



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 323 589**

51 Int. Cl.:
A61K 31/282 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04803751 .9**
96 Fecha de presentación : **10.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1708693**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **11.10.2006**

54 Título: **Compuestos farmacéuticos que contienen complejos de platino con xantatos secundarios y sus utilidades terapéuticas.**

30 Prioridad: **10.12.2003 EP 03028298**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
21.07.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
21.07.2009

73 Titular/es: **Deutsches Krebsforschungszentrum
Stiftung des öffentlichen Rechts
Im Neuenheimer Feld 280
69120 Heidelberg, DE
Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**

72 Inventor/es: **Amtmann, Eberhard;
Friebolin, Wolfgang y
Schilling, Gerhard**

74 Agente: **Durán Moya, Luis Alfonso**

ES 2 323 589 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos farmacéuticos que contienen complejos de platino con xantatos secundarios y sus utilidades terapéuticas.

La presente invención se refiere a compuestos farmacéuticos que contienen determinados complejos de platino con xantatos secundarios y a su utilización para el tratamiento de tumores y de enfermedades autoinmunes.

La quimioterapia es todavía indispensable para el tratamiento del cáncer. A pesar de los avances en la cirugía y radioterapia, la mortalidad ha permanecido virtualmente sin cambios para la mayor parte de cánceres en las décadas anteriores al descubrimiento de cisplatino (cis-diclorodiamina-platino(II)), que fue un paso hacia adelante importante en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, de ovario, pulmón y testículos. En la actualidad los compuestos de platino siguen siendo un componente importante de los regímenes quimioterapéuticos. Todos los compuestos de platino en utilización clínica son derivados de cisplatino con dos grupos amino en posición cis.

No obstante, todavía falta un agente quimioterapéutico perfecto. Recientemente se ha descrito un complejo de platino basado en azufre como complejo formador de átomos, bis(O-etil-ditiocarbonato)platino(II), designado "tioplatino" con actividad antitumoral contra una serie de líneas tumorales humanas (Amtmann y otros, Cancer Chemother. Pharmacol. 47 (2001), 461-466; US 2002/004526; EP-B1-1 107 751). De modo sorprendente, se ha descubierto que el Tioplatino mostraba una citotoxicidad significativamente más elevada cuando las células tumorales eran cultivadas en un medio de pH 6,8 en comparación con un medio de pH 7, 4. Dado que en tumores sólidos un pH de 6,8 y más bajo ha sido observado frecuentemente, se podía esperar un índice terapéutico mejorado con Tioplatino. Ciertamente, el Tioplatino ha demostrado actividad antitumoral en tumores humanos xenotransplantados en ratones naturales, que era comparable con la de cisplatino, no obstante, se observó una toxicidad significativamente más baja en el riñón, intestino delgado y en las células blancas de la sangre. No obstante, se ha descubierto que el "tioplatino" no es suficientemente soluble, y por lo tanto, existe necesidad de complejo de platino y xantogenato que muestren solubilidad mejorada e incluso actividad citostática más elevada y, preferentemente, menores efectos secundarios.

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es dar a conocer compuestos farmacéuticos que contienen complejos de platino y xantogenato que tienen una actividad citostática más elevada, es decir, mayor efectividad con dosis bajas y que tienen un menor efecto tóxico sobre las células sanas, en comparación con los complejos disponibles hasta el momento.

La solución de dicho problema técnico se consigue al dar a conocer las mejoras que se caracterizan en las reivindicaciones.

A efectos de establecer relaciones de estructura-actividad, se prepararon y se analizaron derivados de "tioplatino" (=Bis(O-etilditiocarbonato)platino(II)). Se sintetizaron veinte complejos bis(O-alquil-ditiocarbonato)platino(II) distintos y se comprobaron en cuanto a la actividad citotóxica en un panel de seis líneas tumorales humanas. Se pudieron caracterizar derivados que tenían una actividad 7 veces mayor en comparación con "tioplatino" y una actividad hasta 25 veces mayor que cisplatino. Cuando se analizaron en cuanto a su actividad antitumoral *in vitro* varios complejos bis(O-ditiocarbonato)platino(II) se encontró una correlación entre la lipofilicidad de los residuos y la actividad. Los complejos derivados de xantatos secundarios mostraron una actividad significativamente mayor que los derivados de xantatos primarios con el mismo número de átomos de C. Igual que "tioplatino", todos los complejos de platino comprobados tenían mayor actividad a pH 6,8 que a pH 7,4. Un pH de 6,8 e inferior ha sido encontrado frecuentemente en los tumores sólidos, debido a la tendencia de las células tumorales a la fermentación anaeróbica. Medicamentos con esta actividad antitumoral dependiente de pH tienen un índice terapéutico mejorado en comparación con medicamentos que tienen actividad con independencia del pH.

Por lo tanto, la presente invención se relaciona con un compuesto farmacéutico que contiene como mínimo uno de los siguientes compuestos (activos):

Bis(O-isopropilditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-(1-etil)propilditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-(1,2,2-trimetil)propilditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-ciclobutilditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-ciclopentilditiocarbonato)platino(II) y/o

Bis(O-ciclohexilditiocarbonato)platino(II).

La expresión "por lo menos uno" significa uno, dos, tres o más, hasta la totalidad de los compuestos indicados.

Los compuestos antes mencionados son producidos, preferentemente, en un procedimiento que se caracteriza por el hecho de que se lleva a cabo una reacción de intercambio de ligandos a partir de un complejo de platino, por ejemplo,

ES 2 323 589 T3

cis-clorodiaminaplatino(II), con el correspondiente xantogenato de manera conocida. Este procedimiento es descrito, por ejemplo, en los ejemplos que se adjuntan más adelante y en el documento EP-BI-1 107 751.

Los compuestos de la presente invención son adecuados para el tratamiento de varias enfermedades cancerosas, tales como tumores testiculares, carcinomas de ovario, carcinomas de vejiga, carcinomas prostáticos de colon, carcinomas bronquiales parvocelulares y no parvocelulares, carcinomas de partes cefálica y cervical, carcinomas de región torácica y abdominal, carcinomas cervicales y endometriales, sarcomas y melanomas, así como leucemias. El tratamiento del carcinoma bronquial parvocelular o carcinoma colorectal es preferente. El tratamiento puede ser llevado a cabo también como tratamiento asociado con radioterapia o antes y/o después de una operación.

De forma adicional, los compuestos de la presente invención son adecuados para el tratamiento de una enfermedad autoinmune, por ejemplo, artritis reumática, lupus eritematoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple.

Los compuestos de la presente invención son fácilmente tolerables y muestran una actividad incrementada hasta 7 veces en comparación con "tioplatino" y hasta 25 veces en comparación con cisplatino. Cuando se utiliza una dosificación que tiene efectos antitumorales satisfactorios, difícilmente tienen lugar efectos secundarios. En particular, la temida nefrotoxicidad conocida en el cisplatino no ha tenido lugar todavía de esta manera en el caso de estos compuestos. Otra ventaja de los compuestos según la presente invención es que tienen un amplio espectro de actividad contra los tumores más variables y son particularmente efectivos también contra tumores que han resistido tratamiento con compuestos de platino hasta el momento (por ejemplo, cisplatino). Los compuestos de la invención son particularmente adecuados para tumores sólidos.

Otra ventaja consiste en que la efectividad de los compuestos según la invención es superior en la gama de pH ligeramente ácida con respecto a la alcalina, dado que muchos tejidos tumorales tienen un medio ambiente predominantemente ácido.

El compuesto farmacéutico de acuerdo con la invención puede ser administrado de diferentes maneras, por ejemplo por vía oral, parenteral, cutánea, subcutánea, intravenosa, intramuscular, rectal o intratumoral. La administración intravenosa o intratumoral es preferente, es decir, la administración en ciertos órganos o partes enfermas del cuerpo. El compuesto farmacéutico es administrado a un paciente durante un período a determinar por el médico.

La dosificación del compuesto según la presente invención se determina por el médico mediante parámetros específicos del paciente, tales como edad, peso, sexo, gravedad de la enfermedad, etc. La dosis está comprendida preferentemente entre 0,001 y 1000 mg/kg de peso corporal.

De acuerdo con el tipo de administración, el compuesto farmacéutico es formulado de manera adecuada, por ejemplo en forma de tabletas simples o dotadas de recubrimiento, cápsulas de gelatina blanda o dura, material en polvo para reconstitución antes de su utilización, materiales en polvo granulares, supositorios, óvulos, inyectables, soluciones de infusión, pomadas, cremas, geles, microesferas, implantes, que son producidos de acuerdo con procesos galénicos convencionales.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados opcionalmente junto con otras sustancias activas y con excipientes habituales en compuestos farmacéuticos, por ejemplo, dependiendo de la preparación a producir: talco, goma arábiga, lactosa, almidón, estearato magnésico, manteca de cacao, portadores acuosos o no acuosos, adipoides de origen animal o vegetal, derivados de parafina, glicoles (particularmente polietilenglicol), varios plastificantes, dispersantes o emulsionantes, preservantes.

Se pueden utilizar para la producción de preparados líquidos aditivos, tales como solución de cloruro sódico, etanol, sorbitol, glicerol, aceite de oliva, aceite de almendras, propilenglicol o etilenglicol.

Se producen preferentemente infusiones o soluciones inyectables. Son preferentemente soluciones o suspensiones acuosas, siendo posible producirlas antes de su utilización, por ejemplo a partir de preparados liofilizados que contienen la sustancia activa como tal juntamente con un portador, tal como manitol, lactosa, glucosa, albúmina y similares. Las soluciones preparadas para su utilización son esterilizadas y opcionalmente mezcladas con coadyuvantes, por ejemplo conservantes, estabilizantes, emulsionantes, coadyuvantes de solución, tampones y/o sales para controlar la presión osmótica. La esterilización puede ser conseguida por filtrado estéril a través de filtros que tienen reducido el tamaño de poros, después de la cual el compuesto puede ser opcionalmente liofilizado. Pequeñas cantidades de antibióticos pueden ser añadidos también a efectos de mantener la esterilidad.

Es ventajosa la disposición del preparado farmacéutico según la invención en forma de dosis unitaria para administración a un mamífero que requiere tratamiento anticáncer.

La invención se refiere también a compuestos farmacéuticos que contienen una cantidad terapéuticamente efectiva del ingrediente activo (compuesto según la invención) junto con portadores y diluyentes, respectivamente, orgánicos o inorgánicos, inertes, sólidos o líquidos, farmacéuticamente compatibles, que son adecuados para la administración prevista y que no muestran interacciones desfavorables con los ingredientes activos.

Los compuestos farmacéuticos de acuerdo con la invención, comprenden como sustancia activa como mínimo una sustancia activa, tal como se ha definido en lo anterior. Opcionalmente, se pueden añadir otras sustancias farmacéuticamente activas al compuesto, tales como agentes inmunosupresores, por ejemplo ciclosporina, rapamicina, 15-deoxispergualina, OKT3, azatioprina; citocinas (por ejemplo TNF), interferon, etc. Además, el compuesto según la invención puede contener adicionalmente un esteroide u otros agentes citostáticos (por ejemplo, metotrexato, aminopterina, dacarbacina, compuestos nitrosos de urea, fluorouracil, bleomicina, daunomicina, daunorubicina, doxorubicina, mitramicina, mitomicina C, etc.).

La invención se refiere también a un procedimiento para la producción de un compuesto farmacéutico, que se caracteriza por la mezcla de un compuesto de la invención con un portador farmacéuticamente compatible.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Actividad citotóxica sobre líneas celulares cancerosas humanas, valores IC_{50} para citotoxicidad en células MCF-7, Calu-6, LXF-289, SK-MEL-25, SK-OV3 y KB a pH 6,8. Las barras del fondo indican valores IC_{50} obtenidos en las correspondientes líneas celulares a pH 7,4. Los valores exactos y desviaciones estándar (SD) se indican en la tabla 1.

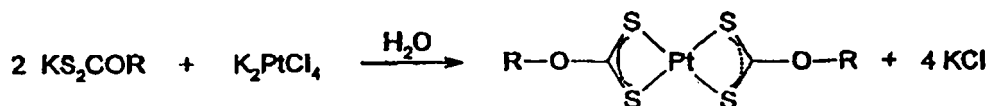
Figura 2: Cociente medio de IC_{50} a pH 7,4/ IC_{50} a pH 6,8. Valores medios \pm SD de IC_{50} a pH 7,4/ IC_{50} a pH 6,8 para las seis líneas de células tumorales humanas objeto de prueba. Se obtuvieron para cuatro líneas celulares IC_{50} en ambas condiciones de pH.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la invención.

Ejemplo 1

Síntesis de los complejos 15-20 de bis(O-alkil-ditiocarbonato)platino(II)

Todos los alquilxantatos fueron preparados de acuerdo con procedimientos publicados (Jensen y otros, Acta Chem. Scand. 1969, 23, 1916-1934; Rao S.R.; "Xanthates and Related Compounds", 1971, Marcel Dekker, New York). Los xantatos fueron purificados por cristalización o precipitación a partir de acetona-dietiléter o pentano. Se obtuvieron cristales o sólidos desde incoloros hasta color amarillo brillante. Se hicieron reaccionar alquilxantatos de potasio (o sodio) (KS_2COR o NaS_2COR con R=correspondientes a compuestos 15-20) con tetracloroplatinato (II) dipotásico (K_2PtCl_4) tal como se muestran en el siguiente esquema:



Una solución de 3,6 mmol del alquilxantato potásico adecuado en 5 ml de agua fue añadida a 1,2 mmol K_2PtCl_4 disuelto en 10 ml de agua. Se pudo observar precipitación inmediata de un sólido de color amarillo. En el caso de alquilxantatos con cadenas de carbono largas la reacción progresó solamente de forma lenta. La mezcla fue agitada durante una noche a temperatura ambiente. El precipitado fue filtrado, lavado tres veces con agua destilada y cristalizado a partir de acetona/cloroforno. El disolvente restante fue retirado en vacío a 10^{-3} torr durante 1-2 días. Los rendimientos aislados estaban comprendidos entre 73-99%.

Se verificaron las estructuras de los complejos de bis(O-alkil-ditiocarbonato)platino(II) mediante 1H , ^{13}C y ^{195}Pt NMR-, espectroscopia IR y UV y espectrometría de masas. El análisis de combustión (C, H, S) concordó con los valores calculados dentro de un intervalo de $\pm 0,3\%$.

Todos los complejos de platino (II) formaron cristales de color amarillo que eran estables a temperatura ambiente en presencia de luz y aire durante varias semanas. Fueron insolubles en agua, ligeramente solubles en DMSO o acetona (1-3 mg/ml) y solubles en $CHCl_3$. Todos los derivados fueron cristalizados a partir de acetona o soluciones de acetona/ $CHCl_3$. Si bien eran bastante inestables en DMSO, los complejos mostraron ser estables disueltos en $CHCl_3$ o acetona por un periodo de 1-2 meses, con almacenamiento a 4°C.

Los puntos de fusión fueron determinados en capilares abiertos con un aparato de punto de fusión electrotrémico Büchi y no se corrigieron. Los espectros 1H y ^{13}C NMR fueron registrados en $CDCl_3$ en un instrumento Bruker AC 300 operando a 300 y 75 MHz respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) están indicados en partes por millón (ppm) con respecto a tetrametilsilano como referencia interna. Las siguientes abreviaturas son utilizadas para describir un modelo pico cuando es apropiado: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), p (pentet), m (múltiplet), c (centrado). Se registraron espectros ^{195}Pt NMR en $CDCl_3$ en un instrumento Bruker DRX 300 a 107 MHz con K_2PtCl_4 como referencia interna. Se registraron espectros de infrarrojos en un Bruker Vector 22 en KBr. Se utilizan las siguientes abreviaturas para describir la intensidad pico: w (débil), m (medio), s (fuerte). Se registraron espectros

ES 2 323 589 T3

UV en un espectrofotómetro Hewlett Packard HP 8452 A en CH_2Cl_2 como disolvente. La absorción máxima λ_{max} se ha indicado en nm, el coeficiente de extinción en $\text{dm}^{-3}\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Se obtuvieron espectros de masas con JEOL JMS-700 (FAB, modalidad positiva, la matriz era m-nitrobenzilalcohol). Se llevó a cabo análisis de combustión (C, H, S) sobre un dispositivo Elemental vario EL y los resultados se encontraban dentro de $\pm 0,3\%$ de los valores teóricos. Todos los agentes químicos disponibles comercialmente fueron utilizados tal como se recibieron (disolventes en calidad p.a.)

1. *Bis(O-isopropil-ditiocarbonato)platino(II)(15)*

rendimiento 93%; pf 159°C; $^1\text{H NMR}$ δ 1,52 (d, $^3J=6,2$ Hz, 6H, CH_3), 5,44 (sept., $^3J=6,2$ Hz, 1H, OCH); $^{13}\text{C NMR}$ δ 21,61 ($2\times\text{CH}_3$), 79,08 (OCH), 233,95 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4190; IR (KBr) 2980 (w), 2929 (w), 1627 (w), 1446 (w), 1362 (s), 1287 (s), 1082 (s), 1007 (m), 897 (w); MS (FAB+) m/z 154, 289, 307, 380, 381, 422, 421, 423, 464, 465 (M^+), 466, 467; UV [nm(ϵ)] λ 252 (29500), 304 (4700), 358 (5700), 448 (2800); Anal. ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

2. *Bis(O-(1-etil)propil-ditiocarbonato)platino (II)(16)*

rendimiento 90%; pf 92°C; $^1\text{H NMR}$ δ 0,97 (t, $^3J=7$, 4 Hz, 12H, CH_3), 1,78-1,86 (m, 8H, CH_2), 5,12 (m_c , 2H, OCH). $^{13}\text{C NMR}$ δ 9,50 ($2\times\text{CH}_3$), 26,51 ($2\times\text{CH}_2$), 88,89 (OCH), 234,79 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4190; IR (KBr) 2968 (w), 2935 (w), 1638 (w), 1457 (w), 1385 (m), 1370 (m), 1304 (s), 1287 (s), 1103 (w), 1017 (m); MS (FAB+) m/z 380, 381, 450, 451, 452, 520, 521 (M^+), 522, 523, 1042 ($\text{M}^+_{\text{Dimer}}$), 1043; UV [nm(ϵ)] λ 252 (44600), 304(6400), 358 (7300), 446 (2300); Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

3. *Bis(O-(1,2,2-trimetil)propil-ditiocarbonato)platino(II)(17)*

rendimiento 88%; pf 170°C (decomp.) $^1\text{H NMR}$ δ 0,98 (s, 18H, CH_3), 1,38 (d, $^3J=6,4$ Hz, 6H, CH_3), 5,05 (q, $^3J=6,4$ Hz, 2H, CH); $^{13}\text{C NMR}$ δ 14,80 (CH_3), 25,56 ($(\text{CH}_3)_3$), 34,99 (Cq), 89,61 (OCH), 234,46 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4195; IR (KBr) 2964 (m), 2870 (w), 1628 (w), 1441 (w), 1370 (s), 1291 (s), 1118 (w), 1045 (m), 1015 (m), 873 (m); MS (FAB+) m/z 307, 381, 405, 466, 547, 548, 549, 550 (M^+), 551, 552, 553, 668, 1099 ($\text{M}^+_{\text{Dimer}}$); UV [nm(ϵ)] λ 252 (38800), 304 (5700), 358 (6800), 446 (2400); Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

4. *Bis(O-ciclobutil-ditiocarbonato)platino (II)(18)*

rendimiento 79%, pf 155°C; $^1\text{H NMR}$ δ 1,71 (m_c , 2H, CH_2), 1,93 (m_c , 2H, CH_2), 2,37-2,44 (m, 4H, CH_2), 2,45-2,57 (m, 4H, CH_2), 5,35 (p, $^3J=6$, 4 Hz, 2H, OCH); $^{13}\text{C NMR}$ δ 13,55 (CH_2), 30,10 ($2\times\text{CH}_2$), 77, 23 (OCH), 233,31 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4210; IR (KBr) 2990 (w), 2942 (w), 1637(w), 1364 (m), 1278 (s), 1261 (s), 1126 (m), 1126 (m), 1040 (m), 1014 (m), 885 (m); MS (FAB+) m/z 307, 460, 489, 490, (M^+), 491, 492, 979, 980($\text{M}^+_{\text{Dimer}}$); UV [nm(ϵ)] λ 252 (45700), 306 (7700), 450 (3100); Anal. ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

5. *Bis(O-ciclopentil-ditiocarbonato)platino (II) (19)*

rendimiento 75%; pf 156°C (decomp.); $^1\text{H NMR}$ δ 1,63-1,71 (m, 4H, CH_2), 1,72-1,86 (m 4H, CH_2), 1,96-2,10 (m, 8H, CH_2), 5,58 (m, 2H, OCH); $^{13}\text{C NMR}$ δ 23,80 ($2\times\text{CH}_2$), 32,81 ($2\times\text{CH}_2$), 88,02 (OCH), 233,95 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4196; IR (KBr) 2960(w), 2924 (w), 1637 (w), 1429 (w), 1369 (m), 1331 (m), 1282 (s), 1156 (m), 1020 (m), 925 (m), MS (FAB+) m/z 307, 329, 460, 517, 518, (M^+), 519; UV [nm(c)] λ 252 (39400), 304 (5400), 360 (6300), 448 (1900); Anal. ($\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

6. *Bis(O-ciclohexil-ditiocarbonato)platino(II)(20)*

rendimiento 97%, pf 162°C (decomp.); $^1\text{H NMR}$ δ 1,28-1,85 (m, 16H, CH_2), 1,95-2,07 (m, 4H CH_2), 5,15 (m, 2H, OCH); $^{13}\text{C NMR}$ δ 23,30 (CH_2), 24,87 (CH_2), 31,14 (CH_2), 83,66 (OCH), 233,84 (CS_2); $^{195}\text{Pt NMR}$ δ -4189; IR (KBr) 2935 (m), 2856 (m), 1626 (w), 1448 (m), 1377 (m), 1281 (s), 1241 (m), 1151 (m), 1033 (m), 1018 (s), 993 (m), 907 (m), MS (FAB+) m/z 460, 482, 544, 545, 546, (M^+), 547, 548, UV [nm(ϵ)] λ 252 (36800), 304 (5800), 360 (7200), 448 (3200), Anal. ($\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{S}_4\text{Pt}$) C, H, S.

Sistema de cristal: Monoclínico; grupo espacial P21/c; con $a=10,3154(4)$ Å, $b=9,4968(3)$ Å, $c=18,6967(7)$ Å y $\alpha=90^\circ$, $\beta=100,118(1)^\circ$, $\gamma=90^\circ$. Distancias: Pt1-S2 2,3182(7) Å, Pt1-S1#1 2,3237(6) Å, Ángulos: S1-Pt1-S1#1 177,19 (3)°, S1-Pt1-S2#1 104,67(2)°, S1-Pt1-S2 74,94(2)°.

Ejemplo 2

Determinación de la actividad antitumoral de los compuestos 15 a 20 contra células de cáncer humano en cultivo de tejidos

(A) Líneas celulares y materiales

Se obtuvieron de ATCC Calu-6 (adenocarcinoma, pulmón), SK-MEL-25 (melanoma), MCF-7 (carcinoma de mama), LXF-289 (adenocarcinoma, pulmón) SK-OV-3 (adenocarcinoma, ovario), KB (carcinoma celular escamoso, ca-

ES 2 323 589 T3

beza y cuello) y se cultivaron de acuerdo con las instrucciones del suministrador a 37°C, atmósfera de 5% de CO₂ y 100% humedad relativa.

5 Se adquirió de Bristol Myers PtCl₂(NH₃)₂, en forma de solución de 0,5 mg/ml (Platinex). So obtuvo tioplatino de Antisoma, Londres.

(B) Citotoxicidad y relación estructura-actividad

10 La actividad antitumoral de compuestos fue determinada en medios de cultivos de tejidos de pH 6,8 y 7,4. Las células fueron incubadas durante 2 horas con los compuestos de prueba seguido de incubación durante 24-96 horas con medio inhibidor libre, normal, con pH 7,4. Las sustancias fueron diluidas serialmente en medio de cultivo de tejidos con el pH deseado. Después de incubación, las células supervivientes fueron objeto de tinción con violeta cristal y se midió la densidad óptica en un lector ELISA. La concentración necesaria para reducir el número de células en 50% (IC₅₀) fue determinada a partir de curvas de dosis-respuesta para cada compuesto. Los resultados se han
15 indicado en la tabla 1.

Sistemas secundarios alquilo 15-20 mostraron la actividad más elevada de todos los compuestos estudiados. Cuando se compararon con los correspondientes sistemas n-alquilo se obtuvieron valores IC₅₀ reducidos de dos a tres veces. Este efecto es muy evidente al comparar r4 y 20. El derivado de ciclohexilo secundario es aproximadamente 10 veces
20 más citotóxico sobre células tumorales que los correspondientes derivados n-hexilo (ver tabla 1 y figura 1).

Además, se ha descubierto que para todos los compuestos comprobados de bis(O-alquilo-ditiocarbonato)platino los valores de IC₅₀ a pH 6,8 fueron inferiores que los de pH 7,4. Dentro de los compuestos objeto de prueba 15-16 y 20 comparten citotoxicidad casi igual si bien existe una diferencia significativa en el cociente de actividad pH 6,8/7,4 (figura 2). Si bien este valor era 2,18 ± 0,49 para 15 era algo más bajo (1,88 ± 0,36) para 20 (que era el compuesto
25 más activo) y llegaba a un valor bajo de 1,35 ± 0,43 para 16. La diferencia entre 15 y 16 es significativa para p = 0,033 (prueba T).

30

(Tabla pasa a página siguiente)

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 1

Línea celular		IC ₅₀ ± SD* [µM]																		
		MCF-7						Calu-6			LXF-289			SK-MEL-25			SK-OV-3			KB
Compuesto	estructura	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	
Cisplatino	(NH ₃) ₂ PtCl ₂	108 ± 27	160 ± 30	113 ± 22,3	83 ± 23,0	78 ± 3,3	90 ± 25,0	64 ± 0,7	90 ± 27,7	55 ± 2,0	52 ± 3,3									
Bis (O-metil)ditiocarbonato platino (II) (r1)		7 ± 1,0	19 ± 4,4	39 ± 9,5	102 ± 19,3	14 ± 5,0	80 ± 25,9	26 ± 2,4	47 ± 2,9	20 ± 1,0	49 ± 2,0									
Bis (O-etil)ditiocarbonato platino (II) (r2; tioplatino)		12 ± 0,2	47 ± 5,3	45 ± 8,0	91 ± 24,9	21 ± 3,0	56 ± 6,2	86 ± 3,2	98 ± 16,5	18 ± 4,0	58 ± 5,0									
Bis (O-propil)ditiocarbonato platino (II) (r3)		4 ± 1,0	9 ± 3,0	37 ± 9,0	49 ± 5,0	10 ± 1,5	21 ± 1,9	45 ± 27,0	50 ± 1,0	12 ± 1,0	38 ± 3,0									
Bis (O-exil)ditiocarbonato platino (II) (r4)		44 ± 5,5	47 ± 25,5	>91	>91	37 ± 3,3	70 ± 10,2	102 ± 13,0	130 ± 7,0	64 ± 4,0	>91									
Bis (O-isopropil)ditiocarbonato platino (II) (15)		3 ± 0,9	7 ± 3,0	10 ± 1,7	30 ± 0,4	6 ± 0,4	12 ± 1,5	14 ± 2,1	33 ± 8,0	6 ± 0,4	10 ± 0,9									
Bis (O-1-etil)propil)ditiocarbonato platino (II) (16)		5 ± 0,2	6 ± 1,5	8 ± 1,3	10 ± 0,8	5 ± 0,2	9 ± 0,4	8 ± 1,5	5 ± 0,6	4 ± 0,6	5 ± 0,4									
Bis (O-4,2-trimetil)propil)ditiocarbonato platino (II) (17)		7 ± 0,5	9 ± 0,5	15 ± 2,7	18 ± 2,5	10 ± 0,2	11 ± 0,2	18 ± 0,9	34 ± 1,5	5 ± 0,5	7 ± 1,3									

(continuación)

Compuesto	structure	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	pH 6,8	pH 7,4	
Bis (O- ciclobutilditiocarbonato) platino (II) (18)		11 ± 0,8	21 ± 1,0	3 ± 0,4	7 ± 1,2	37 ± 1,4	44 ± 0,8	7 ± 1,0	12 ± 3,7	17 ± 2,9	19 ± 4,1	20 ± 2,9
Bis (O- ciclopentilditiocarbonato) platino (II) (19)		5 ± 0,4	10 ± 0,4	3 ± 0,2	5 ± 0,2	37 ± 0,6	38 ± 1,0	5 ± 0,6	9 ± 1,7	17 ± 1,5	26 ± 6,8	24 ± 3,7
Bis (O- ciclohexilditiocarbonato) platino (II) (20)		5 ± 0,2	9 ± 1,5	3 ± 0,4	8 ± 2,0	6 ± 1,8	12 ± 1,1	3 ± 0,7	8 ± 2,4	9 ± 2,2	12 ± 1,6	9 ± 0,7

Los valores ³IC₅₀ fueron determinados a partir de las curvas de respuesta de dosis a pH 6,8 y pH 7,4, respectivamente.
Los valores son la media de cuatro ensayos separados ± SD. r1 a r4 son compuestos de referencia.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto farmacéutico que contiene como mínimo uno de los siguientes compuestos complejos de platino:

5 Bis(O-isopropil-ditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-(1-etil)propil-ditiocarbonato)platino(II),

10 Bis(O-(1,2,2-trimetil)propil-ditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-ciclobutil-ditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-ciclopentilditiocarbonato)platino(II) y/o

15 Bis(O-ciclohexilditiocarbonato)platino(II).

2. Compuesto farmacéutico, según la reivindicación 1, que comprende adicionalmente uno o varios de los compuestos siguientes: ciclosporina, rapamicina, 15-desoxispergualina, OKT3 y/o azotioprina.

20 3. Compuesto farmacéutico, según la reivindicación 1 ó 2, que comprende además una citocina, interferón y/o otro agente citostático.

25 4. Compuesto farmacéutico, según la reivindicación, 3 en que el agente citostático adicional es metotrexato, aminopterina, dacarbacina, compuestos de nitroso urea, fluoracilo, bleomicina, daunomicina, daunorubicina, doxorubicina, mitramicina, mitomicina C.

30 5. Utilización de, como mínimo, un compuesto complejo de platino para preparar un compuesto farmacéutico para tratar una enfermedad cancerosa o autoinmune, en el que dicho complejo de platino es seleccionado a partir de los siguientes compuestos:

Bis(O-isopropil-ditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-(1-etil)propil-ditiocarbonato)platino(II),

35 Bis(O-(1,2,2-trimetil)propil-ditiocarbonato)platino(II),

Bis(O-ciclobutil-ditiocarbonato)platino(II),

40 Bis(O-ciclopentilditiocarbonato)platino(II) y/o

Bis(O-ciclohexilditiocarbonato)platino(II).

45 6. Utilización, según la reivindicación 5, en la que la enfermedad cancerosa es seleccionada entre tumores testiculares, carcinomas de ovario, carcinomas de vejiga, carcinomas de colon, carcinomas prostáticos, carcinomas parvocelulares y no parvocelulares bronquiales, carcinomas de las partes cefálicas y cervicales, carcinomas de las regiones torácica y abdominal, carcinomas cervicales y endometriales, sarcomas, melanomas y leucemias.

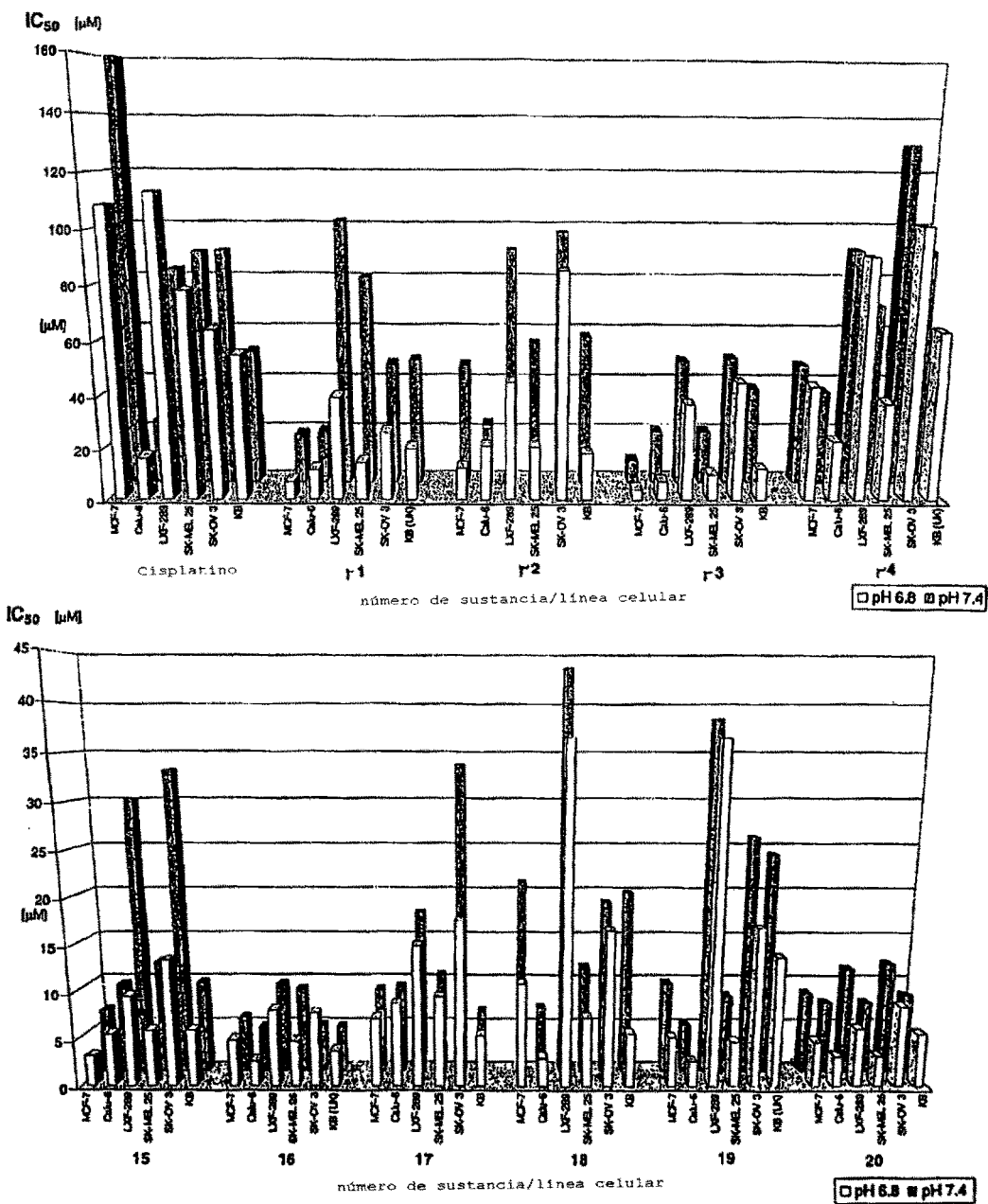
50 7. Procedimiento para la producción del compuesto farmacéutico, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado** porque un compuesto, según la reivindicación 1, y, opcionalmente, uno o varios de los compuestos definidos en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, son mezclados con un portador o diluyente farmacéuticamente compatible.

55

60

65

Figura 1



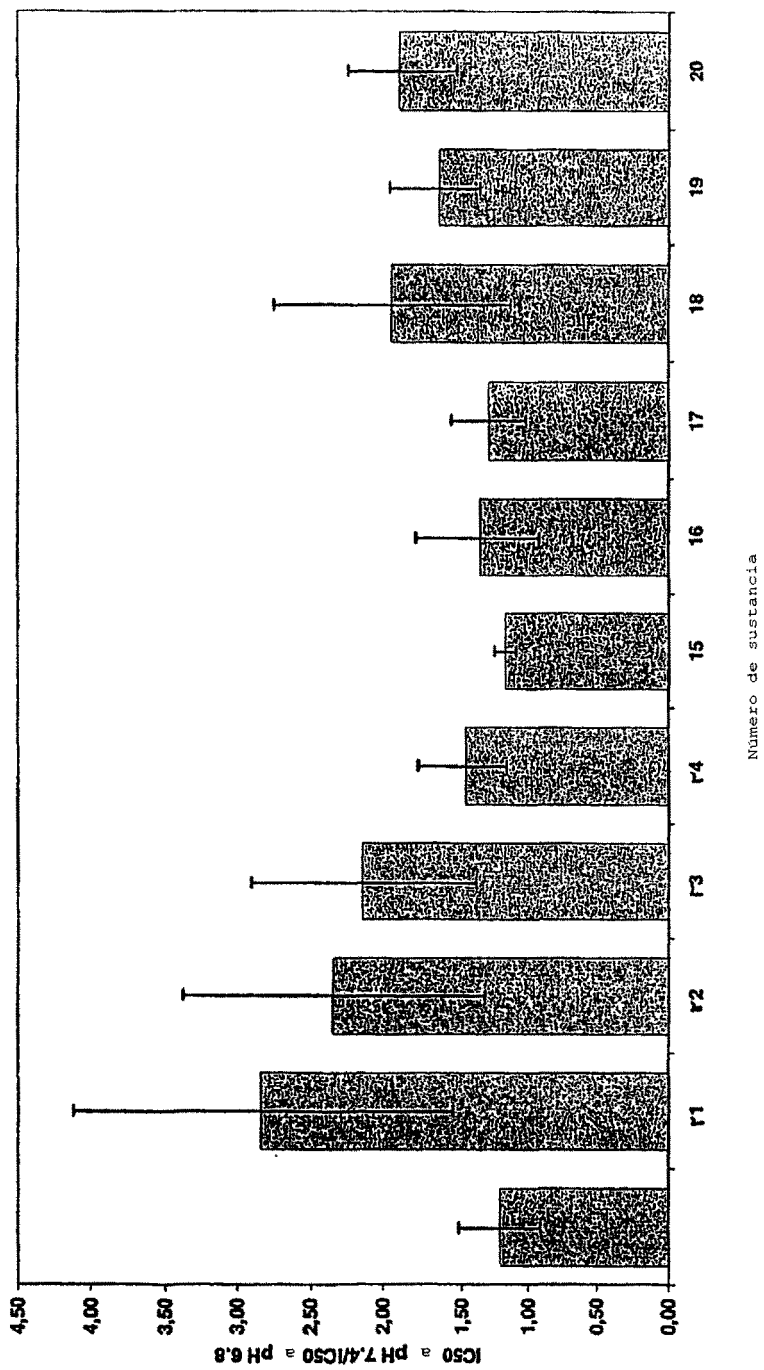


Figura 2