



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 211 374**

51 Int. Cl.:
A61K 31/337 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **02723255 .2**
86 Fecha de presentación : **26.02.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1372636**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.01.2004**

54 Título: **Dosificación metronómica de taxanos para inhibir el crecimiento tumoral.**

30 Prioridad: **28.02.2001 US 271944 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2007

73 Titular/es: **Bristol-Myers Squibb Company**
P.O. Box 4000
Route 206 and Province Line Road
Princeton, New Jersey 08543-4000, US

72 Inventor/es: **Fagnoli, Joseph;**
Rose, William, C. y
Trail, Pamela

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 211 374 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

Dosificación metronómica de taxanos para inhibir el crecimiento tumoral.

5 Tradicionalmente, las pautas quimioterapéuticas del fármaco para el tratamiento del cáncer se han diseñado para matar tantas células tumorales como sea posible tratando con la “máxima dosis tolerada” (MTDs) de estas sustancias citotóxicas (Hanahan y col. J. Clinical Invest. 2000 105(8): 1045-1047). Estas pautas de dosificación de MTD también se denominan rutinariamente como terapia de inducción. Sin embargo, los efectos secundarios tóxicos asociados con el daño para la multiplicación de las células en tejido sano que resulta de la administración de esta MTDs ponen serias
10 restricciones sobre el uso de estos agentes. Para mantener la toxicidad con eficacia, los programas convencionales de dosificación exigen para la aplicación episódica del agente citotóxico o cierran al MTD, seguidos por periodos de descanso para permitir la recuperación del tejido normal (Hanahan y col. J. Clinical Invest. 2000 105(8):1045-1047). Sin embargo, estas pautas de MTD estándar no solamente perjudica seriamente la calidad de vida del paciente, pero también puede resultar en solamente una respuesta de vida corta seguida por la recaída frecuentemente por cánceres
15 más agresivos resistentes al agente citotóxico.

Por consiguiente, las terapias alternativas están siendo enérgicamente buscadas. Una alternativa propuesta ha sido la vasculatura de las células diana las cuales forman los vasos sanguíneos del tumor a diferencia de las células tumorales de las mismas. La angiogenesis es el proceso de formación de los vasos sanguíneos desde la preexistencia de la vasculatura e implica el reclutamiento y crecimiento de la preexistencia del epitelio. La angiogenesis es un proceso psicológico que ocurre normalmente en el ciclo reproductivo femenino y cura la herida. Sin embargo, la angiogenesis también ocurre en el cáncer como el establecimiento de una microvasculatura funcional que es crítica para el crecimiento del tumor y la diseminación.

25 Recientes estudios preclínicos han demostrado la eficacia de la administración de la ciclofosfamida agente citotóxicos (Browder y col. Cancer Res. 200060:1878-1886) y vinblastina tan conocida como la no citotóxica del anticuerpo del receptor-2 VEGF (Klement y col. J. Clinical Invest. 2000 105 (8) : R15-R24) a intervalos más bajos sin interrupción hasta 210 días de terapia.

30 Browder y col. describen la administración de la ciclofosfamida a ratones escondiendo la droga resistente de carcinoma de Lewis Lung diariamente o cada 3, 4, 5, 6, 7 ó 8 días. En estos experimentos se encontró que la ciclofosfamida (170 mg/Kg) administrada cada 6 días era más efectiva en el control del crecimiento del tumor que otro programa de ciclofosfamida probado incluyendo programas con una dosis alta de intensidad tal como 135 mg/Kg cada 4 días (Browder y col. Cancer Res. 2000 60:1878-1886).

35 Klement y col. sometieron los xenoinjertos de 2 líneas celulares de neuroblastoma independiente a cualquiera de los tratamientos continuos con dosis bajas de vinblastina, un anticuerpo neutralizante monoclonal (DC101) seleccionando el receptor flk-1/KDr (tipo 2) para VEGF, o ambos agentes juntos. En estos experimentos, la vinblastina se administró a aproximadamente 1.5 mg/ m² cada 3 días, una dosis la cual es aproximadamente ¼ de la MTD de este fármaco en humanos y 1/16 a 1/20 de la MTD en ratones (Klement y col. J. Clinical Invest. 2000 105(8):R15-R24).

40 El documento WO 00/64436 describe un procedimiento para tratar las dolencias en un sujeto vía la administración de un agente activo farmacológicamente en un nivel de dosis sub-terapéutico sobre un periodo de la administración suficiente para conseguir un beneficio terapéutico. Sin embargo, ninguno de los datos se proporciona con respecto a la eficacia de este procedimiento para cualquiera de las 42 clases de agentes activos farmacéuticamente enumerados en las páginas 10-16 de esta aplicación.

45 La administración de los fármacos en dosis más bajas que la dosis máxima tolerada ya sea continuamente o en intervalos más bajos sin interrupción se refiere, a menudo, como dosificación crónica o “metronómica” (Hanahan y col. J. Clinical Invest. 2000 105 (8): 1045-1047).

50 Un objeto de la presente invención es proporcionar un medicamento para inhibir el crecimiento del tumor donde el tumor está expuesto a taxano, según Fórmula I, vía una pauta de dosificación metronómica en combinación con paclitaxel vía una pauta de dosificación máxima tolerada estándar.

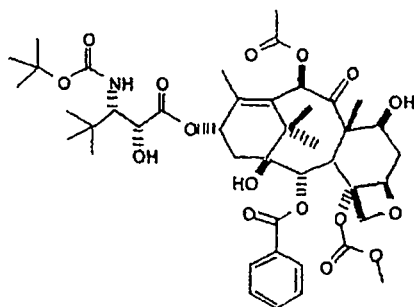
55 La polimerización de Tubulina se acepta generalmente como una de las más efectivas dianas para la quimioterapia de cáncer. El suceso clínico en un amplio intervalo de cánceres se ha demostrado para ambos taxanos comercialmente disponibles, el TAXOL (paraclitaxel) y el TAXOTERE (docitaxel). La eficacia de estos fármacos es dependiente del programa con beneficios siendo mostrado a partir de tiempos de exposición del tumor prolongado. Por ejemplo, la utilidad clínica fue recientemente demostrada usando repetidas veces administraciones semanales de TAXOL.

60 En adición, el informe preclínico indica que el TAXOL puede tener potente actividad anti-angiogénico (Dordunoo y col. Cancer Chemother. Pharmacol. 1995 36:279-82; Buró y col. Cancer Letters 1995 88:73-9; Oktaba y col. Proc. Annu. Meet. Am. Assoc. Cancer Res. 1995 36:A2597; Belotti y col. Proc. Annu Meet. Am. Assoc. Cancer Res. 1996 37:A397; Belotti col. Clinical Cancer Res. 1996 2:1843-9; Klauber y col. Cancer research 1997 57:81-6; y Velasco y col. J. invest. Dermatol. 1999 112:655). Desde la popular diana de un compuesto anti-angiogénico es el endotelio más que tumor, se ha propuesto que para ser efectivo el agente angiogénico debe ser administrado crónicamente.

ES 2 211 374 T3

Desafortunadamente, la biodisponibilidad oral de los taxanos libres comercialmente es muy baja (< 1% en la ratas) haciendo la dosis repetitiva crónica extremadamente agobiante.

El 3'-tert-butil-3'-N-tert-butiloxycarbonil-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metoxicarbonil-paclitaxel es un análogo activo oralmente del paclitaxel. La estructura de 3'-tert-butil-3'-N-tert-butiloxycarbonil-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metoxicarbonil-paclitaxel está representado en la Fórmula I. Por consiguiente, este taxano biodisponible oralmente se refiere más adelante al taxano activo oralmente de la Fórmula I.



(I)

El taxano activo oralmente de Fórmula I muestra una buena disponibilidad oral tanto en las ratas como en los perros, y tiene una actividad antitumor en múltiples líneas celulares humanas que se comparan a la administración de paclitaxel intravenoso. Un taxano efectivo oralmente, se refiere como IDN 5109, que también ha sido descrito (Polizzi y col. Clinical Cancer Res. May 2000 6(5):2070-4; Nicoletti y col. Cancer Res. February 15, 2000 60 (4):842-6). En adicción, el documento WO99/49848 describe formulaciones orales de taxanos tales como paclitaxel y docetaxel y el documento WO98/53811 describe una pauta de dosificación para los taxanos donde también se administra un potenciador oral.

La presente invención está dirigida al uso de un taxano de Fórmula I en combinación con paclitaxel para la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento del tumor y producir efectos secundarios menos tóxicos tan comparado con la administración de la máxima dosis tolerada del taxano, donde el taxano se administra repetidamente a una dosis por debajo de una dosis máxima tolerada establecida para el taxano vía una pauta de dosificación metronómica y donde el paclitaxel se administra vía una pauta de máxima dosificación tolerada estándar. Para el propósito de la presente invención, mediante una "pauta de dosificación metronómica" significa que la administración repetida de un fármaco a una dosis por debajo de la dosis máxima tolerada establecida para el fármaco el cual produce un efecto farmacológico deseado sobre la administración repetida con la reducción de los efectos secundarios tóxicos en comparación a esos observados para los fármacos cuando se administra a la dosis máxima tolerada vía un programa tradicional con periodos de descanso. La duración de los periodos de descanso pueden ser tan importante o más importantes que la duración del tratamiento la cual precede al periodo de descanso. En una dosificación metronómica la misma dosis acumulativa sería administrada vía un programa estándar MTD, también referido aquí como terapia de inducción, puede ser últimamente administrada. En algunos casos, esto se logra mediante la ampliación de un esquema del tiempo y/o la frecuencia durante la cual la pauta de dosificación se conduce mientras decrece la cantidad administrada en cada dosis. Así, mediante "reiteraciones" esto significa estar incluidos en las pautas de dosificación crónica y/o continua. Sin embargo, el énfasis de la dosificación metronómica no es tanto la frecuencia ni la duración de la terapia como lo es un tratamiento relativamente seguro capaz de mantener el beneficio acumulado para un paciente mediante el fármaco cuando se administra vía su programa estándar MTD. Sin embargo, el taxano que se administra vía régimen de dosificación metronómica de la presente invención es mejor tolerado por el paciente. La dosificación metronómica puede también referirse como una dosificación de mantenimiento o dosificación crónica.

Con objeto de la presente invención, el efecto farmacológico deseado de dosificación metronómica con taxanos es la inhibición del crecimiento del tumor. "La inhibición del crecimiento del tumor" significa la causa de una supresión del crecimiento del tumor y/o causa una regresión en el tamaño del tumor. Mientras no sea vinculado a un mecanismo particular, se cree que la dosificación metronómica con taxanos puede localizar las células de la vasculatura la cual forma los vasos sanguíneos del tumor como oposición a las células del tumor de las mismas. Por consiguiente, la inhibición del crecimiento del tumor puede resultar desde la incapacidad de las células tumorales para establecer la microvasculatura funcional crítica para el crecimiento del tumor y la diseminación.

Los efectos secundarios tóxicos se reducen mediante las pautas de dosificación de la presente invención que son la neurotoxicidad, el daño para la proliferación normal de las células.

La dosificación metronómica con un taxano oral según la Fórmula I se utiliza como un tratamiento para el cáncer en combinación con paclitaxel para administrarse vía pautas de MTD estándar. Mediante "combinación con" esto significa que la pauta de dosificación metronómica se lleva a cabo al mismo tiempo como la pauta estándar MTD del paclitaxel o más preferiblemente entre ciclos de terapia de inducción para mantener los beneficios acumulados para el paciente mediante la pauta de terapia de inducción. Cuando se entrega entre ciclos de terapia de inducción el propósito

ES 2 211 374 T3

es continuar para inhibir el crecimiento del tumor mientras no compromete excesivamente la salud del paciente o la capacidad del paciente para resistir el siguiente ciclo de terapia de inducción.

La actividad anti-angiogénica del taxano oral de Fórmula I se evaluó en células endoteliales *in Vitro* y en un tumor independiente *in vivo* del modelo angiogenesis. Tanto la proliferación como los ensayos de formación del tubo se utilizaron para evaluar la actividad de la célula endotelial *in Vitro*.

Para evaluar la actividad *in Vitro*, el efecto del taxano oral de la Fórmula I se compara con el TAXOL (paclitaxel) en función de las células endoteliales se relaciona al proceso angiogénico evaluado. Las funciones evaluadas incluyen la proliferación de las células endoteliales que forman el lumen de la ampliada vasculatura. Como se muestra en la Tabla 1, el taxano oral de Fórmula I era casi potente para TAXOL en la inhibición de la célula endotelial de la vena umbilical humana (HUVEC) de la proliferación en 2 experimentos separados. También se observó la inhibición para las células tumorales de línea H3396 a aproximadamente la misma concentración que se observa para HUVEC así se indica que estos taxanos ejercen efectos citotóxicos que inhiben la proliferación de ambas células endotelial y tumoral.

TABLA 1

Inhibición de HUVEC y Proliferación de H339

Compuesto	IC ₅₀ en células [μ M]		
	HUVEC	H3396	H3396/HUVEC
Fórmula I	0,002; 0,002	0,002; 0,003	1,25
TAXOL	0,003; 0,005	0,003; 0,004	0,88

También están evaluados los efectos en la función de la célula endotelial que implica diferenciación de estas células en la formación del tubo en MATRIGEL. Como se muestra en la Tabla 2, la mínima concentración de estos taxanos que resultan en la inhibición completa del tubo de formación de MATRIGEL para ambos de estos taxanos eran 0,0500 μ M. En adición, otras reducciones en concentración todavía retenida en efecto inhibitorio para ambos de estos taxanos.

TABLA 2

Inhibición de HUVEC de la formación del tubo en MATRIGEL

Compuesto	5,000 μ M	0,5000 μ M	0,0500 μ M	0,005 μ M	0,005 μ M
Fórmula	C	C	C	P	P
TAXOL	C	C	C	P	P

C= completa; P= parcial.

Por consiguiente, estos taxanos inhiben dos procesos críticos de angiogenesis, llamados proliferación y diferenciación de la célula endotelial. Así, sus efectos anti-tumor no son solamente una consecuencia de su actividad anti proliferativa sino también una consecuencia de su actividad en otras funciones de la célula endotelial.

Estos taxanos también son evaluados *in vivo* usando tapones de MATRIGEL. En estos experimentos, la respuesta angiogénica estaba acompañada mediante la evaluación del número de células endoteliales que ocurren en los tapones de MATRIGEL a varias terapias y dosis subterapéutica. El número de células endoteliales que ocurren en los tapones se correlacionan con la dosis probada en una forma de dosis-dependiente para ambos TAXOL y el taxano oral de Fórmula I. En la dosis máxima tolerada (MTD) de TAXOL, 24 miligramo/Kilogramos, más grande que el 50% de la reducción del número de células en los tapones se observó cuando se comparo a los grupos de control en este programa (días alternos durante cinco días; q2dx5). Para el taxano oral de Fórmula I, más grande que el 50% de la reducción en el número de las células en los tapones se observó en la MTD de 60 miligramo/Kilogramos y a dos dosis inferiores de 36 miligramo/Kilogramos y 18 miligramo/Kilogramos. Así, las dosis tan bajas como el 30% de la MTD aún resultan mayores que el 50% de la reducción en el número de células. Además, el efecto de estos taxanos en el número de células endoteliales, aunque menos en dosis inferior probada, aunque el resultado en defectos morfológicos tan evidentes mediante la capacidad de estas células para organizar estructuras tubulares que contienen células de sangre roja cuando se comparan para el control de animales. Así, los efectos anti- angiogénicos todavía se observan *in vivo* en dosis del taxano oral de Fórmula I aproximadamente 13 veces más inferior que la dosis máxima tolerada.

ES 2 211 374 T3

El taxano oral de Fórmula I también se ha demostrado que posee una eficacia antitumor preclínico comparable al paclitaxel administrado intravenosamente cuando se administra como una terapia de mantenimiento entre los ciclos de quimioterapia de inducción. En estos experimentos, los ratones que desarrollan tumores murino mamarios 16/C reciben cualquiera de los dos propuestas de tratamiento generales: a) se administra paclitaxel intravenoso en dos programas de tratamiento diario consecutivo separados mediante un periodo de descanso de 18 días, por ejemplo qdx5; 10, 32; o b) se administra paclitaxel intravenoso en dos programas de tratamiento diario consecutivo separados mediante un periodo de descanso de 18 días con un ciclo adicional de terapia qdx5 que consiste en la administración oral del taxano oral de Fórmula I se inició una vez a la semana siguiendo el final del primer ciclo de paclitaxel intravenoso, i.e. paclitaxel qdx5; 10, 32 + Fórmula I qdx5; 21. La titulación de la respuesta de la dosis se llevo a cabo usando cada propuesta de tratamiento. Un resumen de los valores brutos de la matanza de la célula del registro (LCK) se obtuvo con pautas del tratamiento seleccionado como se muestra en la Tabla 3.

TABLA 3

Efectos de la terapia de mantenimiento del taxano oral entre los ciclos de los tratamientos de paclitaxel intravenoso en ratones que desarrollan los estadios del carcinoma mamario subcutáneo 16/C

Tratamiento (mg/Kg/inj)	Efecto		
Paclitaxel qp 10-14, iv	Fórmula I, qd 21-25, po	Paclitaxel qd 32-36, iv	LCK bruto (curas/total*)
30	-	30	10,1 (2/8)
30	-	20	9,5
20	-	30	4,7(1/8)
20	-	20	4,5
30	30	30	Tóxico
30	13	30	LD25
20	20	20	>13,8 (4/8)
20	13	20	9,0 (1/8)

*Curas calculadas en el día 88 después del implante del tumor.

Así, el efecto óptimo obtenido con paclitaxel sólo, 10,1 LCK incluyendo 2 de 8 curas, se obtuvo en un probable régimen MTD, 30 mg/kg/inj de paclitaxel durante cada uno de los dos cursos de tratamiento. Menores cantidades de paclitaxel sobre cada uno o ambos cursos de terapia tuvo como resultado la eficacia disminuida. En comparación, cuando el taxano oral de Fórmula I se añadió a ciertos tratamientos de paclitaxel intravenoso, se observó una mejora en la eficacia global. La combinación de la pauta de quimioterapia en estos experimentos consta de 20 mg/kg/administración del taxano oral de la Fórmula I en conjunción con 20 mg/kg/inyección de paclitaxel intravenoso por ciclo de paclitaxel. Además, una diferencia del tratamiento de paclitaxel sólo en donde reaparece algún tumor ocurre durante el intervalo entre ciclos de terapia, la administración del taxano oral de Fórmula I se suprime entre los ciclos de paclitaxel, e incluso disminuye ligeramente, el tamaño medio del tumor de esta combinación del grupo de tratamiento.

En experimentos adicionales, el taxano oral se ofreció como terapia de mantenimiento seguido de un sólo ciclo de terapia de inducción usando paclitaxel intravenosa. Puesto que los ratones reciben solamente paclitaxel intravenosa, una pauta de MTD consiste de 45 mg/Kg/inyección, qdx5, iv, empezando el día 10 después del implante del tumor, se produjo el mismo resultado terapéutico óptimo como la siguiente dosis más baja de 30 mg/Kg/ inyección, 1.9 LCK. En contraste, otros grupos de ratones recibieron la quimioterapia de inducción usando paclitaxel, pero luego recibieron uno de las dos pautas diferentes de mantenimiento usando el taxano oral de Fórmula I. La tabla 4 proporciona un resumen de varios tratamientos y el resultado a partir de este experimento.

ES 2 211 374 T3

TABLA 4

Efecto de la terapia de mantenimiento con el taxano oral de Fórmula I seguido de terapia de inducción con paclitaxel intravenoso en ratones que desarrollan los estadios de Carcinoma mamario subcutáneo 16/C

Tratamiento (mg/kg/inj)	Fórmula I, po		Efecto
Paclitaxel Qd10-14, iv	q2dx11;d.21	q4dx6;d.21	LCK Bruto (curas/total)*
	45	-	
30	-	-	1,9 (2/8)
45	30	-	Tóxico
45	13	-	3,9 (2/8)
30	30	-	Tóxico
30	20	-	Tóxico
30	13	-	3,5 (2/8)
20	30	-	Tóxico
20	20	-	4,0 (1/8)
20	13	-	2,5

Tratamiento (mg/kg/inj)	Fórmula I, po		Efecto
Paclitaxel qd10-14, iv	q2dx11;d.21	Q4dx6;d.21	LCK Bruto (curas/total)*
	45	-	
45	-	30	5,5 (1/8)
45	-	20	2,8
30	-	45	4,6 (3/8)
30	-	30	4,4 (2/8)
30	-	20	3,7
20	-	45	2,4
20	-	30	2,3

*Curas calculadas en el día 60 después del implante del tumor.

Los beneficios aproximadamente de una cuarta semana extra de un taxano oral son claramente evidentes en estos resultados. En una pauta de combinación máxima tolerada (paclitaxel + Fórmula I) el mejor LCK logrado fue 5.5 con una cura ocasional juzgada a la terminación del experimento (día 60). La más efectiva de las terapias de mantenimiento de taxano oral, más que la prevención de la progresión del tumor, ellos también reducen el peso del tumor.

Una pauta de dosificación metronómica con un taxano según la fórmula I solamente también tenía éxito en la inhibición del crecimiento de células tumorales humanas en ratones. En estos experimentos, un programa de tratamiento prolongado de 30 días usando dosis del taxano oral de fórmula I bajo la comparación razonable de MTD bien con el tradicionalmente usado MTD y el programa consolidado enfoca una inhibición del crecimiento de la L2987 del crecimiento del tumor en el pulmón humano. La L2987 se implantó en los tumores en el pulmón humano y se dejó alcanzar de 50 a 100 mm³ antes de la administración del fármaco. Se usó la tradicionalmente MTD y se consolidó el programa propuesto que consistió en una dosis por administración de 60 mg/Kg se entregó oralmente en el programa estándar (q2dx5). La pauta de dosificación metronómica, mientras entregando la misma dosis acumulativa de 300 mg/Kg, que consistió en una dosis por administración de 20 mg/Kg entregada oralmente en un programa modificado (días alternos durante 15 días; q2dx15). Mientras se observó una mayor respuesta anti-tumor con el programa estándar, también se observó una pérdida de peso. En contraste, la pauta de dosificación metronómica también suprimió el crecimiento del tumor y no se observó pérdida de peso. Por consiguiente, la dosificación metronómica con un taxano según la Fórmula I proporciona un seguro, hasta ahora un medio efectivo para la inhibición del crecimiento del tumor.

Debe ser entendido por los expertos en la técnica sobre la interpretación de esta revelación, la pauta de dosificación metronómica que se usa en estos experimentos simplemente sirve como un ejemplo de posibles cambios en intervalos de dosificación y la duración en la cual están hechos para un programa estándar de MTD para llevar a una pauta óptima de dosificación metronómica. Por ejemplo, para el taxano oral de Fórmula I las pautas de dosificación metronómica se esperó que fueran efectos en el crecimiento del tumor incluso en un intervalo de dosificación diariamente o en intervalos de dosificación en días alternos. Estas pautas de dosificación se extendieron durante periodos de tiempo variando desde aproximadamente un mes hasta al menos un año. El fármaco para ser administrado en estas pautas de dosificación metronómica ejemplar pueden variar desde aproximadamente 0,25 mg/M² a 120 mg/M², 0,50 mg/M² a 240 mg/M², y 1 mg/M² a 700 mg/M², respectivamente. Además, los experimentos de angiogenesis *in Vitro* e *in vivo* proporcionan una evidencia que acumula dosis inferiores de 300 mg/kg también sería efectivo suprimiendo el crecimiento del tumor. Por consiguiente, las pautas de dosificación metronómicas para el taxano oral de Fórmula I también puede designarse para el reparto de una dosis acumulativa inferior tal como 225 mg/kg, 150 mg/kg, 75 mg/kg, 37,5 mg/kg e incluso 18,75mg/kg.

La presente invención relaciona el uso de un taxano de Fórmula I en combinación con paclitaxel para la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento de tumor en animales. En una personificación preferida, el taxano usado sería oralmente biodisponible. Sin embargo, también se pueden usar otros medios para administrar una continua dosis baja del taxano. Por ejemplo, otros modos de administración de dosis metronómicas de la presente invención se incluye, pero no se limitan a, vía inhalación, intradérmicamente, por ejemplo vía parches transdérmica, rectalmente vía supositorio, intramuscularmente, intraperitonealmente, intravenosamente y subcutáneamente.

Para propósitos de la presente invención, mediante “animales” esto es tener la intención de incluir algún animal en el que crezcan tumores y en particular humanos.

El seguimiento no limitante de los ejemplos es proporcionado para además ilustrar la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Proliferación HUVEC

Las principales células endoteliales humanas de vena de cordón umbilical (HUVEC) se obtuvieron de Clonetics In. (San Diego, CA) y se usó un pasaje del 2 a 3. La proliferación se midió usando la incorporación en las células de ³H-timidina mediante pulsación 24 horas antes de recoger los cultivos de la célula. Las líneas H3396 de carcinoma de pecho humano se usaron para calcular la actividad del componente de las células tumorales. Las células (2 x 10³) se recubrieron sobre colágeno IV de placas de 96 pocillos. 24 horas más tarde, los compuestos se añadieron variando las concentraciones. Después de 48 horas, se añadió la ³H-timidina y las células se dejaron para incorporar este marcaje sobre un periodo de 24 horas. Los extractos celulares se recogieron sobre filtros de cristal y se incorporó la radioactividad que se determinó mediante un recuento en un contador de centelleo Beta. El IC₅₀, se definió como la concentración del fármaco que causa el 50% de la incorporación del inhibidor de la ³H-timidina, se extrapoló a partir del trazado de los datos. El inhibidor de la célula selectiva para células endoteliales mediante un taxano de Fórmula I se definió mediante al menos unas 10 veces más mayor que el inhibidor de HUVEC principal de células de cultivo cuando se comparó a la línea H3396 de la célula de tumor.

Ejemplo 2

Formación del tubo in Vitro

La angiogenesis resulta en una red de vasos sanguíneos funcionales que contienen células de sangre rojas. Los ensayos *in Vitro* que, en parte, han establecido el proceso mimico. Las principales células endoteliales tales como HUVEC cuando se colocaron en MATRIGEL (Collaborative Research, Inc.) formaron una red tridimensional de tubos que se alinean dentro de cordones. En este sistema de ensayo, la formación del tubo se evaluó en una matriz de proteína extracelular consistiendo de MATRIGEL diluido 1:1 con medios de cultivo (EBM-2; CLONETICS, Inc.) y

ES 2 211 374 T3

se dejó para polimerizar durante 60 minutos a 37°C HUVEC ($3,5 \times 10^4$) bien en placas de 24 pocillos distribuidos en 0,5 ml de media que contiene un excipiente o análisis del compuesto en el polimerizado MATRIGEL (0,3 ml). Las ocho horas siguientes al cultivo de las células, la media se retiró y los cultivos se fijaron en formalin. La inhibición de tubos en MATRIGEL se evaluó en un microscopio invertido usando iluminación de contraste de fase.

Para determinar el efecto de los compuestos en este ensayo, se desarrollo un planteamiento. Se definió una completa falta de inhibición como cuando el compuesto se expone para dar los resultados de la concentración en al menos un 1% de placas HUVECs que ocurren como unas células solas y el resto de las células forma un red o una estructura de elongación tubular con o sin bifurcación. La inhibición parcial se define como una red incompleta con un largo número de células simples. La inhibición completa se definió tan grande como el 99% de las células que ocurren como células simples con estructuras no elongadas o ramificadas. El número de células simples que se produjeron después del tratamiento del vehículo (control) se sustrajo desde el número total de células simples que ocurriendo en los grupos tratados anteriores para valorar los efectos de los componentes del test para establecer los efectos de fondo.

Ejemplo 3

Estudios y Modelos in vivo

Los fragmentos LX1 del tumor en el pulmón humano que se mantuvieron mediante un pasaje subcutáneo serio en ratones atímicos (nu/nu) Balb/c se implantaron subcutáneamente como unos pequeños fragmentos de un tamaño de aproximadamente $0,1 \text{ mm}^3$. El volumen del tumor doblando el tiempo para éste tumor en estos estudios fue de 2,8 días. Cuando los tumores alcanzan el tamaño en un intervalo de $150\text{-}200 \text{ mm}^3$, el liquido Matrigel se inyecta subcutáneamente en el lado contralateral al tumor. El tratamiento se inició 24 horas más tarde variando la dosis y el programa. Antes del implante, el Matrigel se preparó mediante colocación solidificada de Matrigel en hielo durante toda la noche a 4°C de acuerdo con el procedimiento descrito por Passiniti y col. (Lab. Invest. 199267:519-28). En la fase líquida y un rato sobre el hielo, VEGF y bFGF (Peprotech, Inc. Rocky Hill,NJ) se añadió al Matrigel en respectivas concentraciones finales de 75 ng/ml y 300 ng/ml. Las soluciones típicas de estos factores de crecimiento se hicieron frescos a 10 mg/ml en PBS. Las veinticuatro horas siguientes al tratamiento final, los animales se sacrificaron mediante dislocación cervical y los tapones de Matrigel a partir del tratamiento y el control de animales se eliminaron y se fijaron durante al menos 48 horas en un 10% de formalin taponado neutral. Luego estos tapones se procesaron para incrustar la parafina y se seccionaron a $5 \mu\text{m}$ de grosor mediante mancha con hematoxilina y eosina anterior al análisis cuantitativo. El número de células endoteliales en los tapones se cuantificaron usando el software IMAGEPRO PLUS (Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, MD) a una magnificación de 20x. quince puntos de vista a partir de cada tapón se usaron para contar el número de células endoteliales. El número de células se resumió y se comparó estadísticamente para los controles.

La angiogénesis se evaluó en estos tapones con el número de células endoteliales migrando dentro de los tapones a partir de un compuesto tratado de grupos relativos al vehículo del grupo tratado. Los tumores se implantaron con el fin de observar los efectos de anti tumor de estos compuestos a través estos estudios con el fin de asegurar el compuesto eficazmente a los dosis terapéutica.

Para la dosificación, el TAXOL y el taxano oral de Formula I se suspendió en solución 1:1 de CREMOFOR/etanol y se llevó a una concentración final del 10% de CREMOFOR y 10% de etanol que contiene cualquiera de los compuestos. Para el Taxol, el salino normal se usó como el diluyente y la aplicación fue intravenosa. Para el taxano oral de Formula I, el agua esterilizada se uso como el diluyente y la administración fue mediante vía gavage oral.

Ejemplo 4

Estudios preclínicos usando dosificación metronómica en combinación con una establecida terapia de paclitaxel

El Paclitaxel y el taxano oral de Fórmula I se disolvió en Cremofor/etanol (50/50) y luego se diluyó con agua (Fórmula I) o salino (paclitaxel) sin aproximadamente una hora de uso. Las concentraciones finales de cada componente del vehículo fue como sigue: 10% de Cremofor; 10% de etanol; 80% de agua.

Los ratones convencionales C3H se compraron desde Harlan Sprague Dawley (Indianapolis, IN) y los ratones se alimentaron de chow y agua *ad libitum*.

El carcinoma murino mamario metastático 16/C se propagó bisemanal en ratones C3H. Los experimentos se iniciaron mediante la inserción subcutánea por fragmentos trocar de tumor.

Para una prueba de tumor *in vivo*, se implantó a los ratones C3H subcutáneamente con fragmentos de tumor mamario 16/C. Todos los tratamientos se iniciaron en el día 10 posterior al implante del tumor, excepto para un grupo de control no tratado. Todos los grupos contenían ocho ratones. Los tumores se pesaron una o dos veces por semana y las dimensiones se convirtieron para pesadas usando la fórmula $\text{Weight (miligramos)}=a \times b^2$, donde a =largo y b =ancho (en milímetros). El tiempo medio para los tumores dentro de cada grupo de ratones para alcanzar 1 gramo del blanco del tumor de talla para los tratamientos se calcularon los grupos (T) frente control (C).

ES 2 211 374 T3

Estos ensayos en el crecimiento del tumor (T-C valor en días) se convirtieron además a valores brutos de logaritmo de la célula muerta (LCK) usando la fórmula $T-C/(\text{tiempo doble del volumen del tumor, TVDT, del grupo control}) \times (3,32)$. Un LCK de mayor o igual a 1 LCK se consideró un resultado activo las curas se determinaron al final de cada experimento y se definió en la falta de un tumor de masa mayor que 35 miligramos. Los experimentos terminados más que 10 x TVDT siguiendo la finalización de todos los tratamientos.

Ejemplo 5

Seguridad en la fase I, farmacocinética, y el estudio de la subida de dosis del Taxano Oral del Fórmula I se administro sobre una programa metronómico diariamente continuo en pacientes con Malignancies avanzados

Una fase I, abierta, el estudio de la dosis escalonada en un sólo brazo en el cual los cohortes de pacientes con cáncer avanzado o metastático reciben una aumento de dosis del taxano oral de Fórmula I diariamente por la boca en una base de paciente externo para valorar la seguridad, se han diseñado dosis limitando toxicidades y una dosis bioactiva óptima del taxano oral de Fórmula I. También se transformaron las farmacocinéticas y farmacodinámicas. El estudio se llevó a cabo en aproximadamente 45 a 65 pacientes. Al principio el nivel de dosis del taxano oral se fijó una dosis de 2 mg dando una vez al día sobre una base continua y sobre un estómago vacío. Las dosis se escalonaron como sigue:

Nivel dosis	Dosis fórmula I*	Mínimo de pacientes/serie
1	2 mg/día	6
2	4 mg/m ² /día	6
3	4 mg/m ² /día	6
4	6 mg/m ² /día	6
5	9 mg/m ² /día	6
6	12 mg/m ² /día	6
7	16 mg/m ² /día	6
8 y superior	Aumenta mediante incrementos de 33% de la dosis prevista.	6

Todos los pacientes fueron observados durante al menos 28 días anteriores al comienzo del siguiente nivel de dosis para matricularse. Durante todo el estudio, los pacientes se matricularon en un abierto de nivel de dosis simultáneamente. La subida al siguiente nivel de dosis se permitió si todos los seis pacientes al nivel de dosis corriente que habían completado sus primeros cursos de tratamiento y < 1 pacientes que habían experimentado una toxicidad de dosis limitante durante el primer curso. Las muestras de sangre para la evaluación farmacocinética y farmacodinámica, al igual que la evolución de la marca sucedánea, eran recogidos por todos los pacientes. Se evaluó la marca de plasma de la activación de la célula endotelial incluye sICAM-1, sVCAM-1, sET-1, sE- Selectina y sMCP-1. La sangre y/o las muestras de tumor también se recogieron para farmacogenómicos con el consentimiento de los pacientes.

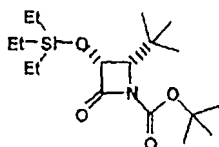
Para ser apto para el estudio los pacientes deberían satisfacer todos los criterios de elegibilidad incluido, pero no limitado a, 1) histológica o citológicamente se confirmó la diagnosis maligna no-hematológica la cual ha evolucionado en una terapia estándar o para la cual no se conoce la terapia estándar; 2) enfermedades mensurables o no mensurables; 3) suficiente medula espinal, función hepática y renal; 4) transcurrieron 4 semanas desde la última dosis de inmunoterapia, radioterapia o quimioterapia, incluidos los taxanos, (6 semanas para anitrosoureas o mitomycin-C); 5) los pacientes deben recuperarse para bases o 1 grado del toxicidades resultantes a partir de la terapia previa; y 6) el estado de la Cooperativa Oriental del Grupo de Oncología de Estado 0-1. La toxicidad se evaluó de acuerdo al National Institute of Cancer's Common Toxicity Criteria Version 2.0.

Muestras de plasma farmacocinéticos del taxano oral de Fórmula I se recogieron a todos los pacientes en los días 1, 15, 22, 29, y 56 y limitando el muestreo se obtendría cada 4 semanas a partir de entonces continuarían los pacientes en la terapia.

Ejemplo 6

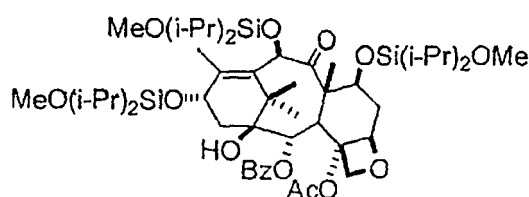
Síntesis del Taxano oral de Fórmula I- 3'-tert-butil-3'-N-tert-butiloxicarbonil-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metoxicarbonil-paclitaxel

La preparación de (+)-cis-4-tert-butil-1-tert-butiloxicarbonil-3-trietilsililoxi-azetidín-2-ona



El trimetilacetaldehído (20,3 mililitros, 1,25 equivalentes) se añadió a una suspensión agitada de p-anisidina (18,4 gramos, 0,150 moles) y el Na_2SO_4 anhidrido (150 gramos) en anhídrido de diclorometano (205 mililitros) a temperatura ambiente. Después de dos horas, esto se filtró y el sólido se lavó con anhídrido de diclorometano adicional. El disolvente se extrajo a partir del filtrado y el residuo cristalino se disolvió en diclorometano anhídrido (750 mililitros) y se colocó bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió la trietilamina (48,0 mililitros, 2,3 equivalentes) y la reacción se enfrió a 78°C . El cloruro de benziloxiacetilo (27,2 mililitros, 1,15 equivalentes) se añadió por goteo y luego la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente templada. Después de 24 horas, éste se lavó con 0,5 M de HCl (dos veces), una solución de NaHCO_3 acuosa saturada, salmuera y se secó (Na_2SO_4). El disolvente se extrajo y el residuo se cromatógrafió en una columna de gel de sílice (el gradiente de elución con 20% de diclorometano en hexano contiene de 0 a 20% de EtOAc) para proporcionar (+)-cis-4-tert-butil-3-benziloxi-1-p-metoxibencil-acetidinona como un sólido cristalino (46,9 gramos, 92%): $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1,09 (s, 9H); 3,81 (s, 3H); 4,15 (d, 1H, $J=5,5$ Hz); 4,77 (d, 1H, $J=11,9$ Hz); 4,81 (d, 1H, $J=5,5$ Hz); 5,03 (d, 1H, $J=11,9$ Hz); 6,87 - 7,43 (m, 9 Hz); LMRS (ESI) 340 ($[\text{M}+\text{H}]^+$). Una solución de nitrato de amonio cérico (60,4 gramos; 3,6 equivalentes) en 900 mililitros de agua se añadió a una solución bien agitada de la acetidinona (10,38 gramos; 30,6 milimoles) en acetonitrilo (600 mililitros) en un baño de hielo durante una hora. Luego la reacción se extrajo con EtOAc (dos veces) y el combinado de extractos orgánicos se lavó con una solución de NaHCO_3 acuosa saturada (dos veces), 20% de la solución NaHSO_3 , una solución de NaHCO_3 acuosa saturada y salmuera. Después de ser secado (Na_2SO_4) se extrajo el disolvente y el residuo se cromatógrafió en una columna de gel de sílice (el gradiente de elución con porciones de hexano que contiene de 10 a 40% de EtOAc) para proporcionar 5,64 gramos de algo de impureza (+)-cis-3-benciloxi-4-tert-butil-acetidin-2-ona: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 1,04 (s, 9H); 3,51 (d, 1H, $J=5,2$ Hz); 4,71 (m, 2H); 4,96 (d, 1H, $J=11,9$ Hz); 6,10 (brs, 1H); 7,35 (m, 5H). Una suspensión de este material (5,54 gramos, 23,8 milimoles) y 2,5 gramos de 10% de Pd en carbón en EtOH absoluto (100 mililitros) fue hidrogenado (34 psi H_2 , aparato Parr) durante 23 horas. Además se añaden 2 gramos del catalizador de Pd y la hidrogenación continuó durante unas 17 horas más a 50 psi H_2 . El catalizador se extrajo mediante filtración y el disolvente se extrajo a partir del filtrado para dejar el bruto (+)-cis-3-hidroxi-4-(tert-butil)-acetidin-2-ona: $^1\text{H NMR}$ ($\text{CDCl}_3 + 1$ gota D_2O) 1,05 (s, 9H); 3,48 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 4,98 (d, 1H, $J=5,0$ Hz). Este material se disolvió en N,N-dimetilformamida seco (40 mililitros) e imidazol (3,24 gramos, 2 equivalentes) y se añadió cloruro de trietilsililo (4,0 mililitros, 1 equivalente). Después de 10 minutos, la reacción se dividió entre agua y una mezcla de EtOAc y hexano (1:1). La fase orgánica se lavó con agua (dos veces), salmuera y luego se secó (Na_2SO_4). El disolvente se extrajo y el residuo se cromatógrafió en una columna de gel de sílice (el gradiente de elución con 20 a 25% EtOAc en hexano) para dar (+)-cis-4-tert-butil-3-trietilsililoxi-acetidin-2-ona (3,86 gramos): $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 0,70 (m, 6H), 0,98 (m, 18H); 3,39 (d, 1H, $J=5,0$ Hz), 4,88 (dd, 1H, $J=2,1, 5,0$ Hz); 6,08 (brs, 1H). Una solución de ésta acetidinona (2,04 gramos, 7,92 milimoles), diisopropiletilamina (1,66 mililitros; 1,2 equivalentes), bicarbonato de de-tert-butilo (1,90 gramos; 1,1 equivalentes) y p-dimetilaminopiridina (194 miligramos; 0,2 equivalentes) en diclorometano seco (24 mililitros) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de la reacción se diluyó con diclorometano, se lavó con salmuera y se secó (Na_2SO_4). La eliminación del disolvente se lleva a cabo mediante cromatografía de columna de gel de sílice (el gradiente de elección con 0 a 20% EtOAc en hexano) proporcionó 2,71 gramos (96%) del compuesto del título como un aceite: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 0,70 (m, 6H); 1,00 (m, 9H); 1,09 (s, 9H); 1,53 (s, 9H); 3,90 (d, 1H, $J=6,5$ Hz); 4,93 (d, 1H, $J=6,5$ Hz).

Preparación del derivado A de la bacatina

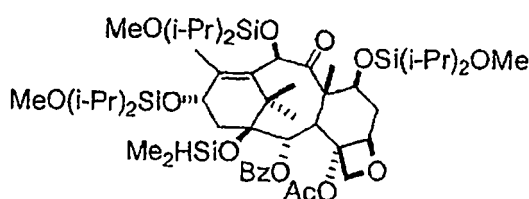


ES 2 211 374 T3

A una solución de la 10-desacetilbacatina (47,4 gramos, 87 milimoles) en N,N-dimetilformamida (DMF) anhidro (500 mililitros) se añadió imidazol (47 gramos, 691 milimoles) a temperatura ambiente. La solución se agitó durante 10-15 minutos hasta que se observó una solución transparente. Se añadió por goteo diisopropildiclorosilano (58 mililitros, 322 milimoles) a la mezcla de reacción). La mezcla de la reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se añadió una cantidad adicional de diisopropildiclorosilano (6 mililitros) a la solución y la mezcla de la reacción se agitó durante 60 minutos. El HPLC en éste punto indicó la finalización de la reacción. El metanol (36 ml) se añadió a la mezcla y la solución se agitó durante 60 minutos. La reacción se paró y se diluyó con una mezcla de ter-butil-metil-cetona (TBME) (500 ml) y agua (200 ml). Las capas se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (250 ml), se secó (sulfato de sodio) y se evaporó para proporcionar el derivado A trisililado de bacatin (91 gramos, >100% de rendimiento) como un compuesto amorfo blanco el cual se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

LMRS (ESI) M+ calcd. Para $C_{50}H_{84}O_{13}Si_3$: 977. Encontrado 977.

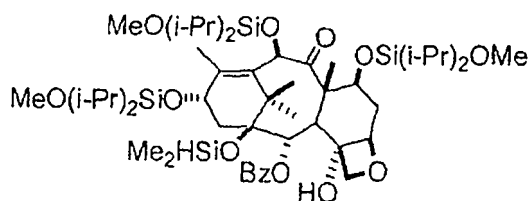
Preparación del derivado B de la Bacatina



A una solución de derivado A de la bacatina (90 gramos, 92 milimoles) en DMF (500 ml) se añadió imidazol (22 gramos, 320 milimoles) a 0°C. Se añadió el dimetilclorosilano (35 mililitros, 320 milimoles) por goteo a 0°C. Se observó la precipitación de los compuestos en este punto. La mezcla de la reacción (suspensa) se agitó durante 0,5 horas a 0°C. El sólido se filtró y se lavó con DMF frío (3 x 150 mililitros). Después de secarse al aire, el sólido se redisolvió en TBME (700 mililitros) y la solución se lavó con agua (3 x 200 mililitros), salmuera (250 mililitros) y se secó (sulfato de sodio). La solución se filtró a través de una corta almohadilla de sílice. La extracción del disolvente al vacío proporciona B en un 77% de rendimiento (70 gramos).

LRMS (ESI) M+ calcd. Para $C_{50}H_{90}O_{13}Si_4$: 1035. encontrado 1035

Preparación del derivado C de la Bacatina

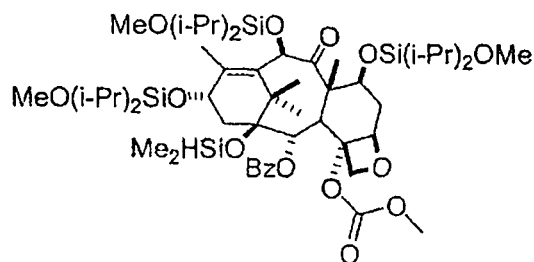


A una solución agitada de B (66,3 gramos, 64 milimoles) en tolueno (680 mililitros) a -34°C se añadió Red-Al® (50 mililitros, 160 milimoles, 65% en peso de solución de sodio bis(2-metoxietoxi) hidruro de aluminio en tolueno) por goteo durante un periodo de 10 minutos. La mezcla de la reacción se calentó a -25°C y se agitó durante 1,5 horas. El metano (62 mililitros) se añadió por goteo a la mezcla de la reacción guardando a una temperatura interna entre -20 y -25°C. La disolución se diluyó con TMBE (500 mililitros) seguido por la adición de una solución 1N de hidróxido sódico (60 mililitros) y salmuera (60 mililitros). La solución se agitó durante 30 minutos. Se añadió diatomitas (12 gramos) a la mezcla, se agitó durante 10 minutos, y se filtró a través de un pad de diatomitas. Se separaron las capas. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera y se secó (sulfato de sodio). Después, la solución se pasó a través de una corta pad de sílice después se extrajo el disolvente, el compuesto se obtuvo en un 97% de rendimiento (62 gramos) como un sólido blanco.

LMRS (ESI) M+ calcd. Para $C_{50}H_{88}O_{12}Si_4$: 993. Encontrado 993.

ES 2 211 374 T3

Preparación del derivado D de la bacatina

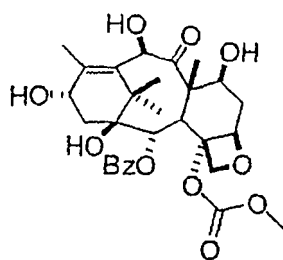


Bajo una atmósfera de argón, a una solución de derivado C de la bacatina (62 gramos, 62 milimoles) en tetrahydrofurano anhidro (THF) (600 mililitros) a -60°C se añadió por goteo litio bis (trimetilsilil)amida (125 mililitros, 125 milimoles, solución 1M en THF). La solución se agitó durante 15 minutos seguido por la adición de cloroformato de metilo (9 mililitros, 115 mililitros); la temperatura interna de la solución se mantuvo a -60°C . La reacción se calentó lentamente a 0°C y la mezcla se agitó durante 3 horas. Después de la finalización de la reacción, se añadió cloruro de amonio saturado (300 mililitros). La mezcla de la reacción se extrajo con TBME (100 mililitros). La capa orgánica se lavó con cloruro de amonio saturado (200 mililitros), agua (200 mililitros), salmuera (200 mililitros), se secó (sulfato de sodio) y se evaporó para proporcionar D como un aceite (67gramos, $>100\%$). El material bruto se usó en la próxima etapa sin más purificación.

20
25

LMRS (ESI) M+ calcd. Para $\text{C}_{52}\text{H}_{90}\text{O}_{14}\text{Si}_4$: 1051. Encontrado 1051.

Preparación del derivado E de la bacatina

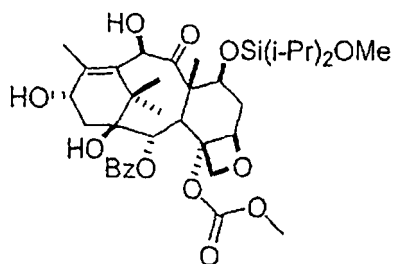


A una solución de derivado D de la bacatina (62 gramos, 59 milimoles) en THF seco (260 mililitros) se añadió trietilamina ácido fluorhídrico completo (56 mililitros, 344 milimoles) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 3 horas. La mezcla de la reacción se diluyó con acetato de etilo (350 mililitros) y se lavó con agua (200 mililitros), salmuera (200 mililitros), se secó (sulfato de sodio), y se evaporó para proporcionar E (43 gramos, $>100\%$ rendimiento bruto). La suspensión del compuesto bruto en una mezcla caliente de acetato de etilo (350 mililitros) y hexanos (50 mililitros) dando E puro en un 90% de rendimiento.

45
50

LMRS (ESI)M+ calcd. Para $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{O}_{11}$: 560. Encontrado 560.

Preparación del derivado F de la bacatina

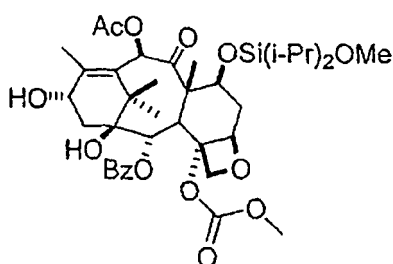


ES 2 211 374 T3

A una solución agitada del derivado E de la bacatina (32 gramos, 57 milimoles) e imidazol (11,7 gramos, 172 milimoles) en DMF (220 mililitros) a -65°C se añadió diisopropildiclorosilano (26,8 mililitros) bajo argón. La temperatura de la mezcla de la reacción se mantuvo a -60°C y la mezcla se agitó durante 2 horas. Después de la finalización de la reacción (HPLC) se añadió una solución de imidazol en metanol (11,7 gramos, imidazol se disolvió en 35 mililitros metanol) y la solución se agitó a 0°C durante 30 minutos. La mezcla se extrajo con TBME (500 mililitros). La fase orgánica se lavó con agua (4x150 mililitros) se secó (sulfato de sodio) y se evaporó para proporcionar F bruto (45 gramos). El material bruto además se disolvió en acetonitrilo (150 mililitros) y la solución se lavó con hexanos (3 x100 mililitros). La extracción de acetonitrilo proporcionó F puro como un sólido blanco (34 gramos, 84% de rendimiento).

LMRS (ESI) M+ calcd. Para $\text{C}_{36}\text{H}_{52}\text{O}_{12}\text{Si}$: 704. Encontrado 704.

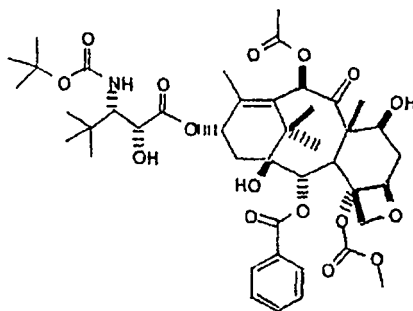
Preparación del 4-deacetil-7-[bisisopropil (metoxi)]sililoxi-4-metoxicarbonil-bacatina.



A una disolución de derivado F la de bacatina (33,3 gramos, 47 milimoles) en DMF (200 milimoles) se añadió litio bis(trimetilsilil)amida (61,2 mililitros, 61,2 milimoles solución 1M en THF) por goteo a -43°C . La mezcla de la reacción se agitó durante 15 minutos seguido por la adición de anhídrido acético (5,8 mililitros, 63 milimoles). La mezcla se agitó durante 30 minutos a -40°C . Se añadió el ácido acético (3,6 mililitros) y se retiró el baño frío. La mezcla de la reacción se extrajo con TBME (300 mililitros). La capa orgánica se separó y se lavó con agua (3x150 mililitros), salmuera (150 mililitros), se secó (sulfato de sodio), y se evaporó para proporcionar el producto crudo. La purificación de este compuesto se consiguió mediante cristalización a partir de una mezcla de THF:heptano (1:6). Un aporte de 40 gramos proporciona 21 gramos del producto cristalizado del título (60% de rendimiento).

LMRS (ESI)M+ calcd. Para $\text{C}_{38}\text{H}_{54}\text{O}_{13}\text{Si}$: 746 Encontrado 746.

Preparación de 3'-tert-Butil-3'-N-tert-butiloxycarbonil-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-etoxicarbonil-paclitaxel (Taxano oral de Fórmula I)



Una solución de (+)-cis-4-tert-butyl-1-(tert-butiloxycarbonil)-3-trietilsililoxi-acetidin-2-ona (2,71 gramos, 5 equivalentes) y 4-deacetil-7-[bisisopropil(metoxi)] sililoxi-4-metoxicarbonil-bacatin (1,13 gramos, 1,52 milimoles) en THF seco (100 mililitros) bajo N_2 se enfrió a -50°C y se añadió una solución de litio bis(trimetilsilil)amida (1,97 mililitros, 1,3 equivalente, 1,0 M en THF). Después de 5 minutos esta se transfirió a un baño que se mantuvo a -35 a -30°C durante 20 horas y luego -25°C durante 24 horas. Luego la reacción se enfrió con una solución de NH_4Cl acuosa saturada y se extrajo con una mezcla de EtOAc y hexano (1:1). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secó (Na_2SO_4). El disolvente se extrajo y el residuo se cromatografió (cromatografía radial en un plato de 6 milímetros de gel de sílice; gradiente elución con 5 a 20% de EtOAc en hexano) para proporcionar 1,5 gramos de 3'-tert-butyl-3'-N-tert-butiloxycarbonil-7-[bisisopropil(metoxi)]sililoxi-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metoxicarbonil-2'-trietilsililoxi paclitaxel como una mezcla de 2', 3'-diastereómeros. Esta mezcla se disolvió en THF seco (60 mililitros) y se añadió trifluorhidrato de trietilamina (0,92 mililitros, 4 equivalente). Después de 22 horas a temperatura ambiente, la mezcla de la reacción se neutralizó con una solución de EtOAc acuosa saturada y luego se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se extrajo el disolvente. El residuo se cromatografió (cromatografía radial; plato de 2 milímetros de gel sílice; el gradiente de elución a partir de 10 a 50%

ES 2 211 374 T3

EtOAc en hexano) para proporcionar (en orden de elección): 210 miligramos (18%) de 2'S, 3'R-tert-butil-3'-N-tert-butiloxicarbonil-4-deacetil-3'-defenil-3'-N-debenzoil-4-O-metoxicarbonil-paclitaxel {¹H NMR (CDCl₃)

5 1,04 (s, 9H), 1,13 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 1,37 (s, 9H), 1,65 (s, 1H), 1,66 (s, 3H), 1,84 - 1,93 (m, 2H), 2,17 (s, 3H),
2,25 (s, 3H), 2,55 (m, 3H), 3,00 (d, 1H, J=6,5 Hz), 3,74 (d, 1H, J= 10,8 Hz), 3,79 (d, 1H, J= 6,9 Hz), 3,92 (s, 3H), 4,
16(d, 1H, J=8,5 Hz), 4,33 (d, 1H, J=8,5 Hz), 4,42 (m, 1H, J= 6,5 Hz) 4,87 (d, 1H, J= 10,6 Hz), 5,01 (d, 1H, J= 7,7
Hz), 5,68 (d, 1H, J= 7,0 Hz), 5,76 (m, 1H), 6,32 (s, 1H), 7,44-8,05(m, 5H); LRMS (ESI) 846 [(M+H)⁺] Y 669 mg
10 (56%) del compuesto del título {¹H NMR (CDCl₃) 1,07 (s, 9H), 1,14 (s, 3H), 1,24 (s, 3H), 1,33 (s, 9H), 1,66 (s, 4H),
2,23 (s, 3H), 2,38 - 2,59 (m, 4H), 3,11 (d, 1H, J=7,0 Hz), 3,82 (d, 1H, J= 7,0 Hz), 3,96 (s, 3H), 4,20 (d, 1H, J= 8,6
Hz), 4,33 (d, 1H, J= 8,6 Hz), 4,39 (m, 1H), 4,53 (d, 1H, J=5,4 Hz) 4,88 (d, 1H, J=10,6 Hz), 4,98 (d, 1H, J=7,9 Hz),
5,69 (d, 1H, J= 7,1 Hz), 6,03 (m, 1H), 6,28 (s, 1H), 7,40 - 8,11 (m, 5H);

LRMS (ESI) 846 [(M+H)⁺].

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

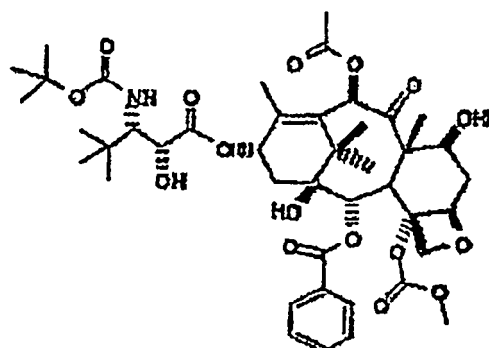
1. El uso de un taxano de Fórmula I:

5

10

15

20



(I)

25

en combinación con paclitaxel para la fabricación de un medicamento para inhibir el crecimiento del tumor y producir efectos secundarios menos tóxicos, los cuales son neurotóxicos, perjudiciales para la proliferación de las células y pérdida de peso, cuando se compara con la administración de la dosis máxima tolerada del taxano, en la que el taxano se administra repetidamente a una dosis por debajo de una establecida dosis máxima tolerada para el taxano.

2. El uso según la reivindicación 1, en el que el taxano está biodisponible por vía oral.

30

3. El uso según la reivindicación 1, en el que el taxano se administra con un intervalo de dosis diaria o intervalos de días alternos, en un periodo de tiempo que oscila desde aproximadamente un mes hasta al menos un año.

4. El uso según la reivindicación 1, en el que la dosis acumulativa del taxano para administrarse vía un régimen de dosificación metronómica está en un intervalo de menos de 300 mg/kg a 18,75 mg/kg.

35

40

45

50

55

60

65