



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 320 439**

51 Int. Cl.:
C08B 37/00 (2006.01)
C08L 5/08 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03748126 .4**
96 Fecha de presentación : **10.10.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1560854**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.08.2005**

54 Título: **Taxanos unidos covalentemente al ácido hialurónico o a derivados del ácido hialurónico.**

30 Prioridad: **18.10.2002 IT PD02A0271**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
22.05.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
22.05.2009

73 Titular/es: **FIDIA FARMACEUTICI S.p.A.**
Via Ponte della Fabbrica 3-A
35031 Abano Terme, Padova, IT

72 Inventor/es: **De Luca, Gilda;**
Marini Bettolo, Rinaldo y
Migneco, Luisa, Maria

74 Agente: **Álvarez López, Fernando**

ES 2 320 439 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).

ES 2 320 439 T3

DESCRIPCIÓN

Taxanos unidos covalentemente al ácido hialurónico o a derivados del ácido hialurónico.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a taxanos, en particular a paclitaxel y docetaxel, unidos covalentemente al ácido hialurónico o a derivados del ácido hialurónico, al proceso para su preparación y a su uso en el campo de la oncología, en el tratamiento de trastornos autoinmunes y reestenosis.

10 **Estado de la técnica**

Los taxanos, y en particular el paclitaxel y el docetaxel, actualmente comercializados bajo los nombres comerciales Taxol® y Taxotere®, son agentes antineoplásicos (Huizing M. T. y col., Cancer Inv., 1995, 13: 381-404) que ejercen su efecto antiproliferativo actuando sobre la organización de los microtubúlos en el sistema citoesquelético celular. De hecho, mediante la inhibición de la despolarización de dichos microtubúlos, impiden su normal reorganización dinámica, que se produce durante la división celular mitótica (Manfredi J. J. y col., J. Cell Biol., 1982, 94: 688-696).

Las principales indicaciones terapéuticas para el paclitaxel son:

tratamiento del cáncer de mama avanzado;

tratamiento del sarcoma de Kaposi;

tratamiento del carcinoma de pulmón (no microcítico)

carcinoma de ovario, resistente a la quimioterapia estándar.

Además, dicha quimioterapia se usa también para tratar el carcinoma de vejiga, de próstata y de endometrio.

Dado que el paclitaxel es insoluble en agua, se mezcla con Cremophor® EL (aceite de ricino) - alcohol etílico en una proporción de 1:1, en las composiciones farmacéuticas usadas actualmente en la quimioterapia oncológica (Pfeifer R. W. y col., Am. J. Hosp. Pharm., 1993, 50: 2520-2521). Esta formulación se usa habitualmente para una infusión intravenosa continua (durante entre 3 y 24 horas) a una dosis de 135-175 mg/m².

La presencia de Cremophor® EL en la formulación mencionada anteriormente es la principal causa de las reacciones adversas que aparecen normalmente durante la administración del paclitaxel, que varían desde simples ataques de urticaria hasta disnea y broncoespasmo, e incluso un choque anafiláctico (Weiss, R. B. y col., J. Clin. Oncol., 1990, 8: 1263-1268).

Por esta razón, cualquier paciente que vaya a recibir tratamiento con una composición farmacéutica de paclitaxel-Cremophor® EL, debe seguir primero un protocolo de premedicación, con la administración de dexametasona, posiblemente asociada con un antihistamínico.

A pesar de estas precauciones, hasta el 40% de los pacientes que reciben una infusión intravenosa de paclitaxel todavía experimentan reacciones adversas más o menos graves.

Por lo tanto, puede decirse que la formulación de Taxol® actualmente en uso clínico, y los procedimientos usados para administrarla, constituyen una limitación de su eficacia. Esta es la razón por la que ahora se está dirigiendo la investigación hacia la síntesis de nuevas formulaciones farmacéuticas y/o hacia nuevas formulaciones químicas de los anteriores fármacos antineoplásicos, que sean solubles en agua.

Por ejemplo, los investigadores han intentado encapsular el paclitaxel en liposomas, nanocápsulas y microesferas constituidas por una pared de polímero formada por copolímeros biodegradables tales como ácido poliláctico, y copolímeros no biodegradables tales como acetato de etilenoivinilo.

Además, se han preparado microesferas que están cargadas con paclitaxel formadas por un polímero biodegradable tal como un polifosfoéster, para crear un sistema para la liberación prolongada del fármaco en el lugar de tratamiento en el tratamiento del carcinoma de pulmón (Nuijen, B. y col., Investigational New Drugs, 2001, 19: 143-153).

También se han realizado intentos de preparar micelas de dicho fármaco antineoplásico mediante la precipitación del paclitaxel en un disolvente orgánico con fosfatidilcolina/sales biliares (Nuijen, B. y col., Investigational New Drugs, 2001, 19: 143-153).

Sin embargo, estos nuevos sistemas para la encapsulación del paclitaxel pueden resultar problemáticos con respecto a la estabilidad, la producción y la reproducibilidad.

ES 2 320 439 T3

Además, se han realizado varios intentos de disolver el fármaco con ciclodextrina, pero las nuevas formulaciones no daban los resultados deseados (Nuijen, B. y col., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-153).

5 La investigación química sobre nuevas formulaciones de paclitaxel que hagan al fármaco más soluble en agua mientras conserva su eficacia como agente antineoplásico, han conducido a la síntesis de nuevos análogos modificados en las posiciones C2' y C7 (solicitud de patente de ee.uu. nº 2001/0018531), así como a la preparación de nuevos profármacos.

10 Los profármacos son derivados de fármacos terapéuticamente inertes que se activan al ser introducidos en un cuerpo. Aquí, después de procesos de hidrólisis espontánea y/o degradación enzimática, es liberado el principio activo.

15 A la vista de esto, y por las razones mencionadas anteriormente, se han realizado muchos intentos de sintetizar nuevos profármacos que han conducido, por ejemplo, a la preparación de fármacos tales como acetyl-paclitaxel (Mellado, W. y col., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984, 124 (2): 329-336), o a la síntesis de nuevos ésteres de dicho fármaco con ácido succínico, glutárico y sulfónico en el carbono en la posición C2'. Sin embargo, estos ésteres mostraron ser inestables en un entorno acuoso.

20 Además, se han sintetizado algunos derivados con un grupo éster de propionato de fosfonoxifenilo en la posición C2' o C7, tales como carbonato de paclitaxel-2', y una serie de nuevos ésteres de aminoácidos de paclitaxel y derivados de los mismos con un grupo glutarilo en la posición C2'.

25 Se ha demostrado que el glutaril-paclitaxel asparragina y el glutaril-paclitaxel glutamina son los dos productos más solubles en agua obtenidos mediante el tipo de síntesis descrito anteriormente, pero son menos eficaces que el paclitaxel *per se* (Nuijen, B. y col., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-153).

También se sabe que el paclitaxel ha sido esterificado con ácido poli-L-glutámico para formar un nuevo derivado soluble en agua de dicho fármaco quimioterapéutico, con una semivida plasmática significativamente mayor que el paclitaxel no conjugado (Li C. y col., *Cancer Research*, 1998, 58 (11): 2404-2409).

30 El paclitaxel también se han derivatizado con PEG (polietilenglicol) mediante la esterificación del fármaco quimioterapéutico en la posición position C2'; sin embargo, la nueva molécula ha resultado ser altamente soluble en agua pero no muy estable.

35 Finalmente, se ha desarrollado recientemente un nuevo sistema de administración para el fármaco, mediante la conjugación del paclitaxel con albúmina sérica humana (*human serum albumin*, HSA). El conjugado de paclitaxel-HSA ha mostrado ser muy soluble en agua y capaz de portar hasta 30 moléculas del fármaco quimioterapéutico. Sin embargo, los experimentos realizados *in vitro* han demostrado que es menos eficaz frente al cáncer que el paclitaxel *per se* (Nuijen, B. y col., *Investigational New Drugs*, 2001, 19: 143-193).

40 Recientemente, los investigadores han sintetizado un nuevo sistema de administración para el paclitaxel esterificado con ácido hialurónico previamente modificado (denominado en lo sucesivo "AH"), que es AH reaccionado con moléculas de hidracida, unidas al grupo carboxilo del AH mediante un enlace amida (Luo Y. y col., *Biomacromolecules* 2000, 1 (2): 208-218; patente de Ee.Uu. nº 5.874.417). Este nuevo sistema de administración para el paclitaxel permite que el fármaco vaya directamente a la superficie de la membrana de la célula cancerosa objetivo, caracterizada por la sobreexpresión del receptor del AH, el CD44. Consecuentemente, el paclitaxel unido al AH funcionalizado con una hidracida demuestra ser capaz de unirse específicamente al CD44 de la célula cancerosa, y es por tanto capaz (gracias al proceso de endocitosis) de entrar en el citoplasma celular, donde puede ser liberado y activado enzimáticamente, desencadenando su inhibición de la despolarización de la tubulina, y por lo tanto, de la división celular. Este mecanismo de transporte selectivo del fármaco se denomina "focalización celular".

50 Además, se sabe que el AH puede usarse como vehículo de fármacos antineoplásicos en composiciones farmacéuticas en las que el AH está asociado con (y no covalentemente unido a) fármacos quimioterapéuticos, tales como el paclitaxel, para aumentar su eficacia terapéutica gracias al fenómeno de focalización descrito anteriormente (solicitud de patente internacional nº WO00/41730) y para permitir que las dosis habitualmente especificadas en los protocolos normales de quimioterapia puedan disminuirse (solicitud de patente internacional nº WO99/02151).

60 Finalmente, se sabe que el AH de bajo peso molecular y/o los derivados de lipídicos del mismo se usan para preparar liposomas usados para la administración de fármacos, incluyendo fármacos antineoplásicos tales como el paclitaxel (solicitud de patente internacional nº WO01/39815).

En vista de lo que se ha dicho anteriormente, todavía se siente la necesidad de nuevos derivados de taxanos que sean estables y solubles en agua, y tan terapéuticamente eficaces como al menos los taxanos no modificados.

Resumen de la invención

65 El Solicitante ha averiguado ahora que mediante la unión covalente de los taxanos al AH o a derivados del AH, opcionalmente mediante un separador, se obtienen productos estables y solubles en agua, útiles para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de tumores, trastornos autoinmunes y reestenosis.

ES 2 320 439 T3

Es por lo tanto el sujeto de la invención un taxano unido covalentemente al AH o a un derivado del AH, en el que el enlace covalente está formado entre los grupos hidroxilo del taxano y los grupos carboxilo del AH o de los derivados del AH mediante un separador que une el taxano al AH o al derivado del AH, en el que el enlace covalente entre el grupo carboxílico del ácido hialurónico y el separador es un enlace éster.

La presente invención se refiere adicionalmente a los procesos para la preparación de estos taxanos unidos covalentemente al AH o a derivados del AH.

Un sujeto adicional de la invención son las composiciones farmacéuticas que comprenden como sustancia activa al menos uno de estos taxanos unido covalentemente al AH o a derivados del AH, y su uso en el tratamiento de tumores, trastornos autoinmunes y reestenosis.

Los presentes taxanos unidos covalentemente al AH o a derivados del AH tienen muchas ventajas, que pueden resumirse como sigue:

1) son instantáneamente solubles en el torrente sanguíneo;

2) no necesitan ser mezclados con Cremophor® El para la preparación de las formulaciones, superando así los anteriormente mencionados problemas relativos a hipersensibilidad y anafilaxia;

3) gracias a la acción enzimática de enzimas tales como las que esterifican, presentes habitualmente en el plasma, los taxanos son instantáneamente liberados de su vehículo AH o derivado de AH a partir de las composiciones presentes en la sangre, donde pueden desempeñar libremente su actividad antineoplásica;

4) permiten la obtención de un nuevo fármaco que, en el caso de ciertos tipos de cáncer, puede ejercer una sorprendente actividad quimioterapéutica, que es significativamente mayor que la obtenida cuando se administra un taxano no conjugado, cuando se consideran las mismas dosis de fármaco.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 muestra el porcentaje de supervivencia después del implante de células neoplásicas según se describe en el Ejemplo 1 para los controles (histograma negro), y para ratones que recibieron paclitaxel (histograma gris), y paclitaxel unido covalentemente al éster del AH con un 16% de esterificación (histograma blanco) preparado según el Ejemplo 7.

La figura 2 muestra el poder farmacológico expresado como la CI_{50} y resultante de los experimentos del Ejemplo 2, del paclitaxel unido covalentemente a derivados éster del AH con un 16% de esterificación (histograma gris), un 22% de esterificación (histograma negro) y un 6,8% de esterificación (histograma blanco) para cuatro líneas celulares de cáncer de mama, frente al producto de referencia paclitaxel.

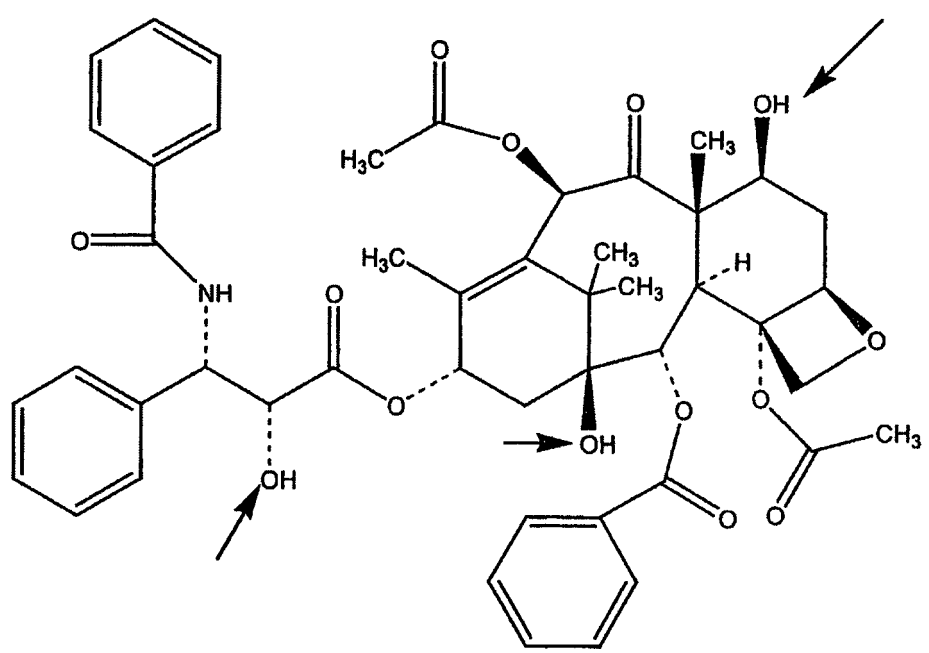
La figura 3 muestra el porcentaje de supervivencia después del implante de células neoplásicas según se describe en el Ejemplo 3, en ratones de control (línea discontinua) y en ratones que recibieron gel ACP® (línea continua).

La figura 3 muestra el porcentaje de paclitaxel unido covalentemente al éster del AH preparado según se describe en el Ejemplo 7, liberado en plasma humano según se describe en el Ejemplo de prueba 13, frente al tiempo.

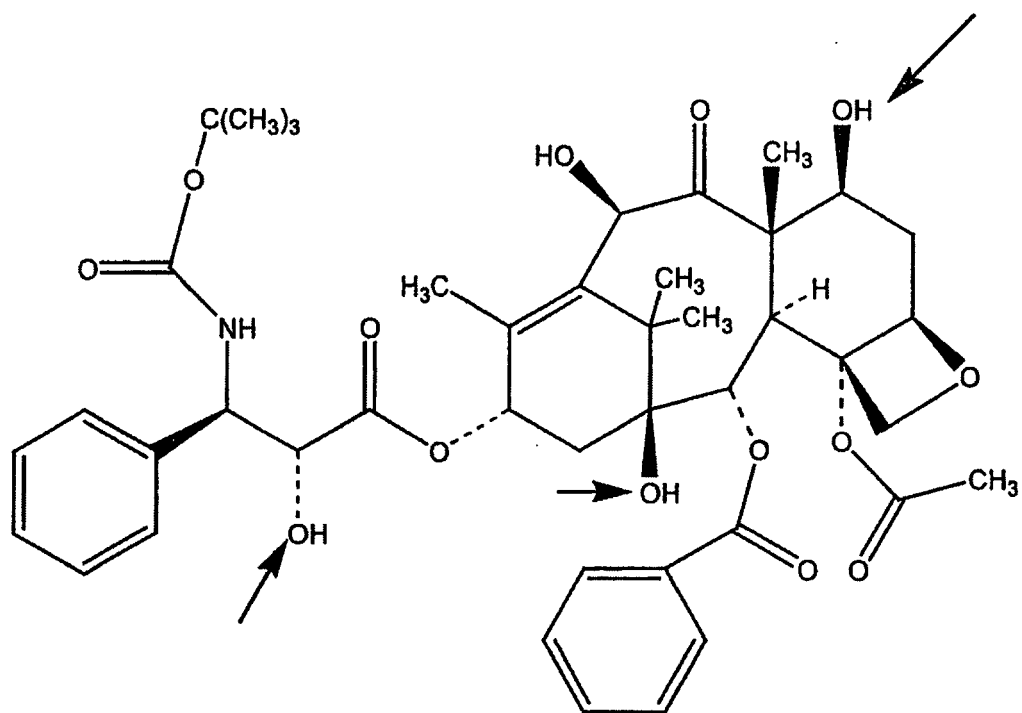
Descripción detallada de la invención

La presente invención describe compuestos pertenecientes a la familia de los taxanos, preferiblemente paclitaxel y docetaxel, representados en lo sucesivo mediante las fórmulas (I) y (II) respectivamente, unidos covalentemente al AH o a derivados del AH, mediante un separador como interfase entre el componente taxano y el AH o el derivado del AH, estando unido covalentemente a ambas moléculas.

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



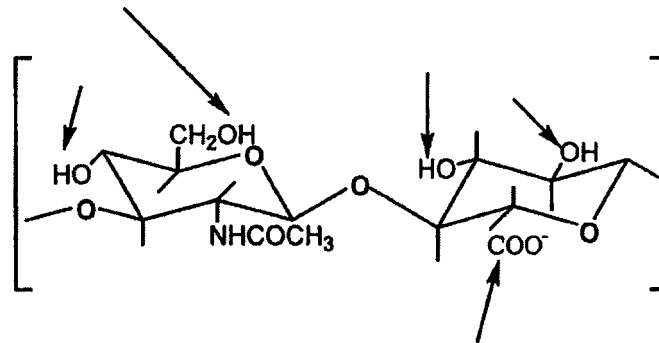
(I)



(II)

ES 2 320 439 T3

El AH es un heteropolisacárido formado por residuos alternos de ácido hialurónico y N-acetil-D-glucosamina, con la siguiente unidad repetitiva:



El AH es un polímero de cadena lineal con un peso molecular que puede variar entre 50.000 y 13×10^6 Da, según su origen y el procedimiento usado para obtenerlo. Está presente en la naturaleza en los geles pericelulares, que la sustancia fundamental del tejido conectivo de organismos vertebrados (de la cual es uno de sus principales componentes), en el líquido sinovial de las articulaciones, en el humor vítreo y en el cordón umbilical. El AH juega un papel importante en el organismo biológico, como un soporte mecánico de las células de muchos tejidos tales como la piel, los tendones, los músculos y el cartílago. Es el componente principal de la matriz extracelular, pero tiene otras funciones, tales como la hidratación de los tejidos, la lubricación, y la migración y la diferenciación celulares.

El AH usado en la presente invención puede extraerse de cualquier fuente, por ejemplo, de crestas de gallos, o puede obtenerse por la vía de fermentación, o por medios tecnológicos, y puede tener un peso molecular de entre 400 y 3×10^6 Da, en particular de entre 400 y 1×10^6 Da, y preferiblemente, de entre 400 y 230.000 Da.

Los derivados del AH según la presente invención se eligen preferentemente del grupo formado por los siguientes derivados del AH:

- AH salificado con bases orgánicas y/o inorgánicas;

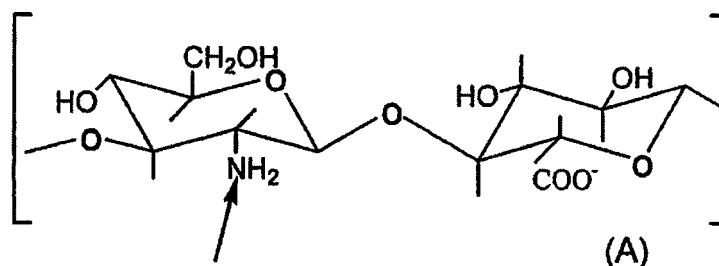
- Hyaft[®]: ésteres del AH con alcoholes de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica, con un grado de esterificación que puede variar según el tipo y la longitud del alcohol usado, y que en ningún caso es superior al 50% de esterificación, y es preferiblemente de entre el 0,1 y el 20%, dado que el polímero final que se obtiene debe ser siempre soluble en agua, mientras que el porcentaje restante de AH no esterificado puede salificarse con bases orgánicas y/o inorgánicas, descrito en la patente de Ee.Uu. n° 4.851.521, incorporada adjunta como referencia;

- Hyadd[™]: amidas del AH con aminas de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica, con un porcentaje de amidación de entre el 0,1 y el 10%, dado que el polímero final debe ser siempre soluble en agua, mientras que el porcentaje restante de AH que no está amidado puede salificarse con bases orgánicas y/o inorgánicas, descrito en la solicitud de patente europea n° 1095064 incorporada adjunta como referencia;

- derivados del AH O-sulfatados hasta el 4° grado de sulfatación, descritos en la patente de ee.uu. n° 6.027.741, incorporada adjunta como referencia;

- ACP[®]: ésteres interiores del AH con un porcentaje de esterificación de no más del 15%, ya que el polímero debe ser siempre soluble en agua, preferiblemente entre el 0,05 y el 10% de esterificación, mientras que el porcentaje restante de AH no esterificado puede salificarse con bases orgánicas y/o inorgánicas, descrito en la patente europea n° 0341745B1, incorporada adjunta como referencia;

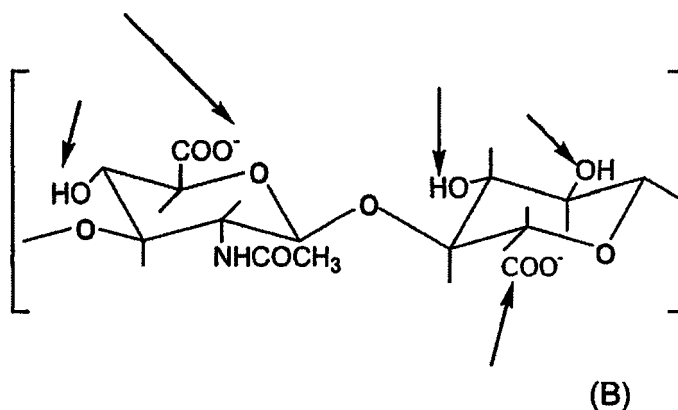
- desacetilatos del AH: proceden de la desacetilación de la unidad de N-acetilglucosamina con un porcentaje de desacetilación preferiblemente de entre el 0,1 y el 30%, mientras que todos los grupos carboxílicos del AH pueden salificarse con bases orgánicas y/o inorgánicas, según se ilustra en la siguiente estructura (A):



ES 2 320 439 T3

Los desacetilatos del AH se describen en la solicitud de patente internacional n° WO02/18450 que incorporamos adjunta como referencia;

- HyoxTM: derivados percarboxilados del AH obtenidos mediante la oxidación del hidroxilo primario de la unidad de N-acetilglucosamina con un porcentaje de percarboxilación de entre el 1 y el 100%, preferiblemente de entre el 25 y el 75%. Todos los grupos carboxílicos del AH pueden salificarse con bases orgánicas y/o inorgánicas según se ilustra en la siguiente estructura (B):



Los derivados percarboxilados del AH se describen en la solicitud de patente de ee.uu. n° US2003181689.

Además, los presentes compuestos en los que un taxano, y en particular paclitaxel, está unido covalentemente a un éster del AH, pueden obtenerse partiendo de moléculas de AH no modificadas químicamente, y sólo después de la síntesis con el fármaco quimioterapéutico, modificar el AH esterificándolo con los alcoholes enumerados anteriormente para los productos Hyaff[®], o mediante la formación de ésteres interiores tales como en el caso del ACP[®] (véase el Ejemplo 8).

Los derivados del AH enumerados anteriormente, que son particularmente importantes en el proceso de síntesis del profármaco AH-taxano, y en particular del profármaco AH-paclitaxel, son los derivados desacetilados y sulfatados, porque con los mismos porcentajes de paclitaxel unido al ácido hialurónico previamente sin modificar, dan lugar a un producto final más soluble en el torrente sanguíneo.

Se sabe que mediante el receptor de membrana CD44, el AH modula muchos procesos diferentes relativos a la fisiología y la biología celulares, tales como la proliferación, la diferenciación y la locomoción de las células cancerosas y de otras células.

La bibliografía científica ha demostrado recientemente la eficacia del AH frente al cáncer, cuando se inyecta AH como tal directamente en el crecimiento o neoplásico. Se ha probado que es capaz de determinar la completa regresión del 30% de los tumores (Herrera-Gayol, A. y col., *Experimental and Molecular Pathology*, 2002, 72: 179-185).

También se sabe que el AH puede asociarse con cualquier fármaco quimioterapéutico para preparar muchas composiciones farmacéuticas diferentes, ya que es capaz de actuar como un segundo agente antineoplásico que incrementa sinérgicamente la acción antineoplásica del fármaco asociado con él (solicitud de patente internacional n° WO01/47561); alternatively, el AH se reivindica como un fármaco antineoplásico que debe administrarse por sí solo en diversos protocolos clínicos para la reducción/regresión del crecimiento neoplásico (solicitud de patente internacional n° WO97/40841).

El presente taxano unido covalentemente al AH o a derivados del AH, según se mencionó anteriormente, difiere de todas las formulaciones de taxanos, en particular, el enlace covalente del paclitaxel con el AH o derivados del AH, opcionalmente mediante un separador, hace que el paclitaxel sea soluble en agua, sin disminuir su eficacia farmacológica.

De hecho, el experimento *in vivo* descrito en el Ejemplo 1 demuestra claramente la misma eficacia antineoplásica del presente paclitaxel conjugado y del paclitaxel no conjugado, cuando se administran las mismas dosis.

Además, el AH-paclitaxel puede presentar unas propiedades farmacológicas inesperadas que son diferentes a las del paclitaxel no conjugado, especialmente en el caso de ciertos tipos de tumores.

De hecho, el Ejemplo 2 demuestra claramente que el presente derivado éster del AH unido al paclitaxel tiene una nueva actividad farmacológica antineoplásica: en el modelo de citotoxicidad *in vitro* descrito a continuación, el presente AH-paclitaxel muestra una sorprendente actividad antineoplásica, que es muy superior a la que ejerce el paclitaxel solo no conjugado.

ES 2 320 439 T3

Esta nueva propiedad antineoplásica significa que los presentes taxanos, en particular el paclitaxel, conjugados con AH o derivados del AH, pueden usarse para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles como fármacos quimioterapéuticos, no sólo para el tratamiento de todas las formas de tumores para las que se administra Taxol[®], sino también para otras formas de tumores que normalmente no se tratan con Taxol[®], tales como cáncer de estómago y de hígado, cáncer de colon, melanoma y leucemia. Además, puede usarse en trastornos autoinmunes sistémicos tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis autoinmune y finalmente, tiroiditis de Hashimoto.

El uso de los presentes productos en un nuevo tratamiento farmacológico para las patologías anteriormente mencionadas es posible gracias a que el nuevo compuesto de AH-paclitaxel reduce la toxicidad sistémica del Taxol[®], incrementando así la eficacia terapéutica del propio fármaco, dado que:

- es soluble en agua;

- no está asociado con Cremophor[®] EL, y por lo tanto está libre de los efectos tóxicos que éste produce;

- es igualmente eficaz a unas dosis contundentemente menores que (o iguales a) las usadas normalmente en los protocolos clínicos.

También se conoce el uso del paclitaxel como un fármaco a usar para inhibir el proceso de reestenosis que generalmente sigue a las angioplastias (prevalentemente arteriales), derivaciones coronarias y trasplantes de órganos.

Los presentes taxanos, y en particular el paclitaxel, unidos covalentemente al AH o a derivados del AH, también pueden usarse para la prevención de reestenosis, o pueden usarse para formar un recubrimiento interior en endoprótesis vasculares y otros dispositivos implantados después de las operaciones vasculares mencionadas anteriormente, ya que se ha demostrado que es posible unirlos químicamente a la superficie de dichas endoprótesis vasculares o adsorberlos fácilmente sobre éstas.

En cualquier caso, el tiempo de permanencia de los presentes productos en la superficie de la endoprótesis vascular, y consecuentemente su liberación gradual al torrente sanguíneo, es mayor que el del paclitaxel no conjugado porque las características fisicoquímicas del AH favorecen una liberación progresiva, lenta pero continua, del Taxol[®] desde la superficie del dispositivo.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los presentes taxanos unidos covalentemente al AH o a derivados del AH pueden ser administradas por vía sistémica (por vía intravenosa o arterial, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea u oral), pueden usarse para su aplicación tópica (mediante absorción transdérmica), o pueden administrarse directamente en el lugar del cáncer mediante inyección.

El AH o un derivado del mismo unido covalentemente al paclitaxel, también puede actuar como un fármaco antineoplásico *per se*.

En el siguiente Ejemplo 3, el Solicitante demuestra cómo el tratamiento de crecimientos tumorales inducidos experimentalmente en ratones atímicos con el derivado reticulado del AH, el ACP[®], determina una significativa reversión del tumor en comparación con los controles no tratados.

El Solicitante describe por tanto por primera vez un nuevo papel del AH y los derivados del mismo, que constituyen los presentes productos taxano-AH o derivado de taxano-AH, como agentes antineoplásicos y sus correspondientes usos en el campo de oncología.

Los presentes taxanos unidos covalentemente al AH o a derivados del AH pueden, además, estar asociados con diversas moléculas biológica y farmacológicamente activas, tales como, por ejemplo, esteroides, hormonas, proteínas, factores tróficos, vitaminas, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, fármacos quimioterapéuticos, antagonistas del calcio, antibióticos, agentes antivíricos, interleucinas y citocinas tales como interferón.

De este modo es posible obtener muchas asociaciones diferentes de los anteriormente mencionados fármacos y las correspondientes diferentes composiciones farmacéuticas que comprenden los taxanos de la invención.

La presente invención también se refiere al proceso de preparar los presentes taxanos, en particular paclitaxel, unidos covalentemente al AH o a derivados del AH; los presentes productos pueden conseguirse mediante una síntesis indirecta que implica la introducción de un separador entre el taxano y el AH o el derivado del AH.

Los grupos funcionales del AH o de los derivados del AH que pueden reaccionar con el taxano indirectamente mediante un separador son los grupos carboxilo.

El separador puede elegirse, por ejemplo, del grupo formado por una cadena alifática o aralifática, lineal o ramificada, sustituida con uno o más grupos elegidos de entre los grupos hidroxilo, carboxilo o carbonilo, epóxidos, cloruros de acilo, mercaptanos, nitrilos, halógenos, anhídridos, isocianatos e isotiocianatos, y grupos amino.

ES 2 320 439 T3

De entre los posibles separadores son preferibles los bromuros de ácidos carboxílicos con entre 2 y 18 átomos de carbono, y en particular aquellos con entre 3 y 10 átomos de carbono; son más preferidos del ácido 3-bromopropiónico y el ácido 4-bromobutírico.

5 La síntesis indirecta da lugar a la formación de los siguientes tipos de enlaces éster covalentes entre el separador y el AH o los derivados del AH, en los que el grupo carboxílico del separador adecuado elegido, tal como el ácido 4-bromobutírico, es activado mediante un agente de activación tal como carbodiimida, y así se hace adecuado para la síntesis con el grupo hidroxilo del taxano (preferiblemente el del carbono C2'), tal como paclitaxel. Subsiguientemente, mediante el contacto directo en un disolvente anhidro con una sal de amonio cuaternario, en particular la sal de tetrabutilamonio (TBA) del AH o el derivado del AH, se obtiene una sustitución nucleofílica del carboxilo del AH o del derivado del AH en el bromo del separador. De este modo se forma un enlace éster entre el AH o el derivado del AH y el separador, unido a su vez al paclitaxel. Alternativamente, la sustitución nucleofílica del grupo carboxilo del AH o del derivado del AH en el bromo del separador puede producirse antes de la unión entre el propio separador y el taxano (Esquema 1, a continuación).

15 - mediante el uso de los agentes de activación del grupo carboxilo del AH o del derivado del AH, tales como la carbodiimida, es posible obtener un enlace éster entre dicho grupo y la función hidroxilo del separador (elegido adecuadamente), previamente o subsiguientemente unido al paclitaxel (Esquema 2, a continuación).

20

(Esquema pasa a página siguiente)

25

30

35

40

45

50

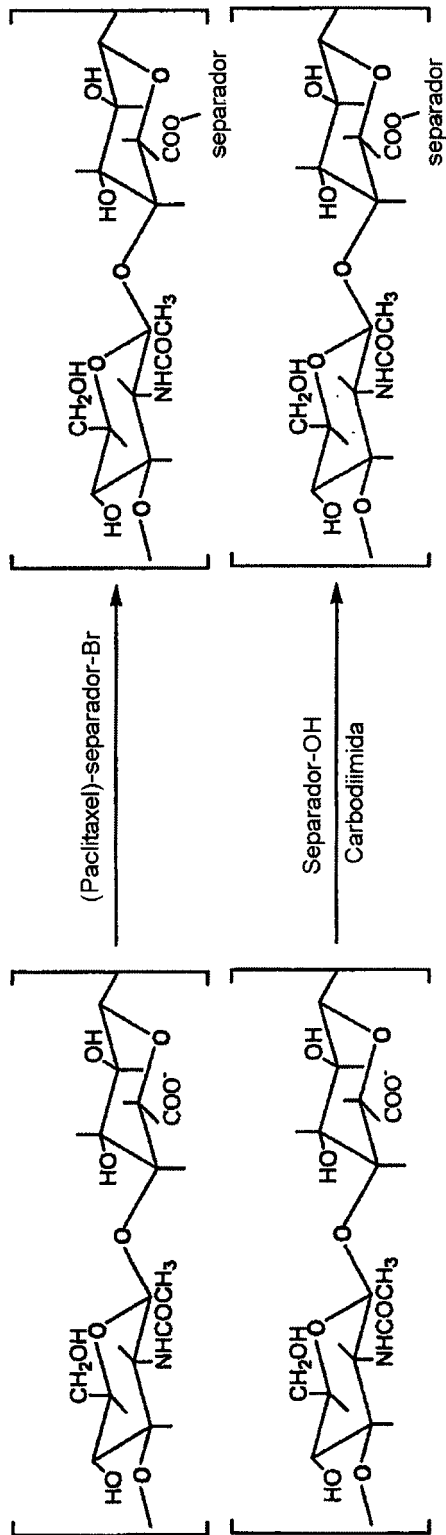
55

60

65

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

Esquemas 1-2



ES 2 320 439 T3

Del mismo modo, el enlace que implica al separador y a un taxano tal como el paclitaxel, puede ser de tipo éster, tal como se indica en el esquema 3, a continuación, uretano o tiouretano acetálico o cetálico, y puede requerir la presencia de un agente de activación, especialmente para los enlaces éster y uretano.

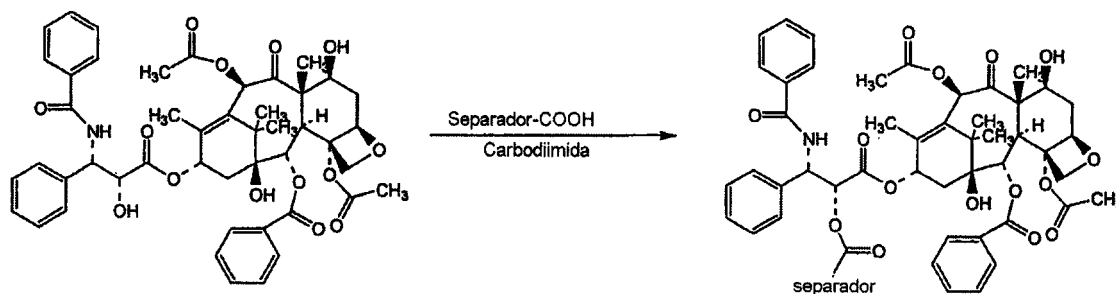
5

Esquema 3

10

15

20



25

El separador puede unirse al taxano, tal como el paclitaxel, antes o después de su conexión con los grupos funcionales del AH o de los derivados del AH, dependiendo del tipo de grupo funcional del separador adecuadamente elegido.

El porcentaje de conexión directa o indirecta del taxano, tal como el paclitaxel, con el AH o el derivado del AH, puede variar entre el 0,1% y el 100%, y preferiblemente entre el 0,1% y el 35%.

30

Los siguientes ejemplos se aportan para proporcionar ilustraciones no limitantes de la presente invención.

Ejemplo 1

35

Efecto del nuevo derivado éster del AH con paclitaxel en ratones atímicos tras la implantación de células neoplásicas

Para este experimento usamos células de adenocarcinoma de ovario humano, células OVCAR-3, en ratones atímicos inmunodeprimidos pertenecientes a la especie Athymic CD-1.

40

A cada ratón se le inocularon por vía intraperitoneal 5×10^6 células cancerosas.

Diseño experimental

Fármacos de prueba:

45

Taxol[®], 5 animales tratados

HYTAD1p20: derivado éster del AH unido covalentemente al paclitaxel con un 16% de esterificación del carboxilo (p/p). El peso molecular del AH usado para la síntesis de este nuevo fármaco era de 200.000 Da (véase el Ejemplo 7 para los detalles de su preparación). También se usaron cinco animales para este fármaco.

50

Animales tratados: primero se inocularon 10 animales con células OVCAR-3s. Se usaron cinco para el experimento con Taxol[®] y otros cinco para el experimento con HYTAD1p20:

55

los diez animales recibieron subsiguientemente, mediante inyección intraperitoneal, 3 dosis del tratamiento farmacológico (en los días 6, 13 y 20 tras la inoculación de las células cancerosas), equivalentes a 20 mg/kg de peso corporal de Taxol[®] o 125 mg/kg de peso corporal de HYTAD (correspondientes a 20 mg/ratón de paclitaxel).

60

Animales de control: primero se inocularon 5 animales con la suspensión inductora de cáncer de células OVCAR-3, tras lo cual no recibieron ningún tratamiento.

Determinación de la curva de supervivencia

65

La curva de supervivencia fue calculada a partir de los datos de la intervención en el día 92 después de la inoculación de las células cancerosas en el peritoneo.

ES 2 320 439 T3

Resultados: los resultados obtenidos están ilustrados en la Figura 1.

Tres animales de control desarrollaron adenocarcinoma de ovario y murieron entre los días 70 y 75 después de la inoculación de las células cancerosas. En el día 92 después de la intervención, el último día del experimento, ninguno de los animales que había recibido tratamiento farmacológico con paclitaxel o HYTAD había muerto.

Ejemplo 2

10 *Experimento in vitro*

La finalidad del experimento *in vitro* era principalmente definir el perfil de actividad de los nuevos derivados éster del AH unidos al paclitaxel, y evaluar/comparar la actividad antineoplásica de los derivados del HYTAD frente al paclitaxel, determinando así su potencial farmacológico, en comparación con el fármaco antineoplásico.

15 *Diseño experimental*

Productos de prueba:

20 Taxol®: producto de referencia

HYTAD1p20 - HYTAD2p20 - HYTAD2p10: derivados éster del AH unidos covalentemente al paclitaxel con un 16% de esterificación del carboxilo (p/p) (en el caso del HYTAD1p20, el peso molecular del AH usado en la síntesis de este nuevo fármaco es de 200.000 Da) (véase el Ejemplo 7 para los detalles de su preparación) o un 22% (en el caso del HYTAD2p20, el peso molecular del AH usado es de 39.000 Da), o un 6,8% (en el caso del HYTAD2p10, el peso molecular del AH usado es de 39.000 Da).

Líneas celulares

30 *Líneas celulares de origen humano*

Se usaron cuatro líneas celulares de cáncer de mama humano. Las cuatro estirpes celulares de prueba respondieron normalmente al paclitaxel y expresaron al receptor CD44 aparentemente con la misma amplificación.

35 MCF-7

MDA-MB-231

40 MDA-MB-468

SKBR-3

Protocolo experimental:

45 la línea celular de prueba se coloca en placas a una concentración de 3.000 células por pocillo, en una placa de 96 pocillos de fondo redondo;

24 horas después, las células se complementan con las disoluciones de prueba adecuadamente diluidas en medio de cultivo;

50 después de otras 72 horas, las células se ensayan mediante colorimetría con bromuro de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazolio (MTT); al evaluar la viabilidad celular, ésta prueba también revela la diferente sensibilidad de las células al fármaco de prueba. Esto es posible porque la deshidrogenasa mitocondrial es capaz de reducir las sales de tetrazolio (amarillas) a cristales azules de formazán. La mayor o menor intensidad del color es evaluada mediante espectrofotometría (Dezinot, F. y col., J. Immunol. Methods, 1986, 22 (89): 271-277).

Resultados

60 A continuación referimos, en forma de tabla y gráfico en la Figura 2, los resultados obtenidos en términos de CI_{50} (la concentración de fármaco necesaria para inhibir el crecimiento celular en un 50% con respecto al producto de prueba, y las diferentes líneas celulares usadas).

65 En la Figura 2, el eje de abscisas representa el poder farmacológico, expresado como CI_{50} y calculado como la proporción entre las concentraciones molares, frente al producto de referencia (paclitaxel) al que convencionalmente se le asigna un valor de cero. Consecuentemente, las rayas indican un poder farmacológico que es mayor que el producto de referencia. CI_{50} (expresada como nM o μ M de paclitaxel o de sus derivados HYTAD en el medio de cultivo).

ES 2 320 439 T3

| Líneas celulares | Taxol® | HYTAD2p20 | HYTAD1p20 | HYTAD2p10 |
|------------------------------------|---------|-----------|-----------|-----------|
| Líneas celulares de cáncer de mama | | | | |
| MCF/7 | 3,5 nM | 0,86 nM | 0,024 nM | 0,68 nM |
| MDA/MB/231 | 0,35 nM | 2,58 nM | --- | 0,24 µM |
| MDA/MB/468 | 9,4 nM | --- | 0,18 nM | --- |
| SKBR/3 | 0,23 nM | --- | --- | 0,14 nM |

20 Conclusiones

Según se refiere en la bibliografía, todas las líneas celulares usadas son sensibles al taxol, un fármaco usado principalmente para tratar carcinomas metastásicos de mama y de ovario. Con respecto a las líneas celulares de cáncer de mama, los diversos HYTAD demostraron ser considerablemente más fuertes que el paclitaxel, con un factor de +150 con respecto al HYTAD1p20 sobre la línea celular cancerosa MCF-7.

Ejemplo 3

30 Efecto del gel de ACP® en ratones atímicos después de la implantación de células neoplásicas

Para este experimento usamos células de carcinoma de colon humano HT29 en ratones atímicos inmunodeprimidos pertenecientes a la especie Athymic Nude-nu (nu/nu).

35 Cada animal fue anestesiado, y se inyectaron 0,3 ml de una suspensión de células HT29 en su cavidad peritoneal a una concentración de 166.000 células/ml. Por lo tanto, cada ratón recibió 50.000 células cancerosas.

Diseño experimental

40 *Animales tratados:* en primer lugar se inocularon las HT29 en 113 animales, e inmediatamente después recibieron una única dosis de tratamiento equivalente a 0,2 ml de gel de ACP® a 40 mg/ml;

Animales de control: se inocularon 117 animales con una suspensión de células cancerosas HT29, pero no recibieron tratamiento.

45 *Curva de supervivencia:* la curva de supervivencia se calculó a partir del día de inoculación y hasta el día de la muerte. Las muertes fueron verificadas o provocadas por el sacrificio de los animales cuyo peso había disminuido más del 20% de su peso de partida, y en el caso de hemoperitoneo, indica metástasis difusas. El porcentaje de supervivencia en los dos grupos se determinó diariamente y se expresó como un gráfico para obtener la curva referida en la Figura 3.

50 El experimento duró 120 días, tras los cuales todos los animales supervivientes fueron sacrificados y examinados necroscópicamente para comprobar la presencia de tumores abdominales.

55 *Resultados:* 32 animales de los 230 no habían desarrollado ninguna neoplasia notable. 22 de estos animales pertenecían al grupo de ratones tratados con gel de ACP®, 10 al grupo de control.

Gel de ACP®: el 19,5% de los animales tratados no desarrolló neoplasias;

Control: el 8,5% de los animales de control no desarrolló neoplasias.

60

Ejemplo 4

65 Preparación de AH con un peso molecular de entre 5.000 y 10.000 Daltons (para la posible síntesis de AH-paclitaxel con AH de bajo peso molecular)

Se disuelven 2,40 g de AH sódico con un peso molecular de 990.000 Da en 240 ml de una disolución de NaCl 0,15 M. Entonces esto se complementa con 7,9 ml de una disolución de NaOCl al 14%. A una temperatura constante

ES 2 320 439 T3

de +4°C, se aplican ultrasonidos a la disolución durante 120 min a una frecuencia de 20 Hz y a 150 W. Una vez completada la reacción, se ajusta el pH a 6,5 con HCl 0,1 N, y entonces la disolución se precipita en 1.000 ml de una mezcla 2:1 de metanol/acetona. El producto se recoge mediante filtración y se seca a vacío durante 48 horas a 45°C. Así se obtienen 1,65 g de la sal sódica. El análisis mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC)-GPC revela que la fracción de AH obtenida tiene un peso molecular medio (MW) de 5.850, un peso molecular numérico medio (MN) de 3.640 y un índice de polidispersidad de 1,61.

Ejemplo 5

Preparación de un derivado éster del AH unido al paclitaxel con una esterificación del carboxilo de aproximadamente el 4% p/p

Se disuelven 51 mg de paclitaxel en CH₂Cl₂ y la disolución se complementa con 104 mg de 1-(3-dimetilamino-propil)-3-etilcarbodiimida (EDC) y 20 mg de ácido bromobutírico. Subsiguientemente, la disolución se particiona en agua. Después de eliminar los residuos de carbodiimida y bromuro, el disolvente de reacción se seca con sulfato sódico anhidro y se elimina con un evaporador rotatorio. Se disuelven 21 mg del producto así obtenido en n-metilpirrolidona (NMP) y se añaden a una disolución de 20 mg/ml de AH salificado con tetrabutilamonio (TBA) en NMP (200 mg en 10 ml de NMP). Después de una reacción de siete días a temperatura ambiente, la disolución se diluye con 5 ml de agua y 1 ml de una disolución saturada de NaCl. La disolución así obtenida se agita durante 1 hora para permitir el intercambio del sodio con el ión TBA. Subsiguientemente, se añade lentamente etanol gota a gota, y el producto filamentoso así obtenido se disuelve en agua, se dializa y finalmente se liofiliza.

Ejemplo 6

Preparación de un derivado éster del AH con paclitaxel con una esterificación en el carboxilo de aproximadamente el 10% p/p

Como en el ejemplo 5, 5.308,7 mg de paclitaxel disueltos en 15 ml de diclorometano se complementan con 117,2 mg de ácido 4-bromobutírico y 614,1 mg de EDC. Subsiguientemente se añade agua a la disolución para eliminar todo el bromuro y la carbodiimida. La disolución orgánica así obtenida se complementa con sulfato sódico para deshidratarla, mientras que el disolvente se elimina con un evaporador rotatorio. Finalmente se obtienen 363 mg del producto intermedio.

Se añaden 175 mg del producto intermedio así obtenido a 1 g de AH-TBA disuelto en 25 ml de NMP anhidro. La disolución se agita a temperatura ambiente durante 7 días, tras lo cual se añaden 20 ml de agua y 4 ml de una disolución saturada de NaCl. Se agita durante 1 hora para permitir el intercambio del sodio con el ión TBA. Subsiguientemente, se añade lentamente etanol gota a gota, y el producto filamentoso así obtenido se disuelve en agua, se dializa y finalmente se liofiliza.

Ejemplo 7

Preparación de un derivado éster del AH con paclitaxel con una esterificación en el carboxilo de aproximadamente el 16% p/p

Se añaden 164 mg del producto intermedio obtenido según el procedimiento descrito en los ejemplos anteriores nº 5 y 6, a una disolución de 680 mg de AH-TBA disuelto en 25 ml de NMP anhidro. Después de 7 días de reacción a temperatura ambiente, la disolución se complementa con 20 ml de agua y 4 ml de una disolución saturada de NaCl. Después de 1 hora se añade lentamente etanol gota a gota. El producto obtenido se recoge mediante filtración y se disuelve en agua, se dializa y cuando la conductividad de la disolución en diálisis desciende por debajo de 10 µS, se congela. La disolución congelada a continuación se liofiliza.

Ejemplo 8

(Ejemplo de referencia)

Preparación de un derivado éster del AH con paclitaxel con una esterificación en el hidroxilo de aproximadamente el 10% p/p

Se disuelven 102,6 mg de paclitaxel en 5 ml de diclorometano, y la disolución se complementa con 20,4 mg de anhídrido succínico. Tres horas después el disolvente se elimina mediante evaporación usando un evaporador rotatorio. El producto así obtenido se disuelve en 5 ml de dimetilsulfóxido (DMSO) con un bajo contenido en agua, y se añaden 27,3 mg de dicitohexilcarbodiimida. Aproximadamente 5 minutos después, la disolución se complementa con una disolución de AH-TBA, obtenida disolviendo 327 mg de polímero en 15 ml de DMSO con un bajo contenido en agua. La disolución se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas. Subsiguientemente se añaden a la

ES 2 320 439 T3

disolución unos pocos ml de agua y 3 ml de una disolución saturada de NaCl. Después de 1 hora se precipita mediante la adición de etanol. El producto filamentososo recogido mediante filtración se disuelve en agua, se dializa y finalmente se liofiliza.

5

Ejemplo 9

Preparación de un derivado éster del AH con paclitaxel con una esterificación en el carboxilo de aproximadamente el 4% p/p

10

Se complementan 510,1 mg de paclitaxel disueltos en 6 ml de diclorometano con 95,4 mg de ácido 3-3-bromo-propiónico y 525,0 mg de EDC. Subsiguientemente se añade agua a la disolución para eliminar el bromuro y la carbodiimida mediante particionamiento, mientras que se usan 10 volúmenes de agua para eliminar los reactivos. La disolución orgánica se complementa con sulfato sódico para deshidratarla, y el disolvente se elimina con un evaporador rotatorio.

15

Se añaden 155,5 mg del producto intermedio así obtenido a 1,46 g de AH-TBA disuelto en NMP anhidro, y la disolución así obtenida se agita a temperatura ambiente durante 7 días. Subsiguientemente se añaden 20 ml de agua y 4 ml de una disolución saturada de NaCl. La disolución se agita durante 1 hora para permitir el intercambio del sodio con el ión TBA. Entonces se añade etanol lentamente gota a gota, y el producto filamentososo así obtenido se disuelve en agua, se dializa y finalmente se liofiliza.

20

Ejemplo 10

25

Preparación de un derivado éster del ácido hialurónico con una esterificación en el carboxilo de aproximadamente el 30% p/p

Se disuelven 500 mg de paclitaxel en CH_2Cl_2 y la disolución se complementa con 397,6 mg de 1-(3-dimetilamino-propil)-3-etilcarbodiimida (EDC) y 300,9 mg de ácido 4-bromobutírico. Subsiguientemente, la disolución se particiona en agua. Una vez que los residuos de carbodiimida y bromuro han sido eliminados, el disolvente de reacción se seca con sulfato sódico anhidro y se elimina con un evaporador rotatorio. El producto así obtenido se disuelve en NMP y se añade a una disolución que contiene ~20 mg/ml de ácido hialurónico salificado con TBA en NMP (1,95 g en 100 ml de NMP). Después de una reacción de 7 días a temperatura ambiente, la disolución se diluye con 20 ml de agua y 4,5 ml de una disolución saturada de NaCl. La disolución se agita durante 1 hora para permitir el intercambio del sodio con el ión TBA. Subsiguientemente, se añade lentamente etanol gota a gota, y el producto filamentososo así obtenido se disuelve en agua, y se dializa, y finalmente se liofiliza.

30

35

Ejemplo 11

40

Preparación del éster parcial autorreticulado (aproximadamente un 10% de sustitución) del AH con un 8% p/p de paclitaxel

Se solubilizan 3,10 g of AH salificado con TBA en 150 ml de DMSO con un bajo contenido en agua a temperatura ambiente. Entonces la disolución se complementa con 541,0 mg de paclitaxel intermedio obtenido según el procedimiento descrito en los ejemplos 5, 6 y 7. Una vez que se ha dejado reaccionar durante 7 días a temperatura ambiente, la disolución de reacción se complementa con 126,5 g de trietilamina, y el total se agita durante 30 minutos.

45

Se añade lentamente gota a gota una disolución de 319,5 g de yoduro de 2-cloro-1-metilpiridina en 30 ml de DMSO durante un intervalo de 45 min, y la mezcla se deja a 30°C durante 15 horas.

50

Se añade una disolución formada por 50 ml de agua y 1,7 g de cloruro sódico, y la mezcla resultante se vierte lentamente en 400 ml de acetona con agitación continua. Se forma un precipitado que se filtra y se lava tres veces con 50 ml de acetona:agua 5:1, y tres veces con acetona (50 ml). El producto final así obtenido se seca a vacío a 38°C.

55

Ejemplo 12

Pruebas de solubilidad del éster de AH-paclitaxel obtenido según el Ejemplo 5 en una disolución de glucosa al 5%

60

Se disolvieron 14,6 mg de un producto AH-paclitaxel obtenido mediante esterificación según el Ejemplo 7 (partiendo de un AH con un peso molecular de 200 kDa) con un grado de sustitución en el carboxilo del 16,3% p/p, en 1 ml de una disolución acuosa de glucosa al 5%. La disolución, agitada con una barra de agitación magnética, puede ser filtrada a través de un filtro esterilizante de 0,20 μm adaptado en una jeringa. La concentración de paclitaxel en la disolución es de 2,38 mg/ml.

65

ES 2 320 439 T3

También intentamos averiguar la concentración máxima de producto por ml de disolución acuosa de glucosa al 5%. A una concentración de 32,8 mg de producto de AH-paclitaxel por ml de disolución de glucosa, se obtiene una disolución viscosa con una concentración de paclitaxel de 5,35 mg/ml.

5

Ejemplo 13

Pruebas de recuperación del paclitaxel desde plasma humano

10 Se prepara una disolución que está constituida por 101,3 mg de AH-paclitaxel en 10 ml de agua. El AH-paclitaxel se prepara según se describe en el Ejemplo 7.

La prueba de recuperación se realiza poniendo en contacto 40 mg de la disolución anteriormente descrita con 2 ml de plasma humano a 37°C.

15

Para determinar el paclitaxel que es liberado en el plasma mediante su separación del AH, se establecieron tres tiempos de contacto: 6, 30 y 60 minutos. Al final de cada intervalo de contacto, se extrajo el paclitaxel de la disolución de plasma-AH-paclitaxel con 3 lavados, cada uno con 1,5 ml de terbutilmetil éter (TBME), que fueron recogidos conjuntamente, evaporados a sequedad mediante evaporación natural a 65°C, y resuspendidos en 400 μ l de etanol absoluto, para determinar el contenido del fármaco en cuestión mediante HPLC (cromatografía líquida de alta presión, *High Pressure Liquid Chromatography*). Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4: después de 6 minutos, más del 80% del paclitaxel se había separado del AH, y el porcentaje no había aumentado en los tiempos de observación posteriores.

20

25 Estando así descrita la invención, está claro que estos procedimientos pueden modificarse de diversas formas. Dichas modificaciones no deben considerarse como divergencias del espíritu y el propósito de la invención, y cualquiera de dichas modificaciones que puedan parecer evidentes a un experto en el campo quedan dentro del ámbito de las siguientes reivindicaciones.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico, en el que el enlace covalente, mediante un separador, está formado entre los grupos hidroxilo del taxano y los grupos carboxilo del ácido hialurónico o de un derivado del ácido hialurónico, y el enlace entre los grupos carboxílicos del ácido hialurónico o el derivado del mismo y el separador, es un enlace éster.
2. El taxano según la reivindicación 1, en el que el taxano se elige de entre paclitaxel y docetaxel.
3. El taxano según la reivindicación 1, en el que dicho taxano es paclitaxel.
4. El taxano según la reivindicación 1, en el que el ácido hialurónico tiene un peso molecular de entre 400 y 3×10^6 Da.
5. El taxano según la reivindicación 4, en el que el ácido hialurónico tiene un peso molecular de entre 400 y 1×10^6 Da.
6. El taxano según la reivindicación 4, en el que el ácido hialurónico tiene un peso molecular de entre 400 y 230.000 Da.
7. El taxano según la reivindicación 1, en el que el ácido hialurónico está salificado con bases orgánicas y/o inorgánicas.
8. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por ésteres del ácido hialurónico con alcoholes de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica, teniendo dichos ésteres un grado de esterificación igual o menor del 50%.
9. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por amidas del ácido hialurónico con aminas de las series alifática, aralifática, cicloalifática, aromática, cíclica y heterocíclica, teniendo dichas amidas un grado de amidación de entre el 0,1% y el 10%.
10. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por derivados O-sulfatados del ácido hialurónico hasta el 4º grado de sulfatación.
11. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por ésteres interiores del ácido hialurónico con un grado de esterificación igual o menor del 15%.
12. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por derivados desacetilados del ácido hialurónico, procedentes de la desacetilación de la unidad de N-acetilglucosamina y con un grado de desacetilación de entre el 0,1% y el 30%.
13. El taxano según la reivindicación 1, en el que el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por derivados percarboxilados del ácido hialurónico obtenidos mediante la oxidación del hidroxilo primario de la unidad de N-acetilglucosamina, con un grado de percarboxilación de entre el 1 y el 100%.
14. El taxano según la reivindicación 1, en el que el separador que conecta el taxano con el ácido hialurónico o el derivado del ácido hialurónico se elige del grupo formado por cadenas alifáticas o aralifáticas, lineales o ramificadas, sustituidas con uno o más grupos elegidos de entre los grupos hidroxilo, carboxilo, carbonilo, epóxido, cloruro de acilo, tiol, nitrilo, halógeno, anhídrido, isocianato, isotiocianatos y amino.
15. El taxano según la reivindicación 14, en el que el separador se elige del grupo formado por ácidos carboxílicos con entre 2 y 18 átomos de carbono en la cadena alifática o aralifática, sustituidos con bromo.
16. El taxano según la reivindicación 14, en el que el separador se elige del grupo formado por ácidos carboxílicos con entre 3 y 10 átomos de carbono en la cadena alifática o aralifática, sustituidos con bromo.
17. El taxano según la reivindicación 14, en el que el separador se elige de entre el ácido 3-bromopropiónico y el ácido 4-bromobutírico.
18. El taxano según la reivindicación 8, en el que el ácido hialurónico es esterificado después de la formación del enlace covalente con el taxano.
19. El taxano según la reivindicación 11, en el que el ácido hialurónico es esterificado después de la formación del enlace covalente con el taxano.
20. El taxano según la reivindicación 1, en el que el enlace covalente entre el taxano y el separador es un enlace éster.

ES 2 320 439 T3

21. El taxano según la reivindicación 1, en el que el enlace covalente entre el taxano y el separador es un enlace acetálico o cetálico.
22. El taxano según la reivindicación 1, en el que el enlace covalente entre el taxano y el separador es un enlace de uretano o tiouretano.
23. El taxano según la reivindicación 1, en el que el porcentaje de enlace entre el ácido hialurónico y el taxano está entre el 0,1% y el 100%.
24. El taxano según la reivindicación 23, en el que el porcentaje de enlace entre el ácido hialurónico y el taxano está entre el 0,1% y el 35%.
25. Una composición farmacéutica que comprende como sustancia activa al menos un taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24, en combinación con excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables.
26. La composición farmacéutica según la reivindicación 25, para su administración por vía oral, intravenosa, arterial, intramuscular, subcutánea, intraperitoneal o transdérmica, o mediante su inyección directa en el lugar del cáncer.
27. La composición farmacéutica según la reivindicación 25, para su administración por vía oral.
28. La composición farmacéutica según la reivindicación 25, en la que el ácido hialurónico o el derivado del ácido hialurónico son capaces de liberar el taxano en el lugar de administración.
29. La composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 25-28, que comprende adicionalmente una o más sustancias biológica o farmacológicamente activas.
30. La composición farmacéutica según la reivindicación 29, en la que dichas sustancias biológica o farmacológicamente activas se eligen del grupo formado por esteroides, hormonas, factores tróficos, proteínas, vitaminas, fármacos antiinflamatorios no esteroideos, fármacos quimioterapéuticos, bloqueantes del calcio, antibióticos, antivíricos, interleucinas y citocinas.
31. La composición farmacéutica según la reivindicación 29, en la que dicha sustancia biológica o farmacológicamente activa es interferón.
32. Uso de taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24, para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de tumores.
33. Uso según la reivindicación 32, en el que el tratamiento de tumores comprende la quimioterapia para el cáncer de mama, el cáncer de ovario y/o endometrio, el melanoma, el cáncer de pulmón, el cáncer de hígado, de próstata y/o vejiga, el cáncer gástrico y/o intestinal, la leucemia y el sarcoma de Kaposi.
34. Uso de taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24, para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de patologías autoinmunes.
35. Uso según la reivindicación 34, en el que dichas patologías autoinmunes se eligen del grupo formado por artritis reumatoide, tiroiditis de Hashimoto, lupus eritematoso sistémico y glomerulonefritis autoinmune.
36. Uso de taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24, para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento de reestenosis.
37. Uso de taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24, para el recubrimiento de endoprótesis vasculares y dispositivos médicos.
38. Endoprótesis vasculares y dispositivos médicos recubiertos por un taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico según se define en las reivindicaciones 1-24.
39. Un proceso para la preparación del taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico mediante un separador, según se define en las reivindicaciones 1-24, que comprende las siguientes etapas:
- a) añadir un agente de activación a una disolución que contiene ácido hialurónico o un derivado del ácido hialurónico;
 - b) añadir el separador posiblemente previamente unido al taxano, a la disolución procedente de la etapa a);

ES 2 320 439 T3

c) opcionalmente, purificar el producto así obtenido y hacerlo reaccionar con el taxano si no está previamente unido al separador.

5 40. Un proceso para la preparación del taxano unido covalentemente al ácido hialurónico o a un derivado del ácido hialurónico mediante un separador, según se define en las reivindicaciones 1-24, en el que dicho separador tiene al menos un halógeno, y conectar el grupo carboxilo del ácido hialurónico o del derivado del ácido hialurónico mediante un enlace éster, comprendiendo dicho proceso las siguientes etapas:

10 a') añadir el separador posiblemente previamente unido al taxano, a una disolución de ácido hialurónico o de un derivado del ácido hialurónico;

b') opcionalmente, purificar el producto así obtenido y hacerlo reaccionar con el taxano si no está previamente unido al separador.

15 41. El proceso según la reivindicación 40, en el que dicho átomo de halógeno del separador es bromo.

42. El taxano según la reivindicación 1, en el que el ácido hialurónico o el derivado del mismo incrementa la acción antineoplásica del taxano.

20 43. El taxano según la reivindicación 11, en el que el éster interior del ácido hialurónico incrementa la acción antineoplásica del taxano.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

FIGURA 1

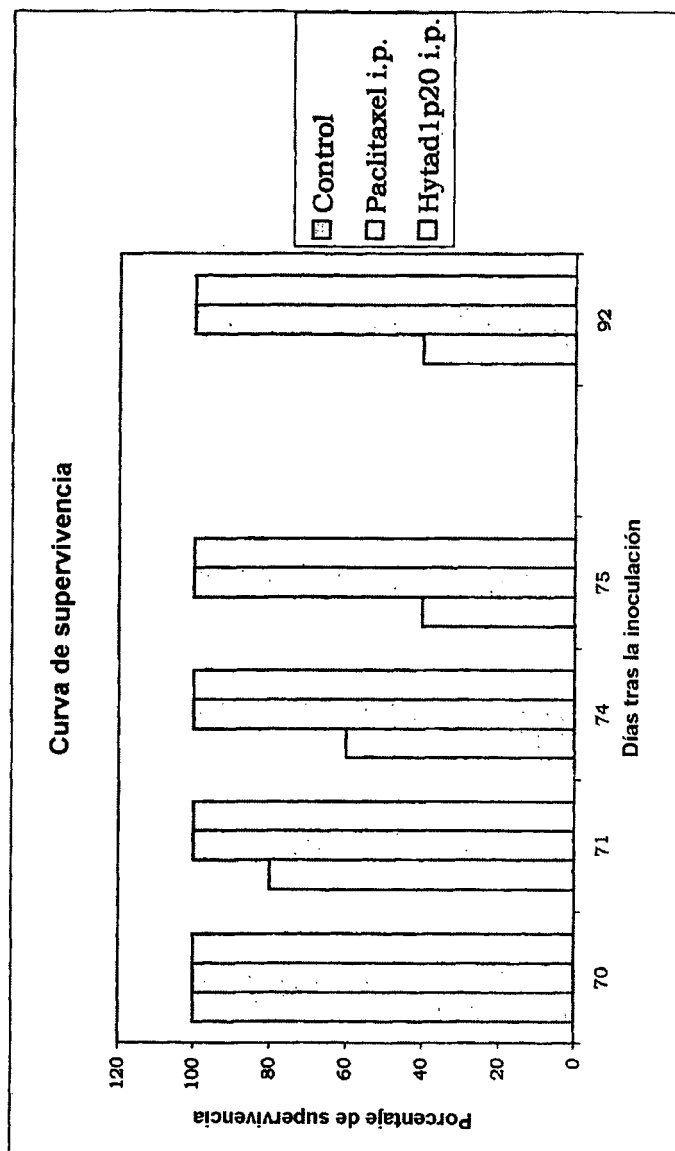


FIGURA 2

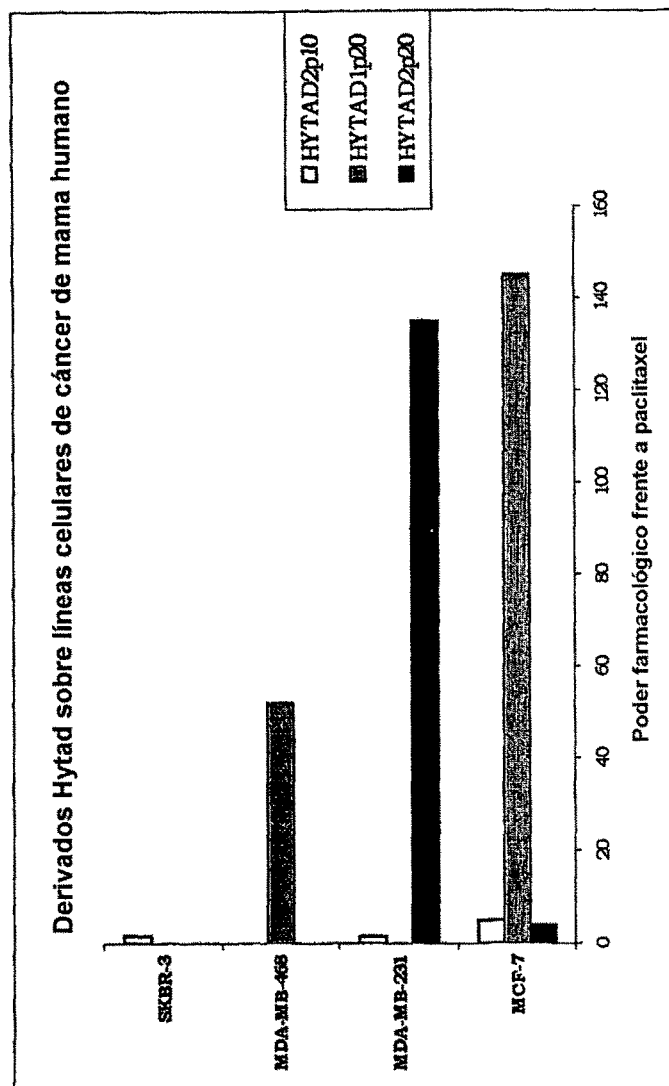


FIGURA 3

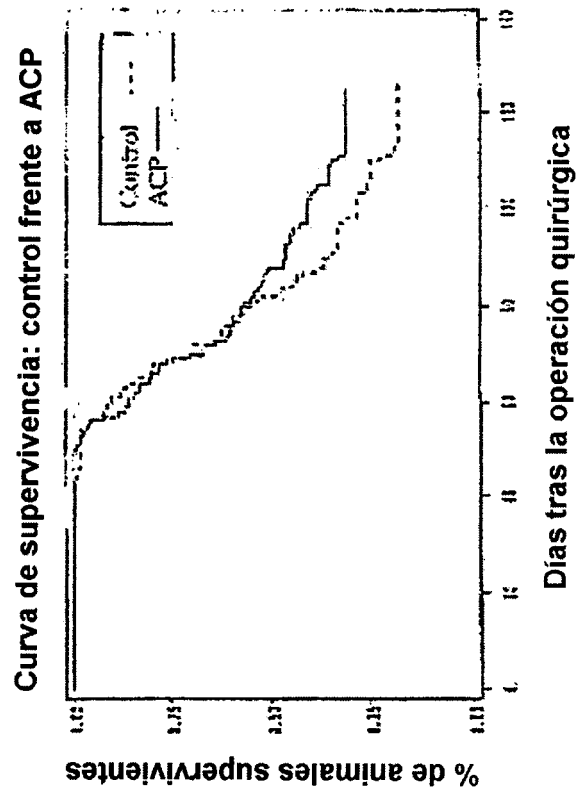


FIGURA 4

