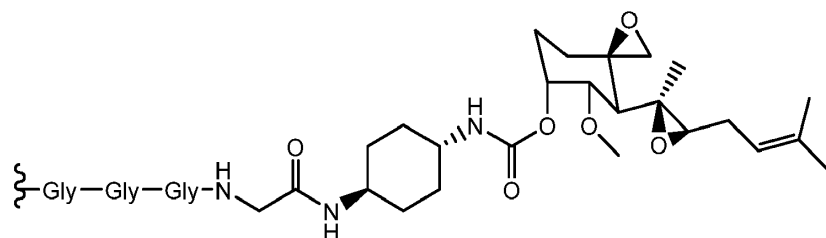
15. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde Z se representa mediante:



40



0



5

16. El compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde Z se representa mediante

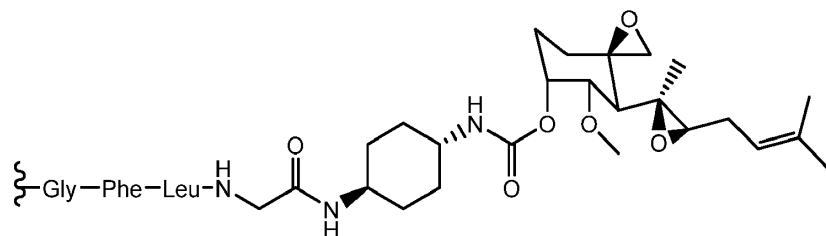


Figura 1

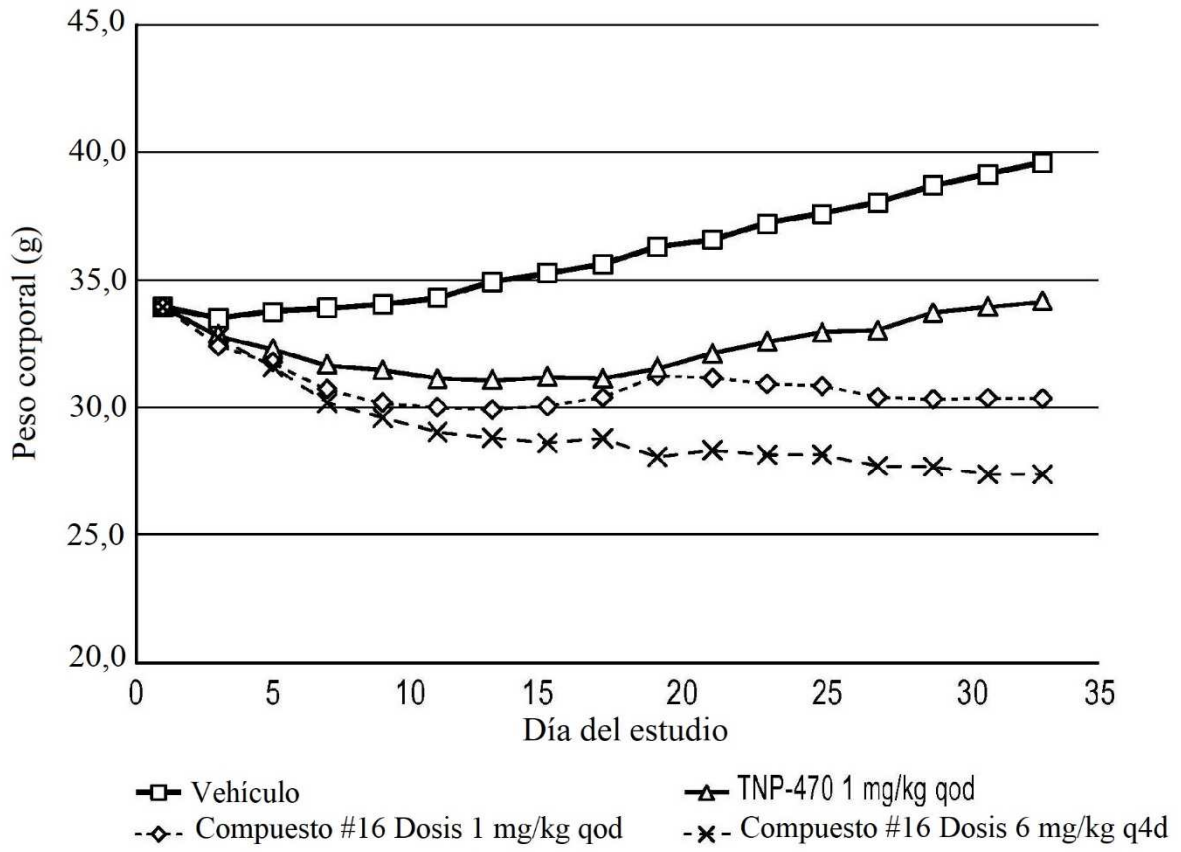


Figura 2

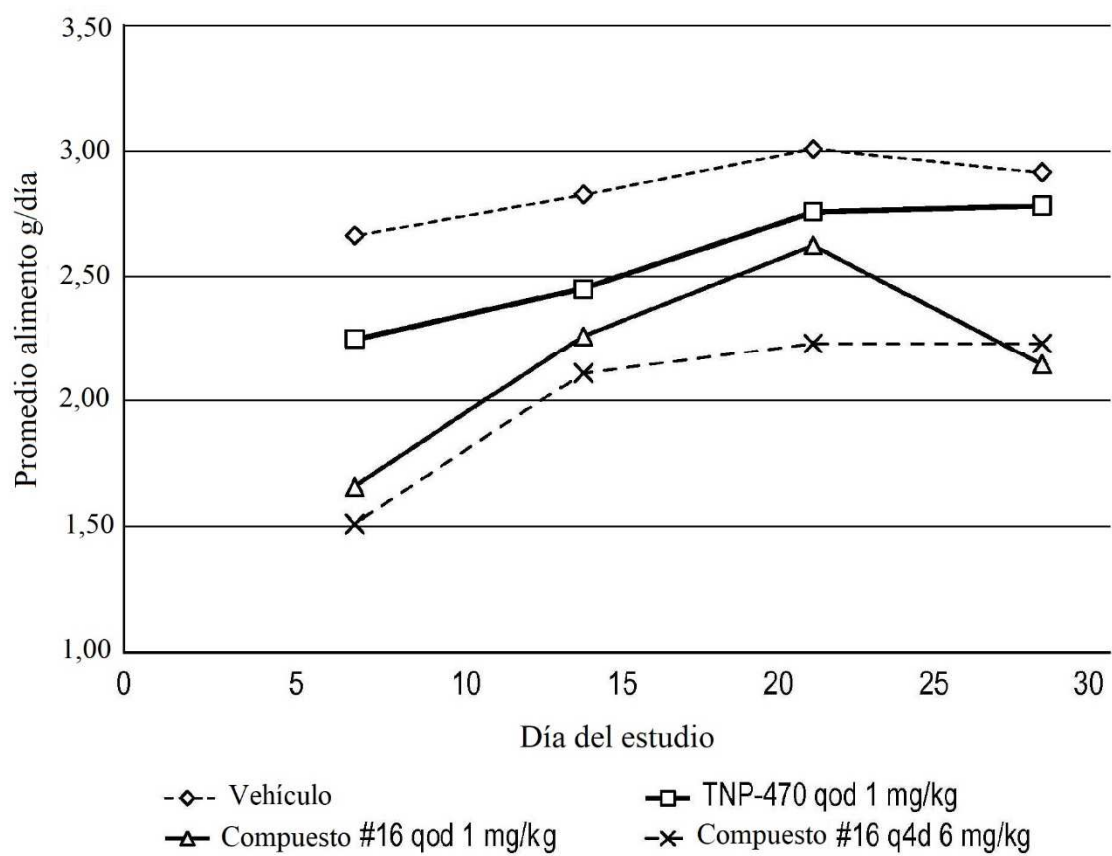


Figura 3

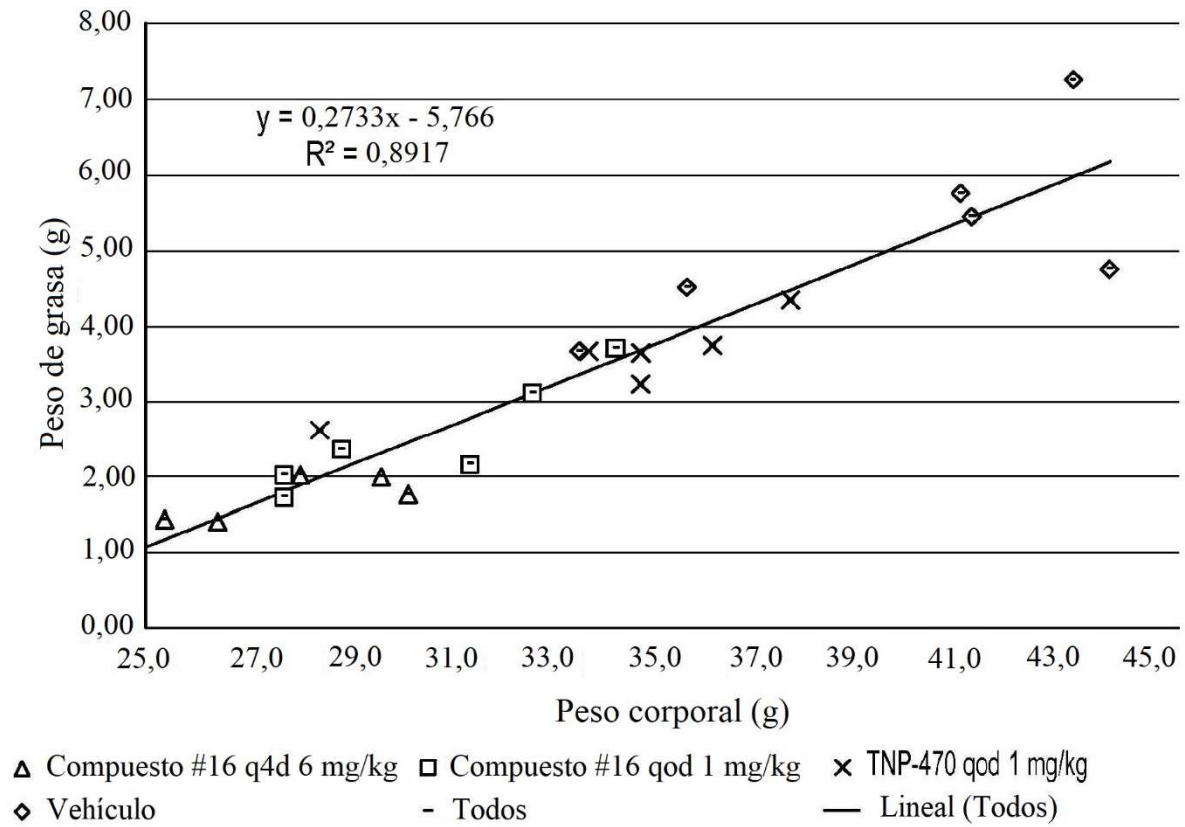


Figura 4

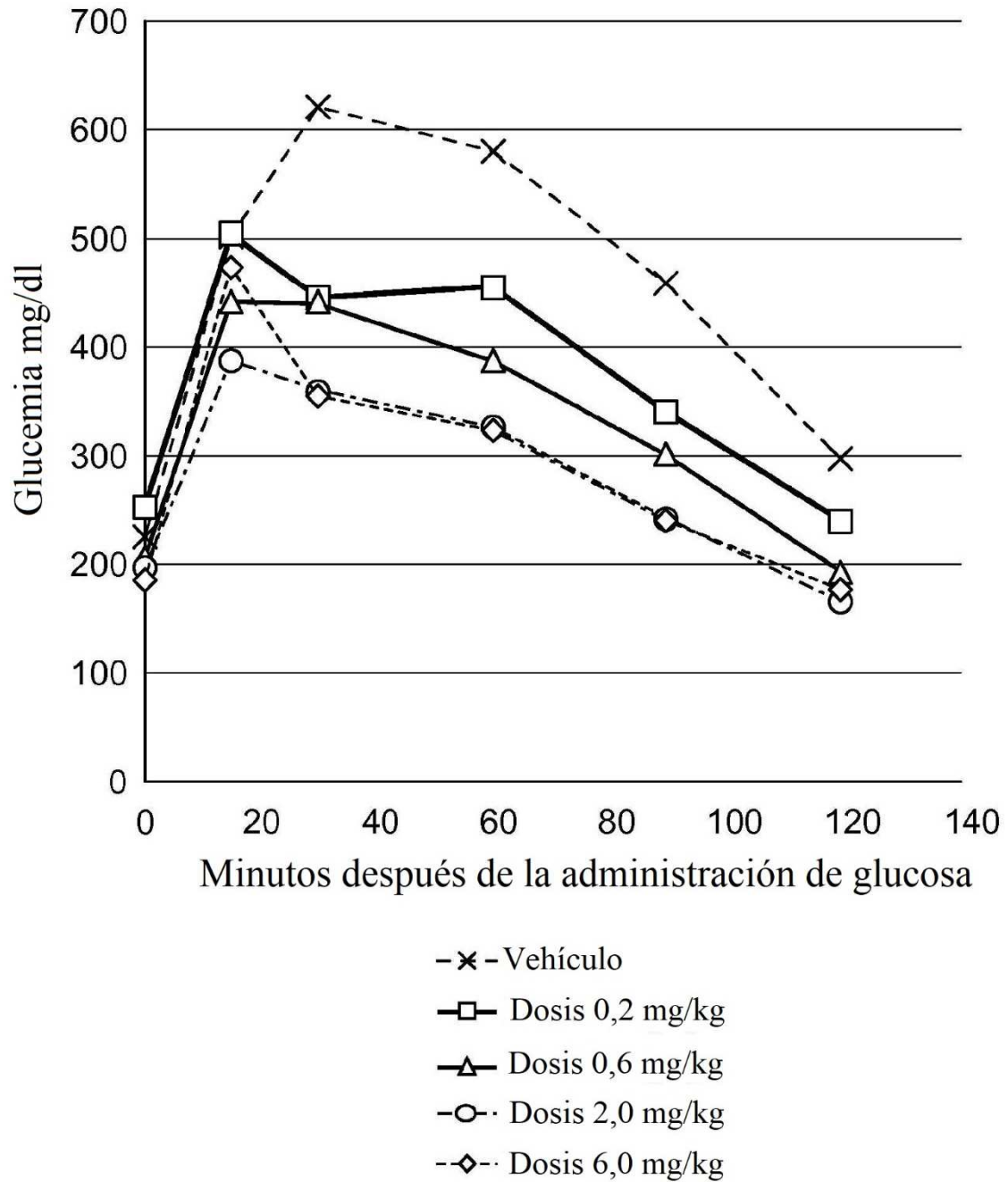


Figura 5

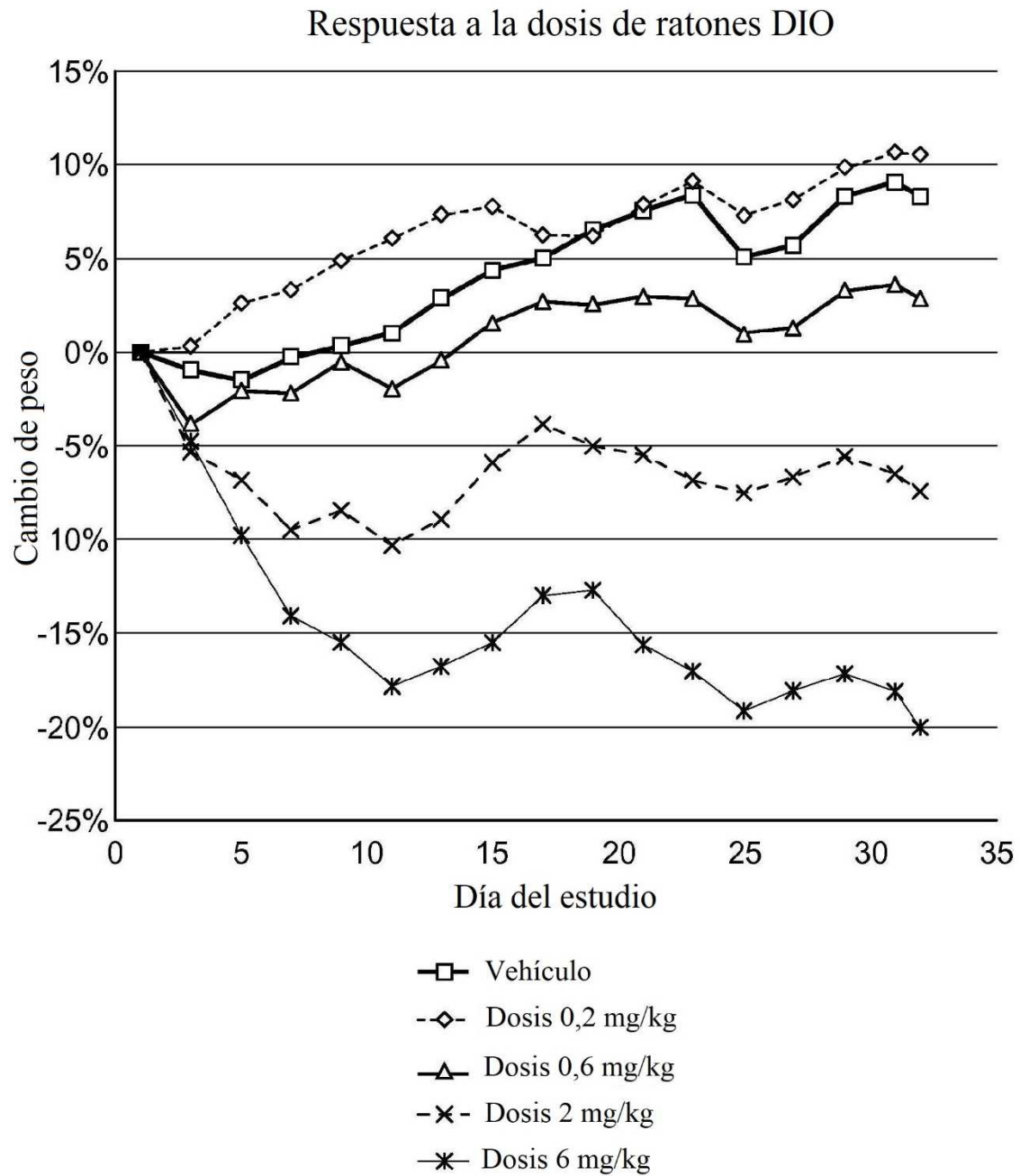


Figura 6

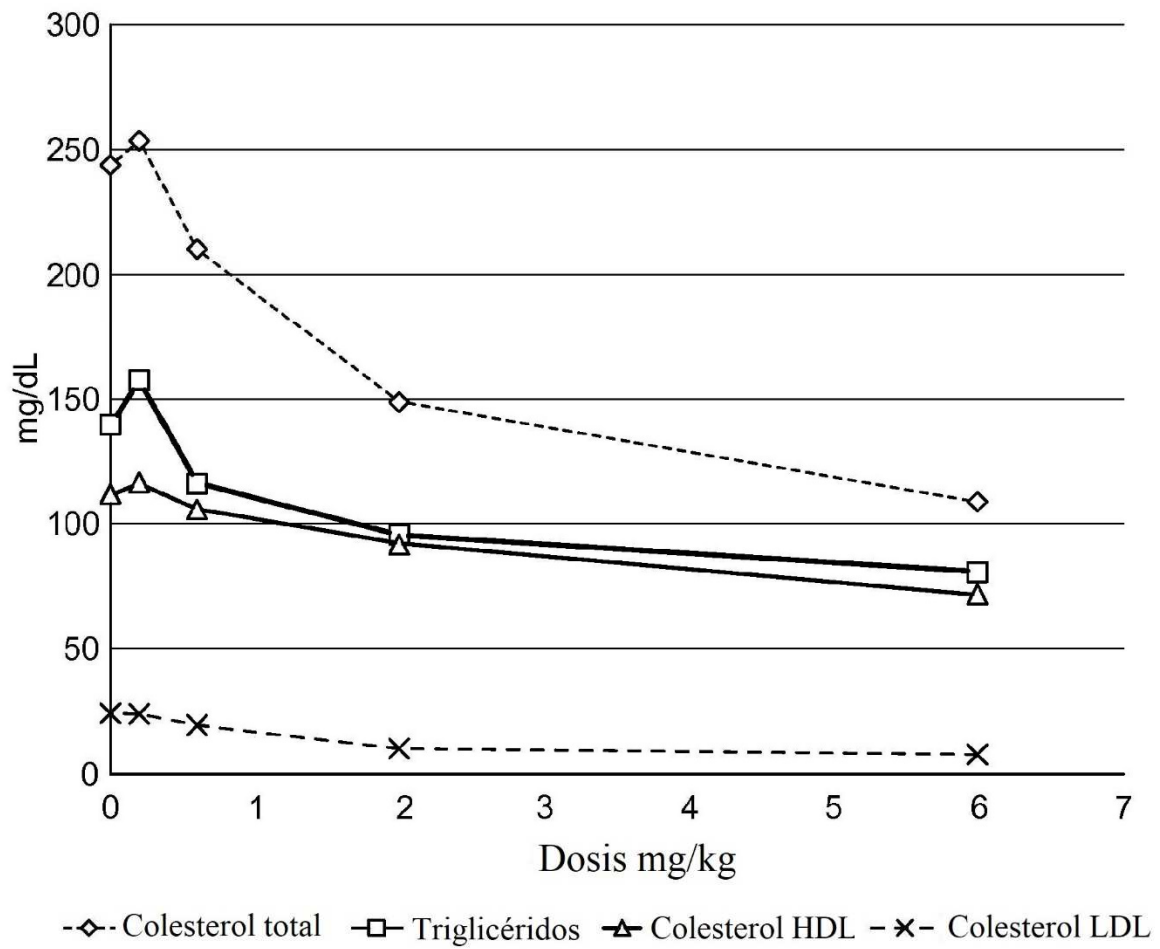


Figura 7

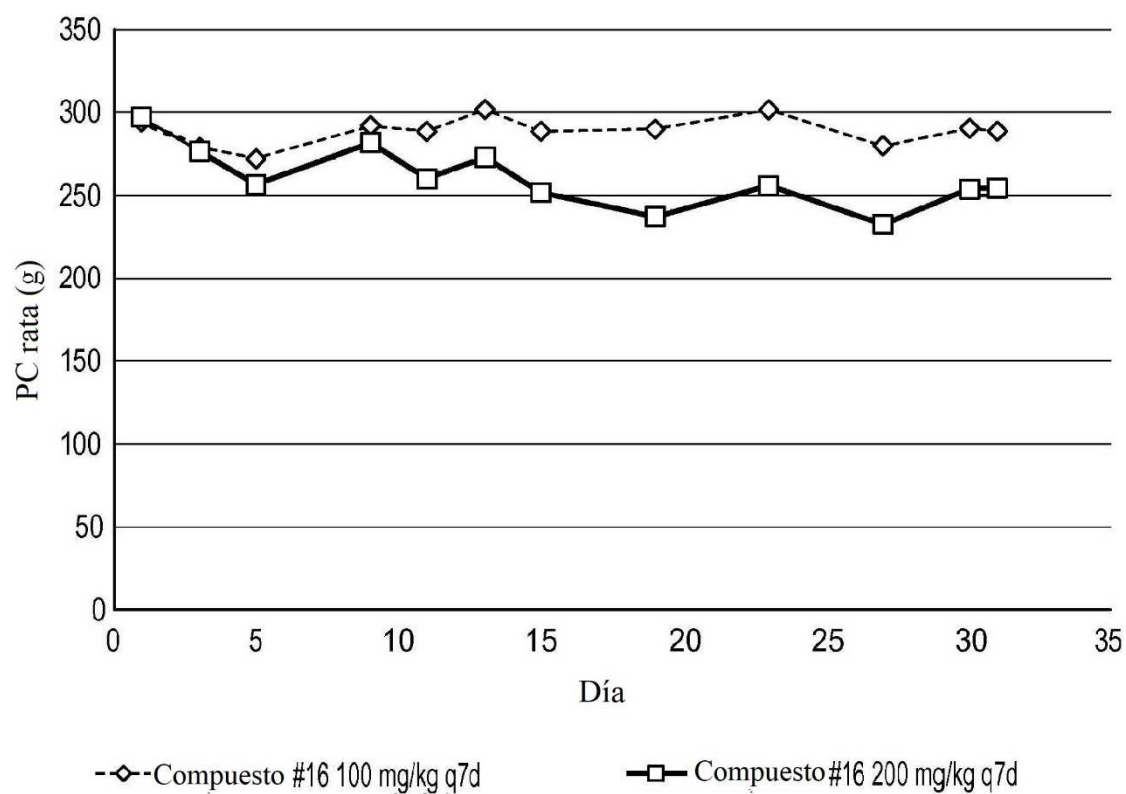


Figura 8

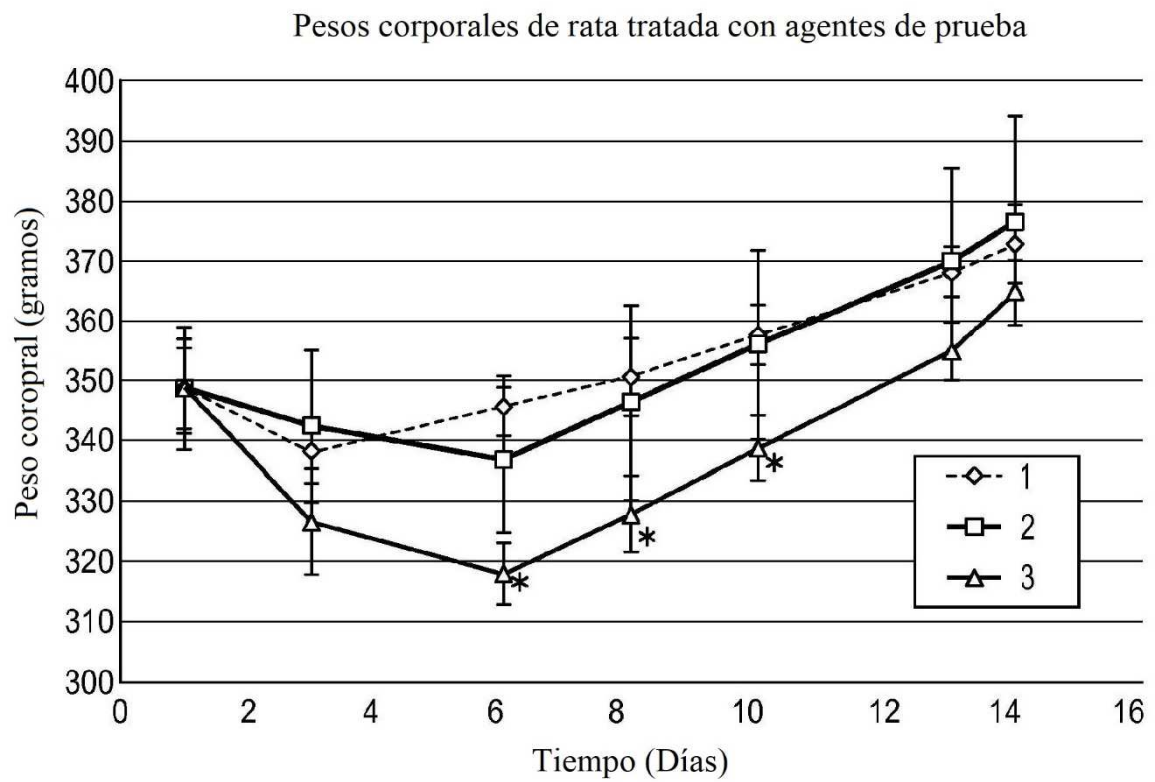


Figura 9

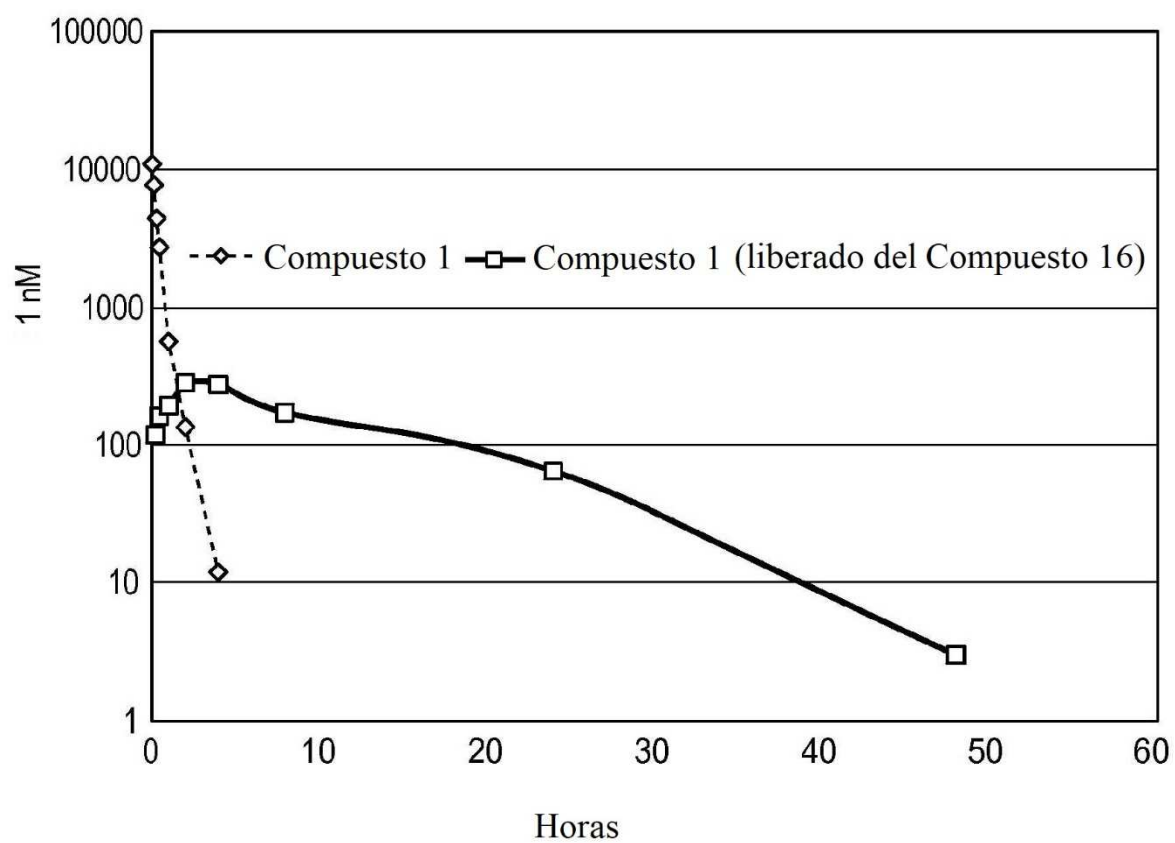
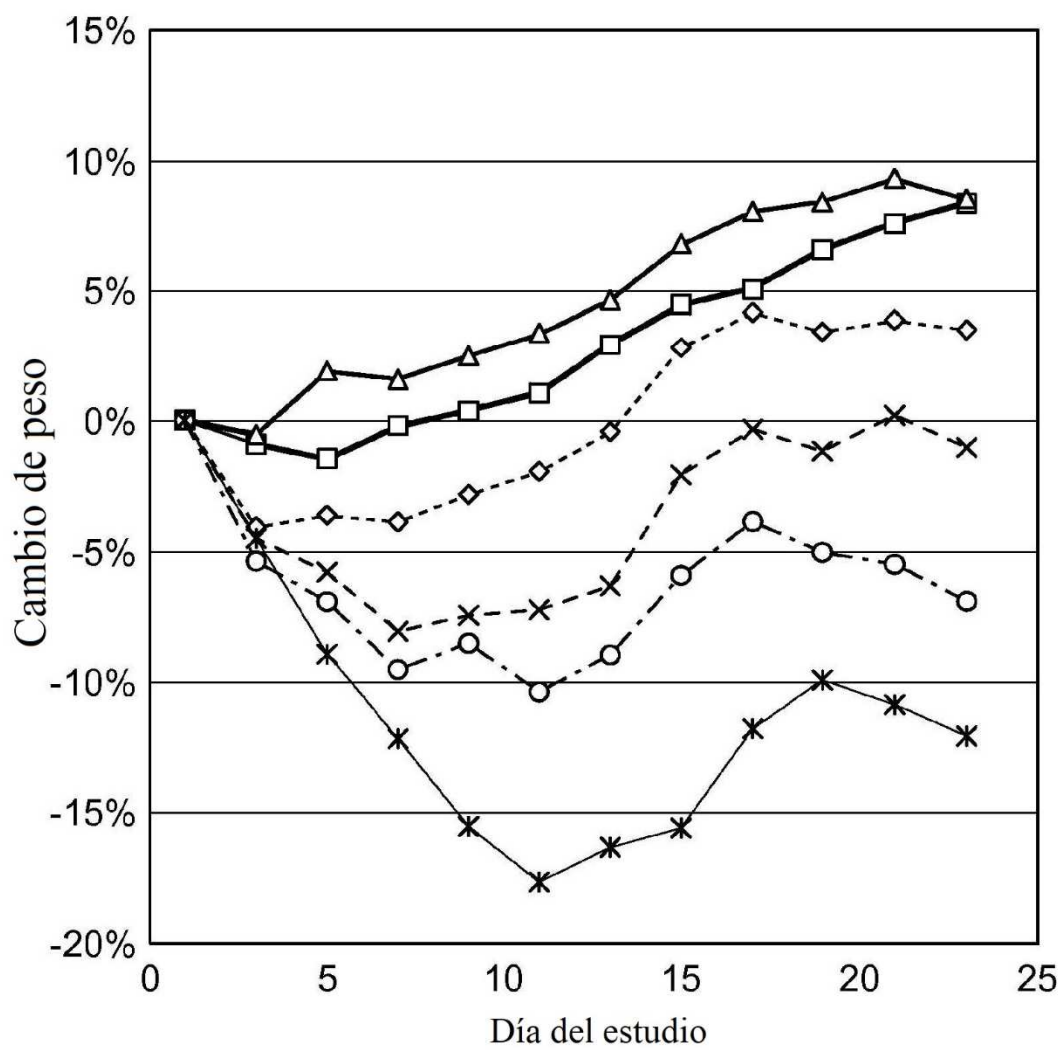


Figura 10



- Vehículo
- ◇- Compuesto 28 @ 2 mg/kg
- △- Compuesto 29 @ 2 mg/kg
- ×- Compuesto 30 @ 2 mg/kg
- Compuesto 16 @ 2 mg/kg
- * Compuesto 31 @ 6 mg/kg

Figura 11

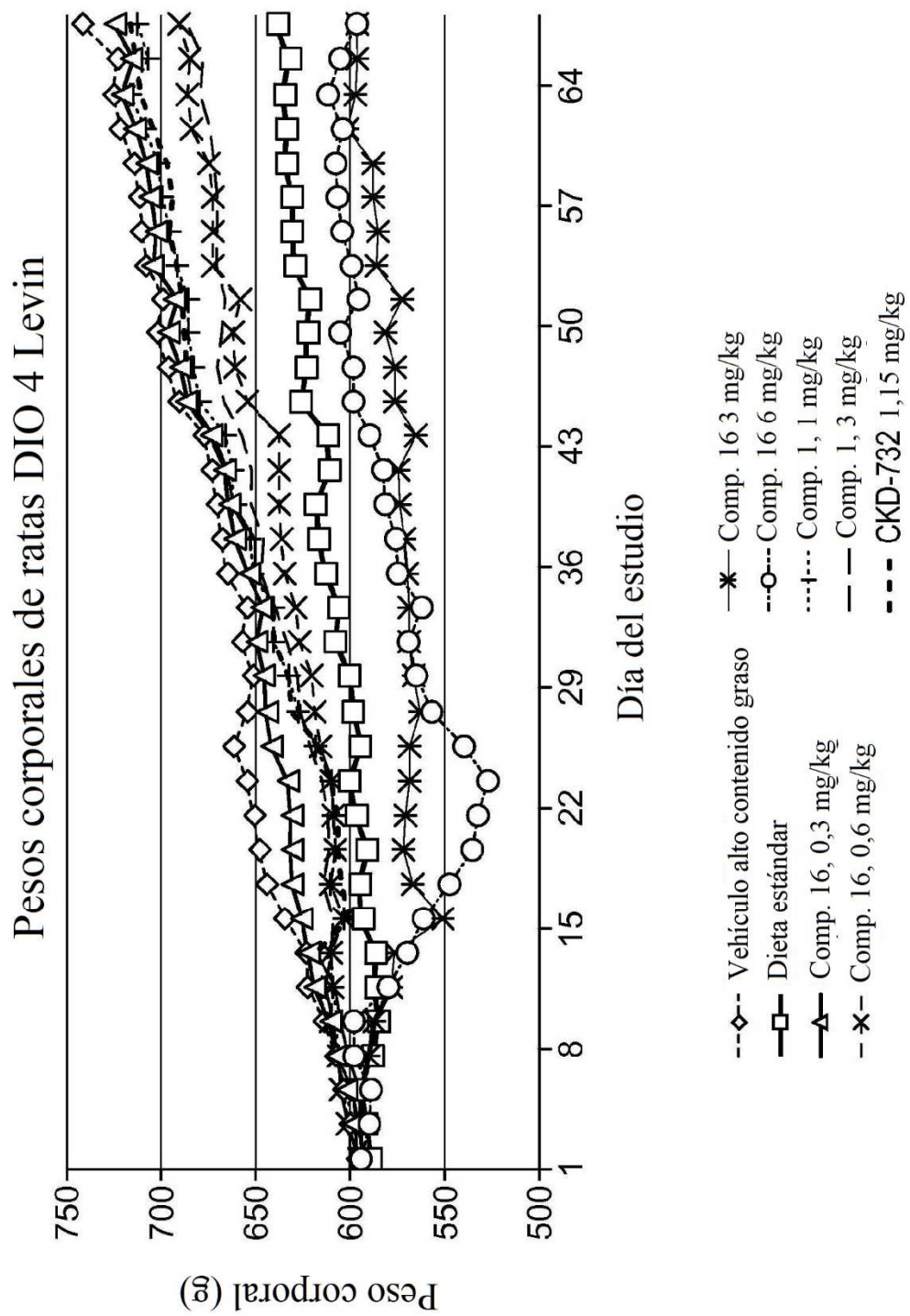


Figura 12

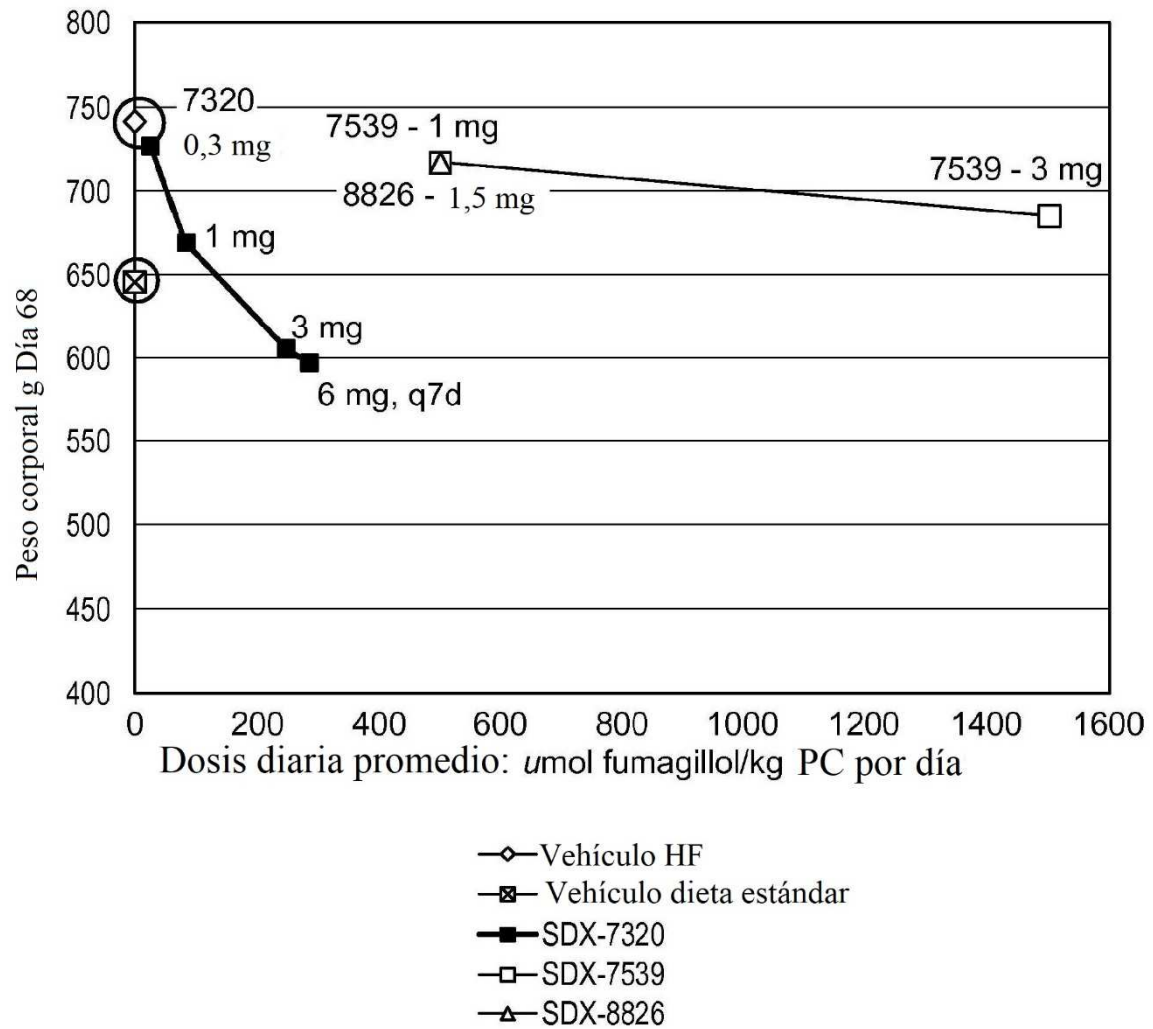


Figura 13

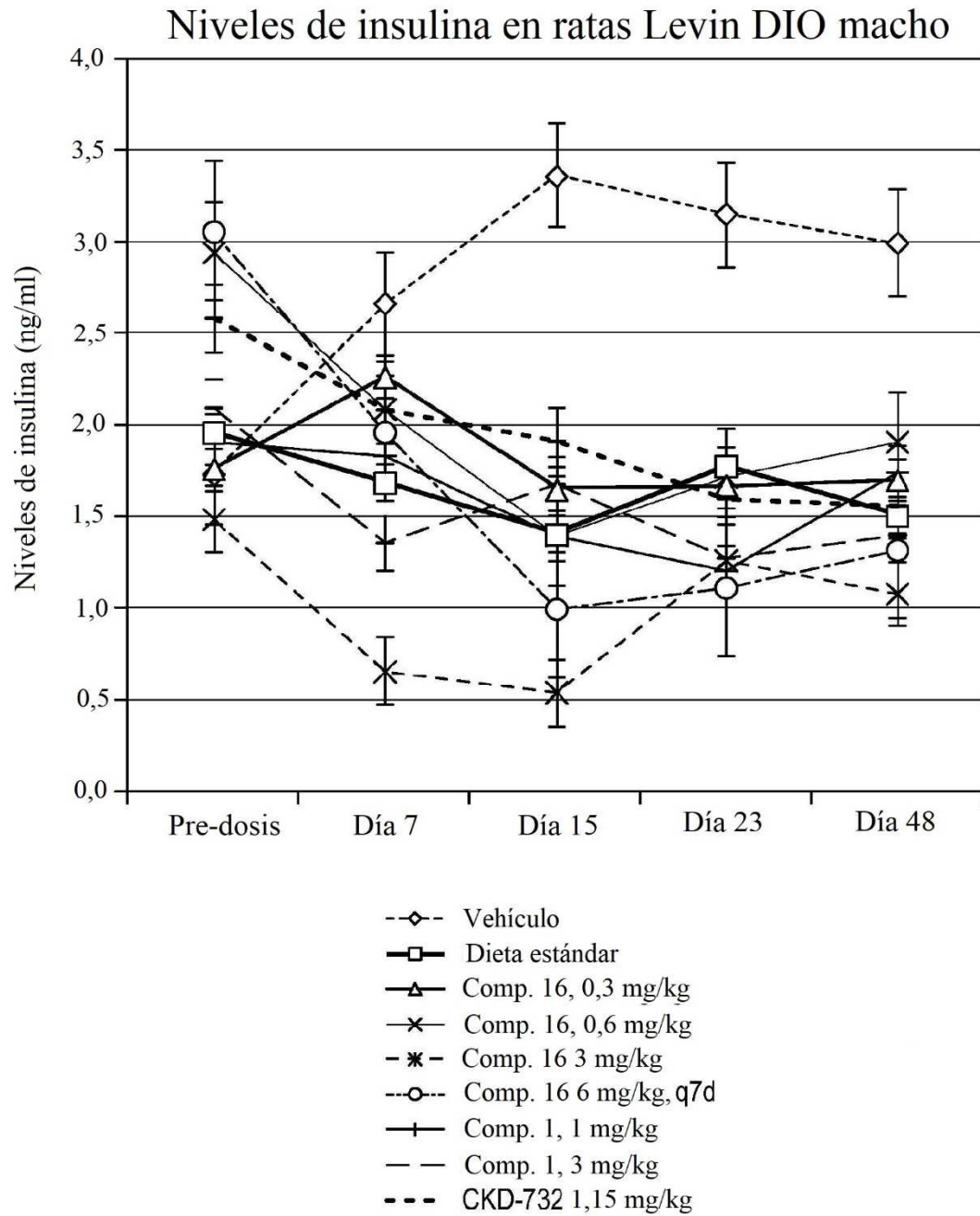


Figura 14

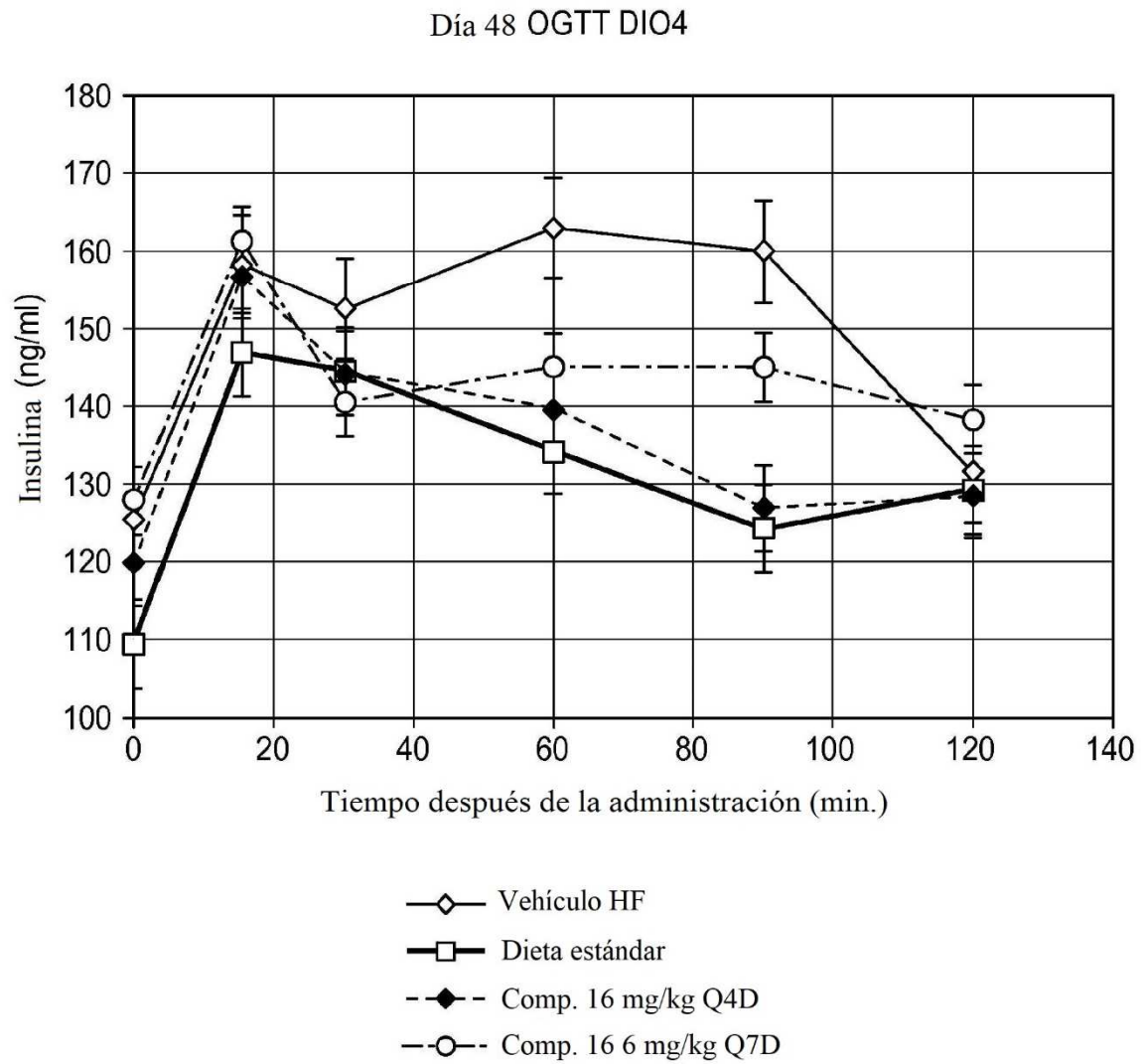


Figura 15

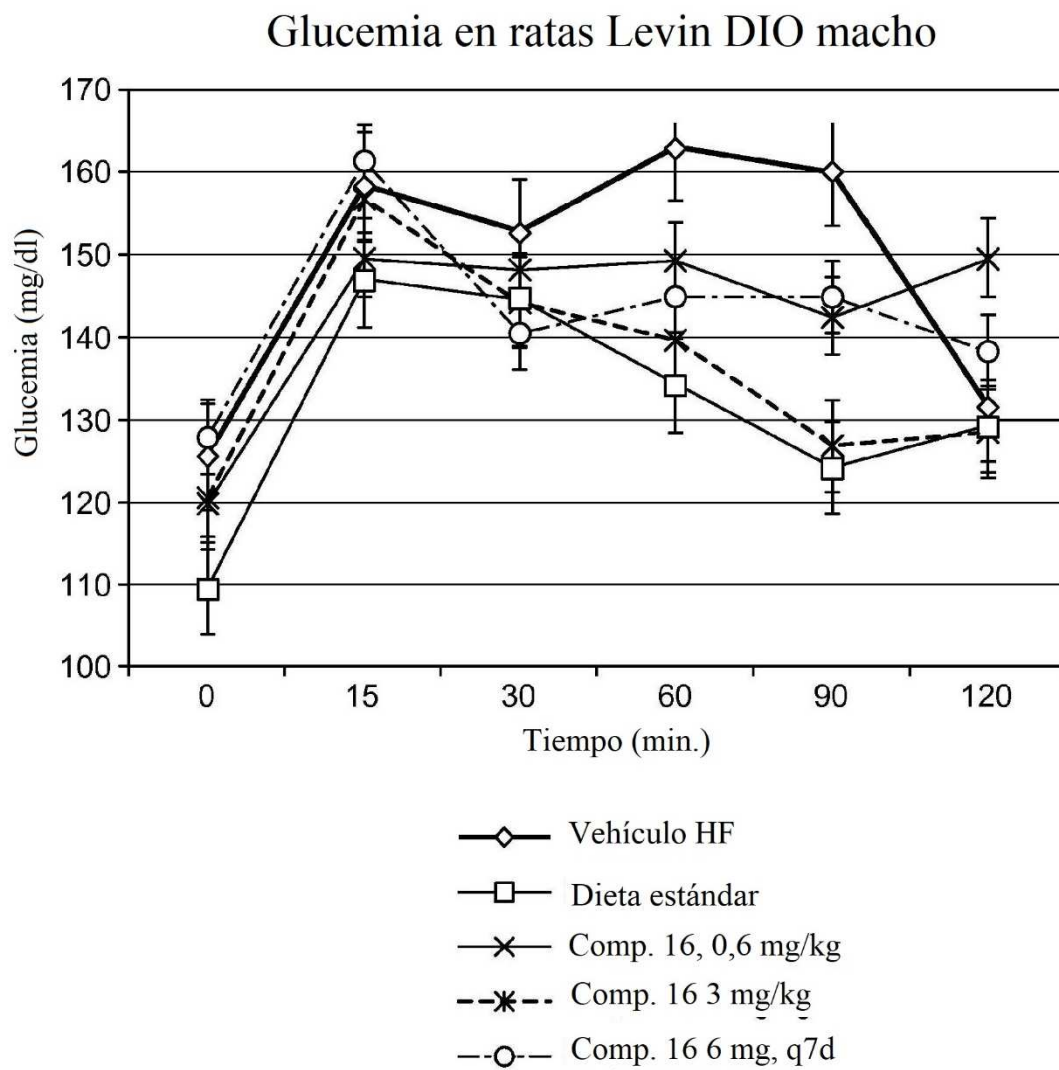


Figura 16

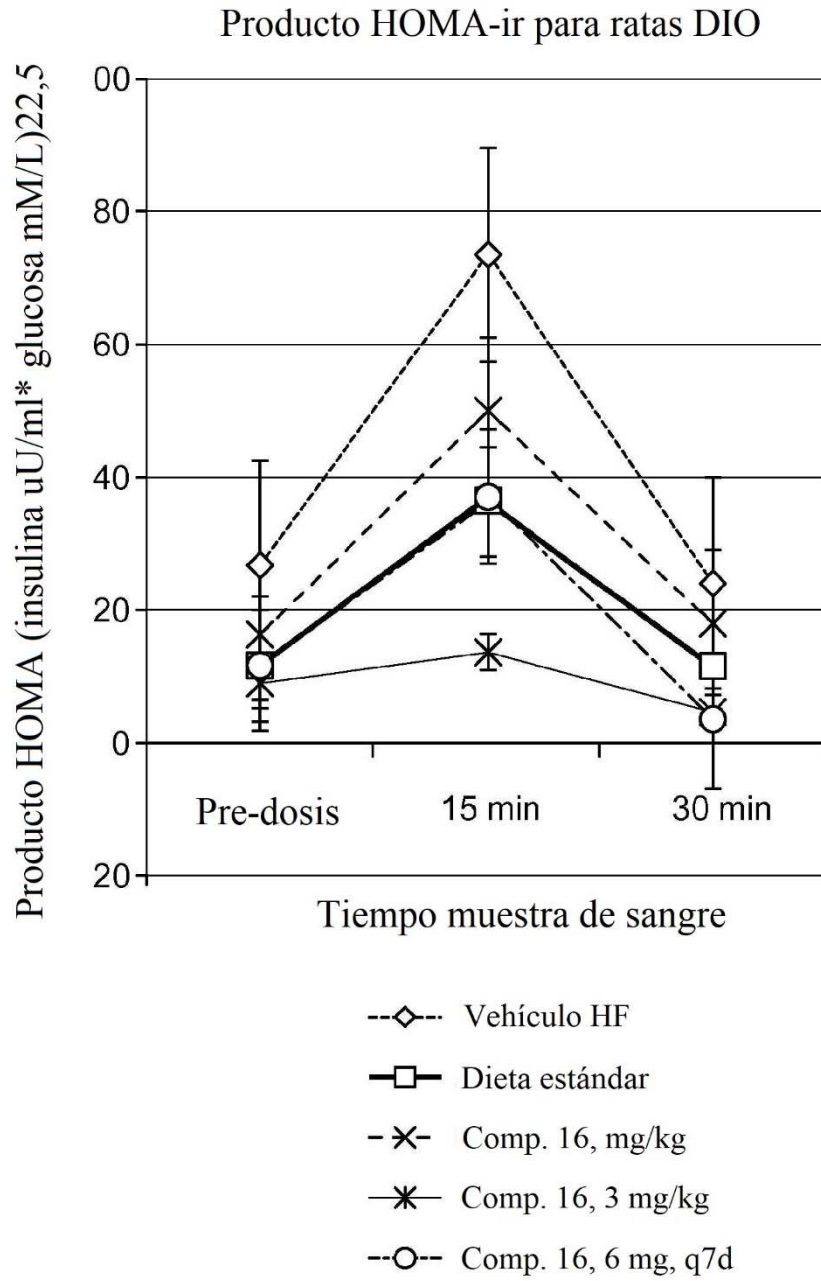


Figura 17

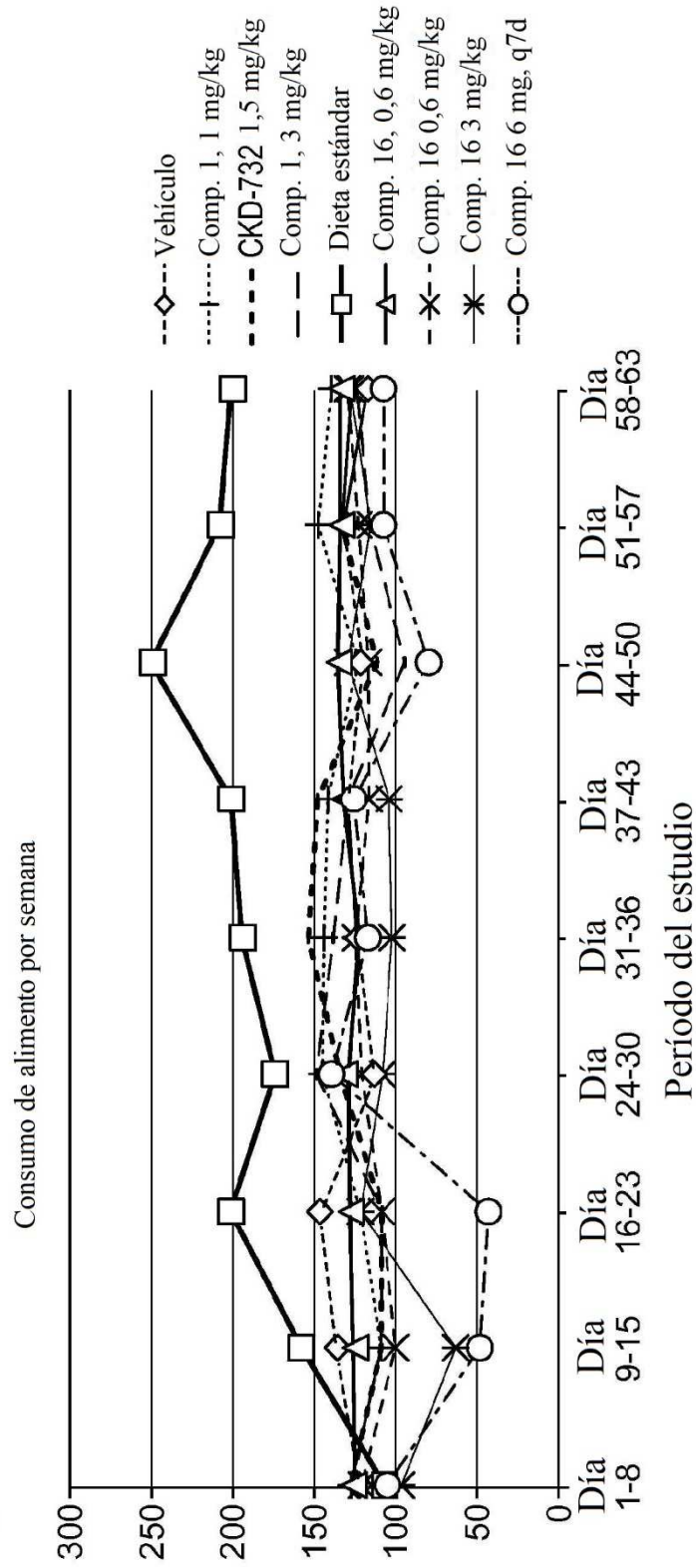


Figura 18

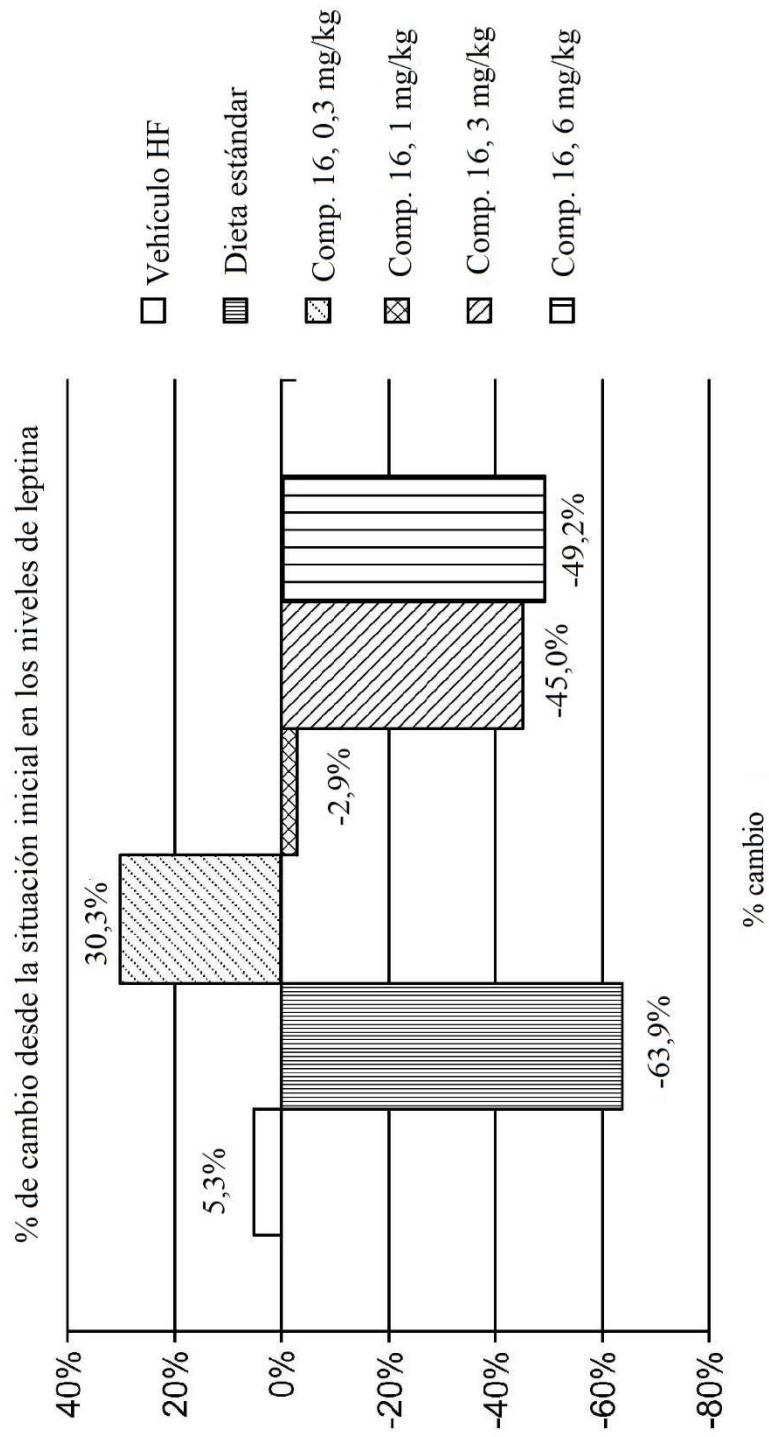


Figura 19

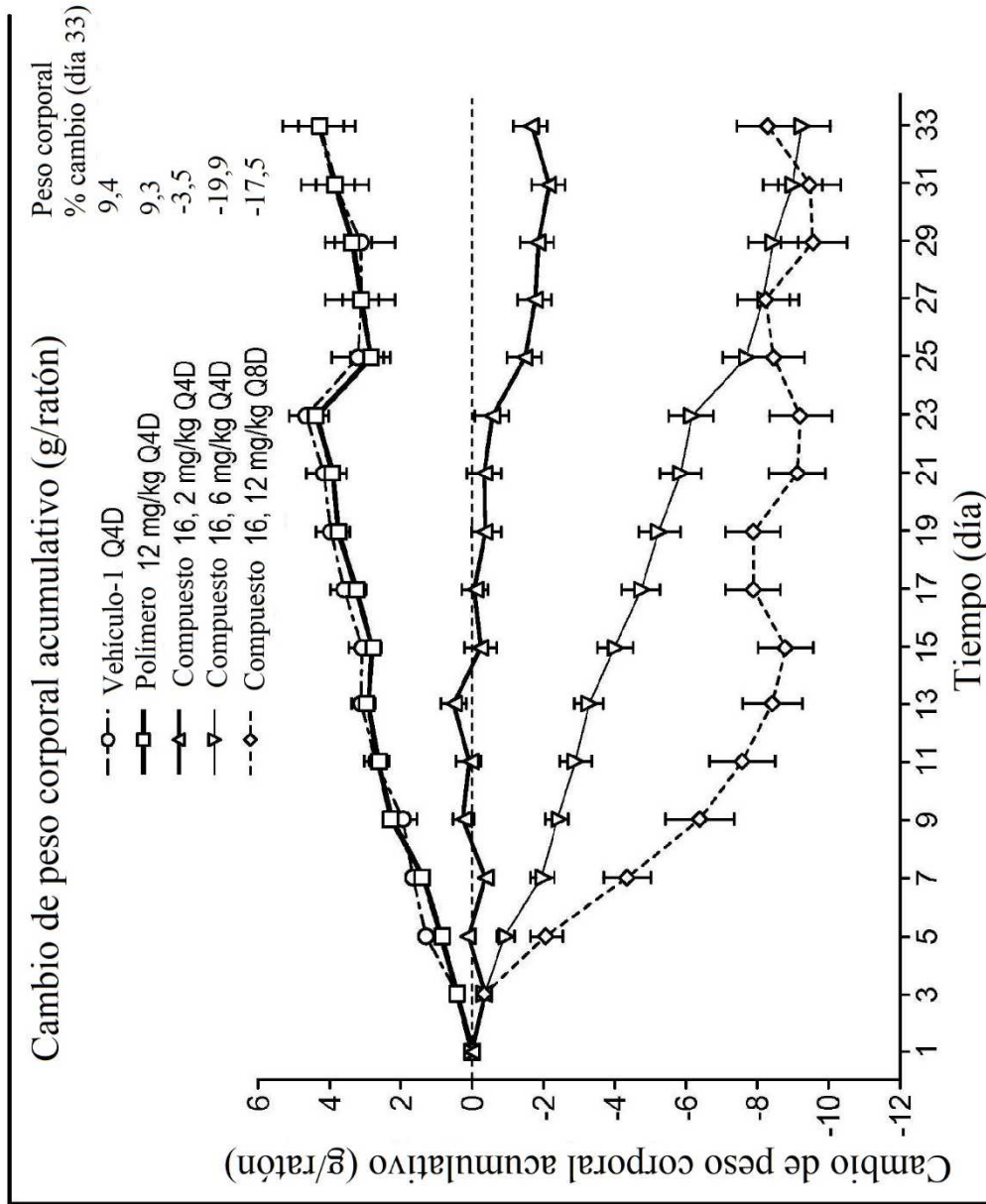
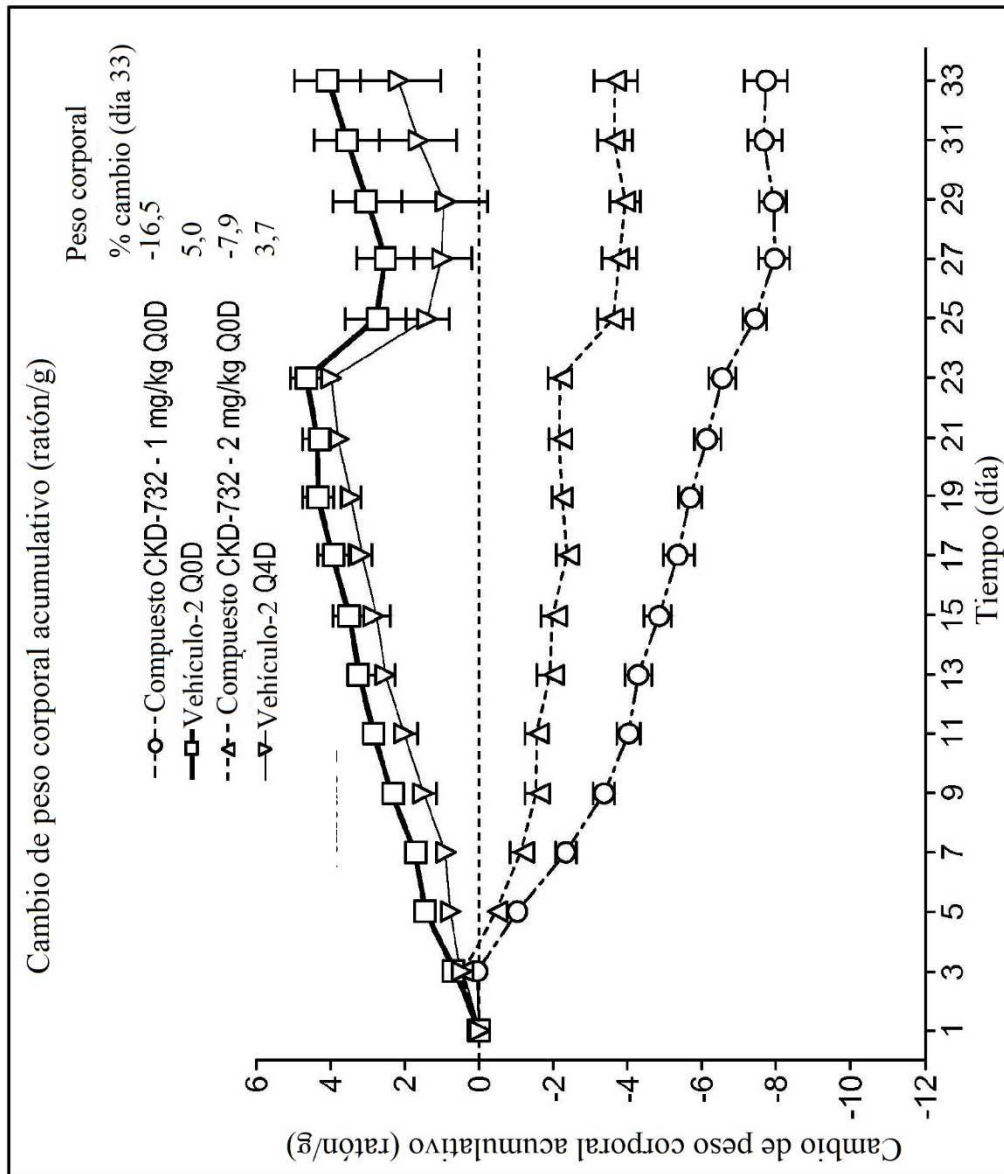


Figura 20



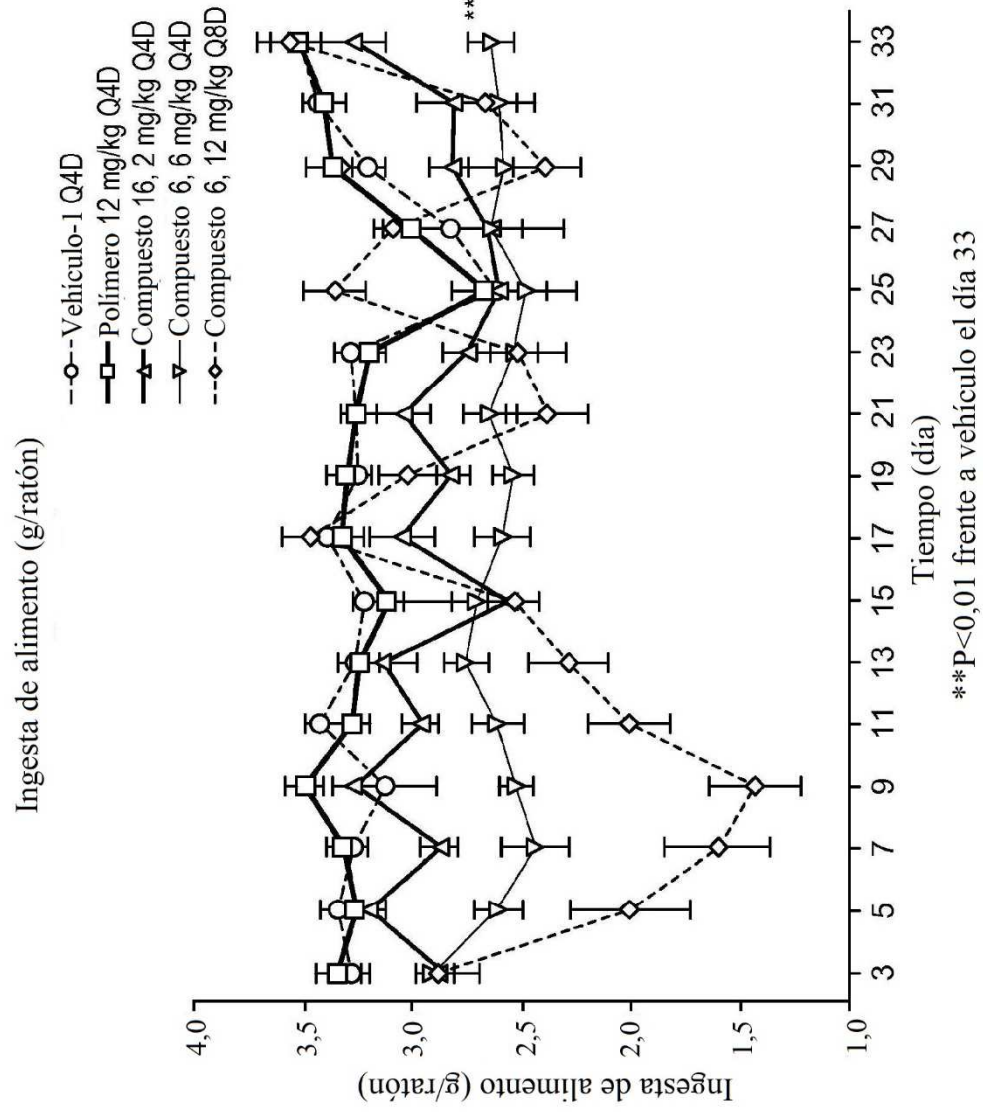


Figura 21

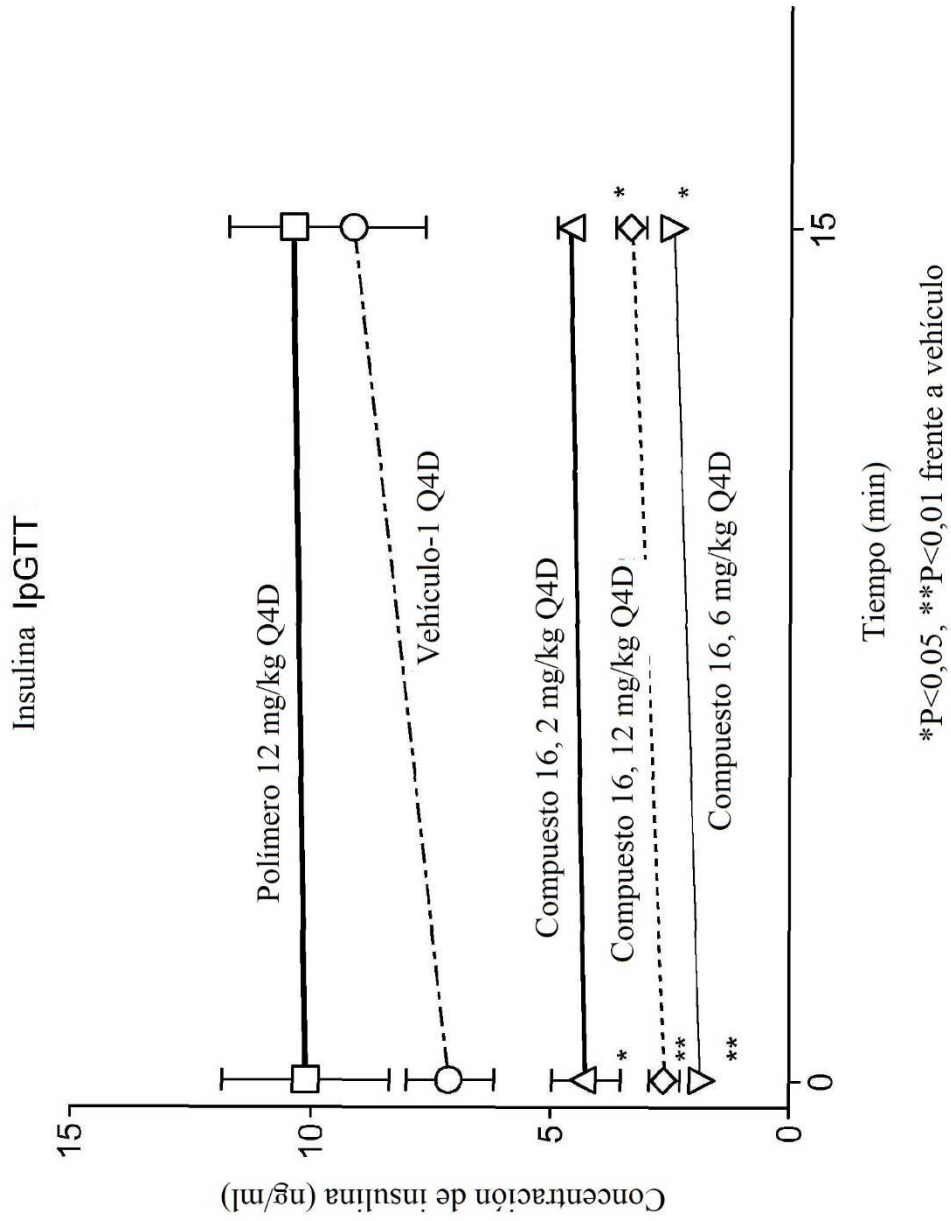


Figura 22

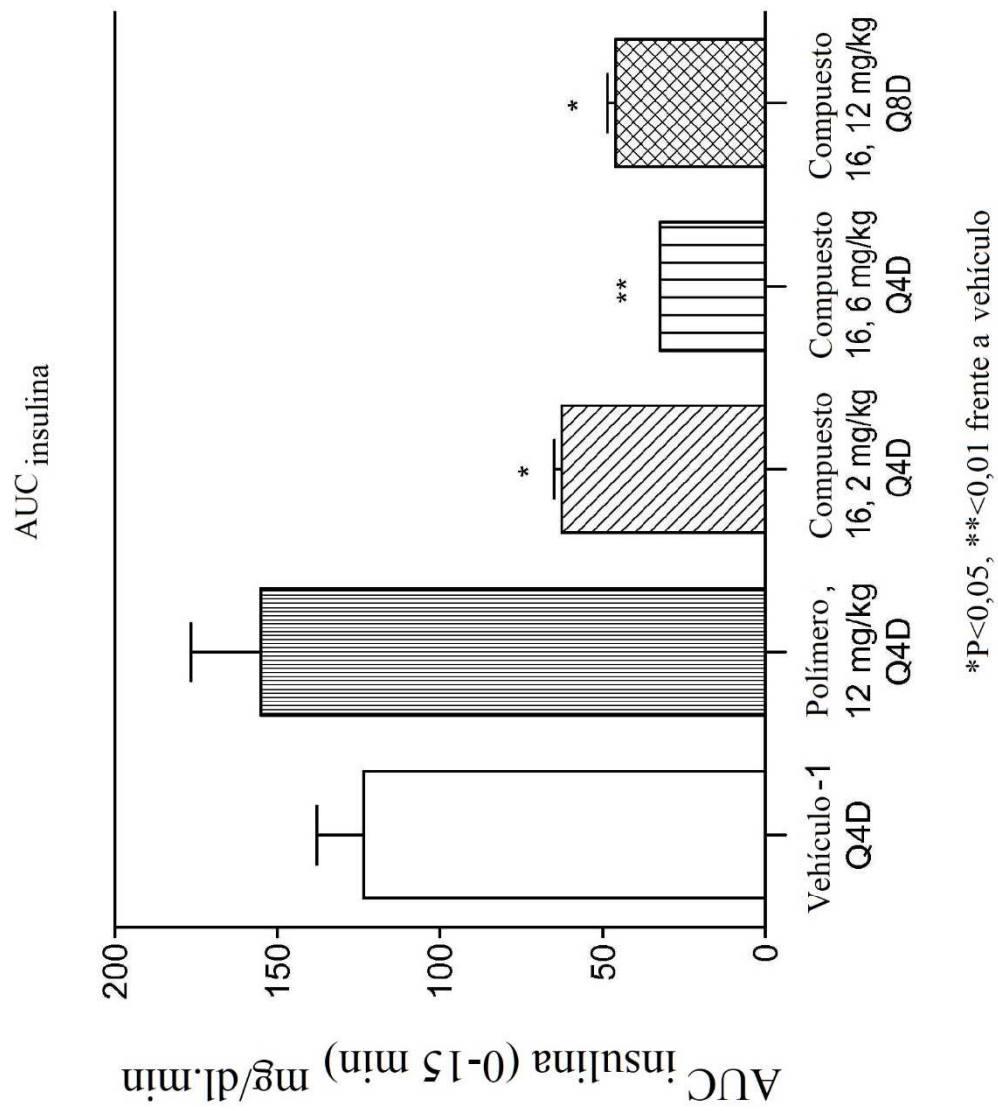


Figura 23

Figura 24

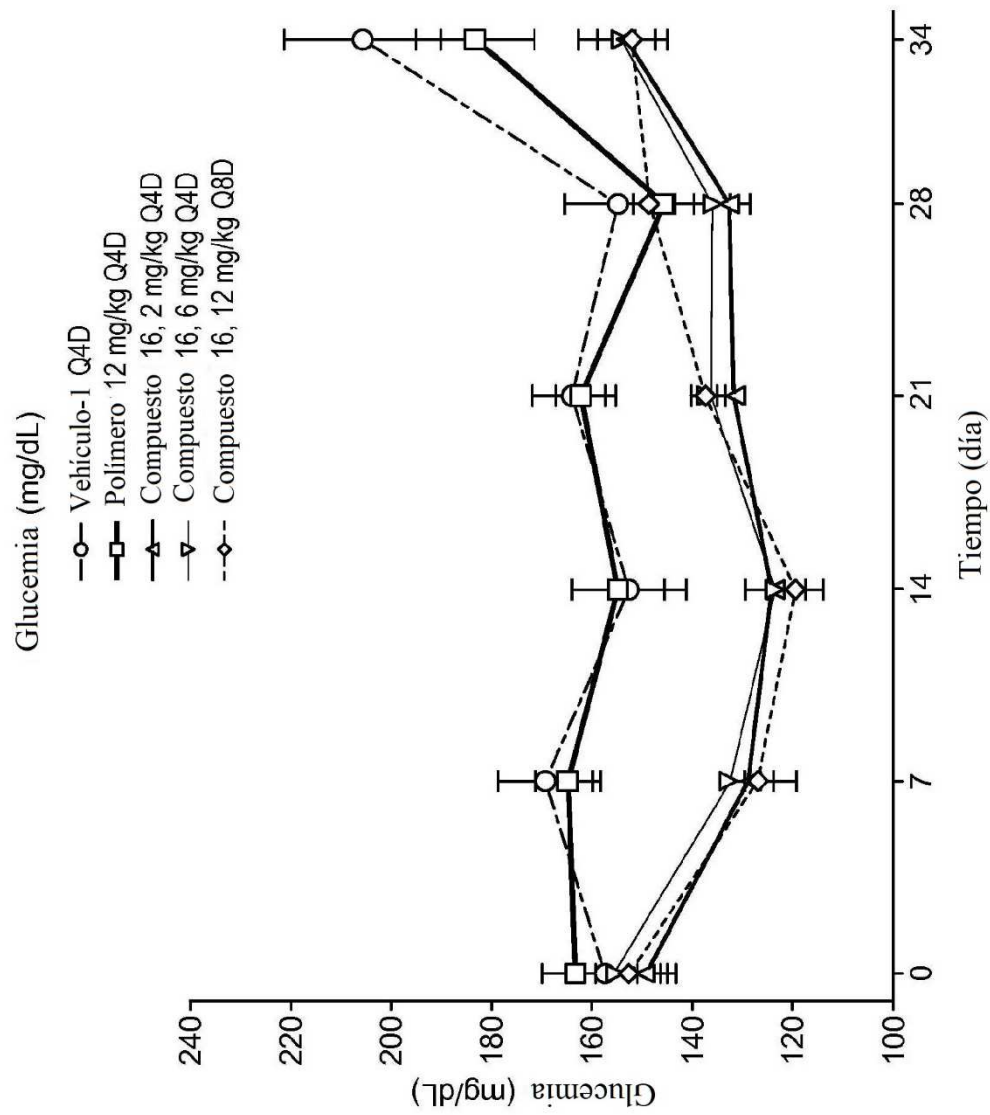


Figura 25

