



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 338 216**

51 Int. Cl.:
A61K 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02744397 .7**

96 Fecha de presentación : **18.06.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1409482**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **21.04.2004**

54 Título: **Sulfenatos colorantes para fototerapia dual.**

30 Prioridad: **03.07.2001 US 898809**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.05.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.05.2010

73 Titular/es: **MALLINCKRODT Inc.**
675 McDonnell Blvd., P.O. Box 5840
St. Louis, Missouri 63134, US

72 Inventor/es: **Rajagopalan, Raghavan;**
Achilefu, Samuel, I.;
Bugaj, Joseph, E. y
Dorshow, Richard, B.

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 338 216 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

Sulfenatos colorantes para fototerapia dual.

5 Referencia a solicitudes relacionadas

Esta solicitud es una continuación en parte de la solicitud en tramitación de los EE.UU. con n.º de serie 09/484.322, titulada "Dendrimer Precursor Dyes for Imaging", presentada el 18 de enero de 2000, que tiene los mismos inventores y cesionario que la presente invención.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos agentes fototerápicos con sulfenatos colorantes y a procedimientos fototerápicos que utilizan estos compuestos.

Antecedentes de la invención

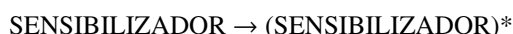
En la práctica clínica cada vez se utiliza mas la luz del infrarrojo cercano (NIR, por sus siglas en inglés). Los compuestos que absorben o emiten en la luz visible o el NIR, o en la región de longitudes de onda largas (UVA, >350 nm) del espectro electromagnético son potencialmente útiles para la tomografía óptica, la visualización endoscópica y la fototerapia. No obstante, una ventaja importante de la óptica biomédica radica en su potencial terapéutico. Se ha demostrado que la fototerapia es un procedimiento seguro y eficaz para el tratamiento de diferentes lesiones superficiales, tanto externas como internas. Su eficacia es comparable a la radioterapia, pero carece ventajosamente de la radiotoxicidad dañina para los órganos clave que no son destinatarios del tratamiento.

La fototerapia ha existido durante muchos siglos y se ha utilizado para tratar diferentes dolencias cutáneas. Ya en 1400 a.C., en la India, se utilizaban extractos vegetales (psolarenos), en combinación con la luz solar, para tratar el vitíligo. En 1903, Von Tappeiner y Jesionek utilizaron la eosina como fotosensibilizador para tratar el cáncer de piel, el lupus de la piel y el condiloma de los genitales femeninos. A lo largo de los años se ha utilizado la combinación de psolarenos y de radiación ultravioleta A (de baja energía) para tratar una amplia variedad de enfermedades dermatológicas y de manifestaciones que incluyen psoriasis, parapsoriasis, linfoma cutáneo de linfocitos T, eccema, vitíligo, alopecia areata y bilirrubinemia neonatal. Aunque se ha reconocido el potencial de la fototerapia en el cáncer desde principios de 1900, los estudios sistemáticos demuestran que su seguridad y eficacia comenzó sólo en 1967 con el tratamiento del cáncer de mama. En 1975, Dougherty *et al.* establecieron de manera concluyente que es posible la curación a largo plazo con la terapia fotodinámica (PDT). En la actualidad también se investigan métodos fototerápicos para tratar algunas enfermedades cardiovasculares tales como la aterosclerosis y la reestenosis vascular, para tratar la artritis reumatoide y para tratar algunas enfermedades inflamatorias tales como la enfermedad de Chron.

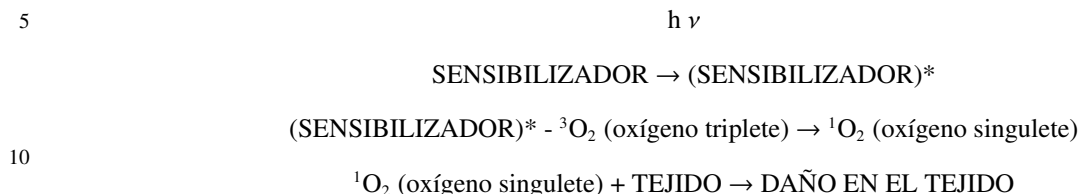
Los procedimientos fototerápicos requieren fotosensibilizadores (a saber, cromóforos) que tengan una absorción elevada. Estos compuestos deben ser, preferentemente, químicamente inertes y convertirse en activos sólo tras la irradiación con luz de una longitud de onda adecuada. La lesión del tejido específico se puede inducir con luz cuando los fotosensibilizadores se unen a los tejidos destinatarios, bien directamente o a través de la adhesión a un vehículo bioactivo. Además, si el fotosensibilizador es también un agente quimioterápico (por ejemplo, agentes antitumorales de antraciclina), entonces se puede conseguir un efecto terapéutico mejorado. Los requisitos clave para diseñar agentes fototerápicos eficaces son: a) coeficientes de extinción molar grandes, b) vidas útiles prolongadas de los tripletes, c) rendimientos elevados de oxígeno singulete y/u otros intermedios reactivos, a saber, radicales libres, nitrenos, carbenos o especies iónicas de capa abierta tales como iones cabonio y similares, d) transferencia eficaz de energía o de electrones a los componentes celulares, e) baja tendencia a agregarse en un medio acuoso, f) acción eficaz y selectiva sobre las lesiones, g) eliminación rápida desde la sangre y desde los tejidos a los que no está destinado, h) toxicidad sistémica baja e i) ausencia de mutagenicidad.

Los fotosensibilizadores operan a través de dos mecanismos diferentes, denominados tipo 1 y tipo 2. El mecanismo de tipo 1 se muestra en el esquema siguiente:

$$h\nu$$



Los mecanismos de tipo 1 implican la transferencia directa de energía o de electrones desde el fotosensibilizador a los componentes celulares, lo que ocasiona la muerte celular. Los mecanismos de tipo 2 implican dos etapas independientes, tal y como se muestra en el esquema siguiente:



En la primera etapa, el oxígeno singulete se genera mediante la transferencia de energía desde el estado excitado de triplete del fotosensibilizador a las moléculas de oxígeno que rodean los tejidos. En la segunda etapa, la colisión del oxígeno singulete con los tejidos provoca el daño del tejido. En los mecanismos de tipo 1 y 2, la fotorreacción prosigue a través del estado triplete más bajo del sensibilizador. Por lo tanto, se requiere que el triplete tenga una vida útil relativamente larga para que la fototerapia resulte eficaz. Por el contrario, se requiere que el triplete tenga una vida útil relativamente corta para evitar el fotodaño del tejido que causan los fotosensibilizadores.

La base biológica de la lesión del tejido llevada a cabo por los agentes fototerápicos antitumorales ha sido objeto de un estudio intensivo. Se han postulado diferentes mecanismos bioquímicos para el daño del tejido incluso aunque el tipo y el número de los fotosensibilizadores empleados en estos estudios sea relativamente pequeño. Estos mecanismos bioquímicos son como siguen: a) las células cancerosas aumentan la expresión de los receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL), y los agentes de terapia fotodinámica (PDT) se unen a las LDL y a la albúmina de forma selectiva; b) la neovascularización en proliferación captura de forma selectiva las sustancias de tipo porfirina; c) los tumores a menudo contienen un gran número de cuerpos lipídicos y, por lo tanto, son capaces de unirse a los fotosensibilizadores hidrófobos; d) una combinación de vasculatura tumoral “con fugas” y una reducción del drenaje linfático ocasionan la acumulación de porfirinas; e) las células tumorales pueden haber aumentado su capacidad para realizar la fagocitosis o la pinocitosis de los agregados de porfirina, f) los macrófagos asociados a los tumores pueden ser responsables en buena medida de la concentración de los fotosensibilizadores en los tumores; y g) las células cancerosas pueden entrar en apoptosis inducida por los fotosensibilizadores. Entre estos mecanismos, f) y g) son los más generales y, de estas dos alternativas, existe un consenso general de que f) es el mecanismo más probable por el cual se induce el efecto fototerápico de los compuestos de tipo porfirina.

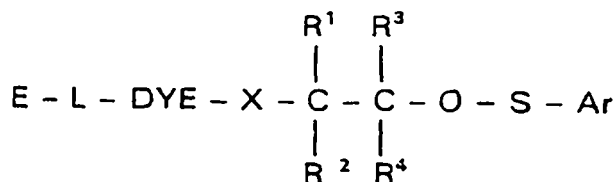
La mayoría de los fotosensibilizadores conocidos en la actualidad se citan habitualmente como agentes de terapia fotodinámica (PDT) y operan a través del mecanismo de tipo 2. Por ejemplo, la Food and Drug Administration de los Estados Unidos ha autorizado recientemente la fotofrina II (un derivado de la hematoporfirina) para tratar el cáncer de vejiga, el cáncer de esófago y el cáncer de pulmón en etapa tardía. Sin embargo, se ha demostrado que la fotofrina II tiene varios inconvenientes: una baja absorptividad molar ($\epsilon = 3000 \text{ M}^{-1}$), un bajo rendimiento cuántico de oxígeno singulete ($\phi = 0,1$), heterogeneidad química, agregación y una fotosensibilidad cutánea prolongada. Por lo tanto, se ha realizado un esfuerzo considerable para desarrollar fotosensibilizadores más seguros y eficaces para la PDT que muestren una mejora de las propiedades de absorción de la luz, una mejor eliminación y una disminución de la fotosensibilidad cutánea en comparación con la fotofrina II. Estos incluyen derivados monoméricos de la porfirina, corrinas, cianinas, ftalocianinas, fenotiazinas, rodaminas, hipocrelinas y similares. Sin embargo, estos agentes fototerápicos también funcionan principalmente a través del mecanismo de tipo 2.

Sorprendentemente, no se ha prestado mucha atención al desarrollo de agentes fototerápicos de tipo 1, a pesar del hecho de que el mecanismo de tipo 1 resulta de por sí más eficaz que el mecanismo de tipo 2. Primero, a diferencia de los fotosensibilizadores de tipo 2, los fotosensibilizadores de tipo 1 no requieren oxígeno para ocasionar una lesión celular. Segundo, el mecanismo de tipo 1 implica dos etapas (fotoexcitación y transferencia de energía directa), mientras que el mecanismo de tipo 2 implica tres etapas (fotoexcitación, generación de oxígeno singulete y transferencia de energía). Además, algunos tumores tienen regiones hipóxicas, que hacen que el mecanismo de tipo 2 resulte ineficaz. No obstante, a pesar de los inconvenientes asociados con el mecanismo de tipo 2, sólo se ha desarrollado un pequeño número de compuestos que funcionan a través del mecanismo de tipo 1, por ejemplo, agentes antitumorales de antraciclina.

Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar agentes fototerápicos eficaces que funcionen a través del mecanismo de tipo 1. La eficacia fototerápica puede mejorarse adicionalmente si los fotosensibilizadores en estado excitado pueden generar intermedios reactivos tales como los radicales libres, los nitrenos, los carbenos y similares, que tienen vidas útiles mucho mayores que el cromóforo excitado y se ha demostrado que ocasionan un daño celular considerable. Por lo tanto, existe la necesidad en la técnica de desarrollar agentes fototerápicos eficaces. La eficacia fototerápica puede mejorarse sustancialmente si las unidades de tipo 1 y de tipo 2 se integran en un compuesto único. Esto se puede llevar a cabo utilizando tres tipos de formulación: a) solo con mezclas homogéneas de agentes de tipo 1 o de tipo 2, b) mezclas homogéneas de agentes de tipo 1 y tipo 2, o c) entidad molecular única que contiene tanto la funcionalidad de tipo 1 como la de tipo 2.

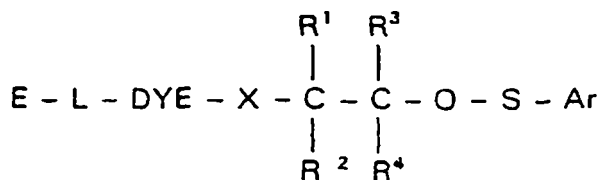
Compendio de la invención

La presente invención describe nuevos agentes fototerápicos con sulfenato y sus bioconjugados para la fototerapia de tumores y otras lesiones. Los agentes tienen la fórmula general



en la que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen a los receptores de la somatostatina, la bacterioendotoxina sensible al calor, la neurotensina, la bombesina, la colecistocinina, los esteroides y los glúcidos, y ácido dihidroxiindolcarboxílico. L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, $-(R^5)NOCCH_2O-$, $-(R^5)NOCCH_2CH_2O-$, $-OCN(R^5)-$, $-HNC(=S)NH-$ y $HNC(=O)NH-$. DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, indocianinas, ftalocianinas, rodaminas, fenoxazinas, fenotiazinas, fenoselenazinas, fluoresceínas, porfirinas, benzoporfirinas, escuarainas, corrinas, croconios, colorantes azoicos, colorantes de metina, colorantes de indolenio, crelinas e hipocrelinas. R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), arilo (C_5-C_{10}), polihidroxialquilo (C_1-C_{10}) y polialcoxialquilo (C_1-C_{10}). Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, naftalenos, naftoquinonas, difenilmetanos, fluorenos, antracenos, antraquinonas, fenantrenos, tetracenos, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, isoquinolinas, indoles, isoindoles, pirroles, imidazoles, oxazoles, tiazoles, pirazoles, pirazinas, purinas, bencimidazoles, furanos, benzofuranos, dibenzofuranos, carbazoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, tiofenos, benzotiofenos, dibenzotiofenos, xantenos, xantonas, flavonas, cumarinas y antracilinas.

La presente solicitud también describe un método para realizar un procedimiento fototerápico utilizando los nuevos derivados de sulfenato y sus bioconjugados. A un sujeto se le administra una cantidad eficaz de fotosensibilizadores con sulfenato que tienen la fórmula



En la fórmula, E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen a los receptores de la somatostatina, la bacterioendotoxina sensible al calor, la neurotensina, la bombesina, la colecistocinina, los esteroides y los glúcidos, y ácido dihidroxiindolcarboxílico. L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, $-(R^5)NOCCH_2O-$, $-(R^5)NOCCH_2CH_2O-$, $-OCN(R^5)-$, $-HNC(=S)NH-$ y $HNC(=O)NH-$. DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, indocianinas, ftalocianinas, rodaminas, fenoxazinas, fenotiazinas, fenoselenazinas, fluoresceínas, porfirinas, benzoporfirinas, escuarainas, corrinas, croconios, colorantes azoicos, colorantes de metina, colorantes de indolenio, crelinas e hipocrelinas. R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo (C_1-C_{10}), arilo (C_5-C_{10}), polihidroxialquilo (C_1-C_{10}) y polialcoxialquilo (C_1-C_{10}). Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, naftalenos, naftoquinonas, difenilmetanos, fluorenos, antracenos, antraquinonas, fenantrenos, tetracenos, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, isoquinolinas, indoles, isoindoles, pirroles, imidazoles, oxazoles, tiazoles, pirazoles, pirazinas, purinas, bencimidazoles, furanos, benzofuranos, dibenzofuranos, carbazoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, tiofenos, benzotiofenos, dibenzotiofenos, xantenos, xantonas, flavonas, cumarinas y antracilinas. Después de la administración, se deja que el fotosensibilizador se acumule en el tejido de destino, el cual se expone a la luz de una longitud de onda entre 300 y 950 nm con una potencia y una velocidad de flujo de las partículas suficientes para ocasionar la necrosis o la apoptosis de dicho tejido de destino.

Breve descripción de los dibujos

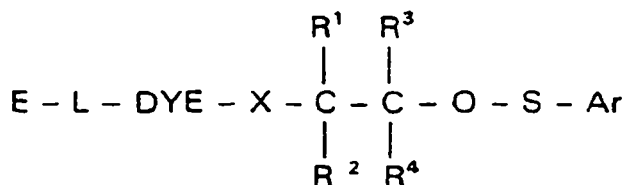
La fig. 1 es un esquema del mecanismo para la activación de los agentes fototerápicos de la invención;

la fig. 2 es un esquema del mecanismo para la síntesis de un derivado de cianina; y

la fig. 3 es un esquema del mecanismo para la síntesis de un derivado de ftalocianina.

Descripción detallada de la invención

La presente invención describe nuevos agentes fototerápicos con sulfenato y sus bioconjugados para la fototerapia de tumores y otras lesiones. Los agentes tienen la fórmula general



en la que E es un átomo de hidrógeno o bien se selecciona del grupo que comprende anticuerpos, péptidos, peptidomiméticos, glúcidos, glucomiméticos, fármacos, hormonas o ácidos nucleicos; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{OCN}(\text{R}^5)-$, $-\text{HCN}(=\text{S})\text{NH}-$, y $\text{HNC}(=\text{O})\text{NH}-$; DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, indocianinas, ftalocianinas, rodaminas, fenoxazinas, fenotiazinas, fenoselenazinas, fluoresceínas, porfirinas, benzoporfirinas, escuarainas, corrinas, croconios, colorantes azoicos, colorantes de metina, colorantes de indolenio y similares; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$), arilo($\text{C}_5\text{-C}_{10}$), polihidroxialquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$) y polialcoxialquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$); y Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, naftalenos, naftoquinonas, difenilmetanos, fluorenos, antracenos, antraquinonas, fenantrenos, tetracenos, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, isoquinolinas, indoles, isoindoles, pirroles, imidazoles, oxazoles, tiazoles, pirazoles, pirazinas, purinas, bencimidazoles, furanos, benzofuranos, dibenzofuranos, carbazoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, tiofenos, benzotiofenos, dibenzotiofenos, xantenos, xantonas, flavonas, cumarinas y antracilinas.

En una realización, los sulfenatos de acuerdo con la presente invención tienen la fórmula general 1 anterior, en la que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen a los receptores de la somatostatina, la bacterioendotoxina sensible al calor (ST), la neurotensina, la bombesina, la colecistocinina (CCK), los esteroides y los glúcidos, y ácido dihidroxiindolcarboxílico; X se selecciona del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, y $\text{HNC}(=\text{S})\text{NH}$; DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, indocianinas, ftalocianinas, rodaminas, fenoxazinas, fenotiazinas, fluoresceínas, porfirinas, benzoporfirinas y colorantes de indolenio; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$), arilo($\text{C}_5\text{-C}_{10}$) y polihidroxialquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$); y Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, difenilmetanos, fluorenos, antraquinonas, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, isoquinolinas, indoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, xantenos, xantonas y antracilinas.

En una realización alternativa, los sulfenatos de acuerdo con la presente invención tienen la fórmula general anterior, en la que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen a los receptores de la somatostatina, la bacterioendotoxina sensible al calor, la neurotensina, la bombesina, la colecistocinina, los esteroides y los glúcidos; X es $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}$; DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, ftalocianinas, rodaminas, porfirinas, benzoporfirinas y corrinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, y alquilo($\text{C}_1\text{-C}_{10}$); y Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, difenilmetanos, fluorenos, antraquinonas, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, indoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, xantenos, xantonas y antracilinas.

Estos agentes fototerápicos operan principalmente por el mecanismo de tipo 1 tal y como se muestra en la figura 1, en los que $-\text{O}-\text{SR}$ es el resto sulfenato que produce radicales libres durante la fotoactivación, y Ar es un cromóforo aromático que sufre la fotosensibilización. Los sulfenatos alifáticos también se pueden utilizar para la fototerapia, pero por lo general se consideran inestables y difíciles de manejar en las condiciones habituales. L es un conector entre el cromóforo y el epítipo. El epítipo (E) es una región concreta de la molécula que se reconoce mediante el sitio de diana en la célula, y se une a él. Normalmente, un epítipo se asocia, pero no siempre, a biomoléculas que incluyen hormonas, aminoácidos, péptidos, peptidomiméticos, proteínas, nucleósidos, nucleótidos, ácidos nucleicos, enzimas, glúcidos, glucomiméticos, lípidos, albúminas, anticuerpos mono- y policlonales, receptores, compuestos de inclusión tales como ciclodextrinas, y moléculas que se unen a receptores. Ejemplos específicos de biomoléculas incluyen hormonas esteroídicas para el tratamiento de lesiones de mama y de próstata, moléculas que se unen a los receptores de la somatostatina, la bombesina y la neurotensina para el tratamiento de tumores endocrinos, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina para tratar el cáncer de pulmón, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor (ST), y al antígeno carcinoembrionario (ACE) para tratar el cáncer colorrectal, el ácido dihidroxiindolcarboxílico y otros intermedios biosintéticos productores de melanina para el melanoma, moléculas que se unen al receptor de la integrina y a las placas ateroscleróticas para tratar enfermedades vasculares, y moléculas que se unen a la placa amiloide para tratar las lesiones cerebrales. Las biomoléculas a utilizar en la presente invención también pueden incluir polímeros sintéticos. Ejemplos de polímeros sintéticos incluyen poliaminoácidos, polioles, poliaminas, poliácidos, oligonucleótidos, aboroles, dendrímeros y aptámeros. El acoplamiento de los agentes de diagnóstico y los radioterápicos a las biomoléculas se puede llevar a cabo mediante los métodos bien conocidos en la técnica, tal y como

se describe en Hnatowich *et al.*, "Radioactive Labeling of Antibody: A simple and efficient method". *Science*, 1983, 220, 613-615; A. Pelegrin *et al.*, "Photoimmunodiagnosis with antibody-fluorescein conjugates: *in vitro* and *in vivo* preclinical studies". *Journal of Cellular Pharmacology*, 1992, 3, 141-145; y la patente de los EE.UU. n.º 5.714.342, que se incorporan en su totalidad expresamente en la presente memoria mediante referencia. Otros autores y nosotros mismos hemos demostrado con éxito la acción selectiva específica de los colorantes fluorescentes sobre los tumores mediante anticuerpos y péptidos para el diagnóstico de los tumores por imagen, por ejemplo, en S. A. Achilefu *et al.*, "Novel receptor-targeted fluorescent contrast agents for *in vivo* tumor imaging". *Investigative Radiology*, 2000, 35(8), 479-485; B. Ballou *et al.*, "Tumor labeling *in vivo* using cyanine-conjugated monoclonal antibodies". *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 1995, 41, 257-263; y K. Licha *et al.*, "New contrast agents for optical imaging: acid-cleavable conjugates of cyanine dyes with biomolecules". En "Biomedical imaging: Reporters, Dyes and Instrumentation", D. J. Bornhop, C. Contag y E. M. Sevick-Muraca (Eds.), *Proceedings of SPIE*, 1999, 3600, 29-35, que se incorporan expresamente en la presente memoria en su totalidad mediante referencia. Por lo tanto, se espera que los agentes fototerápicos de la invención dirigidos selectivamente a receptor sean eficaces para el tratamiento de diferentes lesiones.

En la presente invención, el efecto fototerápico dual que afecta a los mecanismos de tipo 1 y tipo 2 se puede llevar a cabo mediante la incorporación de los precursores intermedios reactivos en colorantes convencionales de PDT y mediante la utilización de una fuente de luz de longitud de onda dual para efectuar la generación de intermedios reactivos así como la generación de un oxígeno singulete. En algunos casos puede ser posible activar tanto los mecanismos de tipo 1 como de tipo 2 mediante la misma longitud de onda de luz.

En el procedimiento esbozado en la figura 1, la fotoexcitación del cromóforo aromático efectúa una transferencia de energía intramolecular rápida al grupo sulfenato, lo que da lugar a la ruptura del enlace y a la producción de *dos* radicales libres reactivos que ocasionan la lesión celular.

Con el propósito de conseguir la acción selectiva, se utiliza la adhesión externa de un epítipo. Sin embargo, si los propios compuestos aromáticos con sulfenato se acumulan en el tejido de destino, puede no ser necesario un grupo de unión adicional. Por ejemplo, si Ar es un resto de antraciclina, se unirá a células cancerosas directamente y no requerirá un epítipo con el propósito de la acción selectiva.

La síntesis de los derivados de sulfenato se lleva a cabo mediante un método que generalmente implica la condensación de cloruros de sulfenilo con alcoholes en presencia de una base orgánica. Este método se describe en D. L. Pasto y F. Cottard, "Demonstration of the synthetic utility of the generation of alkoxy radicals by the photo-induced, homolytic dissociation of alkyl 4-nitrobenzenesulfenates". *Tetrahedron Letters*, 1994, 35(25), 4303-4306, que se incorpora expresamente mediante referencia en la presente memoria en su totalidad. Los derivados de sulfenatos colorantes de la presente invención contienen funcionalidades adicionales que se pueden utilizar para unirle varios tipos de biomoléculas, polímeros sintéticos y agregados organizados para la administración selectiva a distintos órganos o tejidos de interés. La síntesis de los agentes fototerápicos duales típicos que incorporan los mecanismos de tipo 1 y 2 basados en derivados de cianinas y ftalocianinas se muestra en las figuras 2 y 3. Uno de los ésteres activos derivados de bien el ácido iniciador 1, 3 se puede unir a un resto de tipo 1 y el otro éster activo se puede conjugar a cualquier biomolécula deseada de interés. Específicamente, la biomolécula de la presente invención pertenece a las que se unen a los tumores colorrectal, cervical, de ovario, de pulmón y neuroendocrino. Estas incluyen compuestos que se unen a los receptores de la somatostatina, la colecistocinina, la bombesina, neuroendocrino y la bacterioendotoxina sensible al calor.

Los nuevos agentes fototerápicos de la presente invención pueden variar ampliamente según la solicitud contemplada. Para los tumores, la biomolécula se selecciona de la clase de marcadores tumorales que incluye, pero sin limitarse a ellos, compuestos que se unen a los receptores de la somatostatina, la bombesina, la neurotensina, la colecistocinina, la bacterioendotoxina sensible al calor, los estrógenos y la progesterona. Para las lesiones vasculares, se puede seleccionar la biomolécula de la clase de compuestos que se unen a integrinas, a selectinas, al factor del crecimiento del endotelio vascular, a fibrinas, al activador tisular del plasminógeno, a la trombina, a las LDL, a las HDL, al sialil-Lewis^x y sus miméticos, y a la placa aterosclerótica.

También se describen los métodos para realizar los procedimientos terapéuticos con los agentes fototerápicos de la invención. Se administra una cantidad eficaz del agente de la invención en una formulación farmacéuticamente aceptable a un paciente. Por ejemplo, la administración por vía parenteral contiene ventajosamente una suspensión o solución acuosa estéril del fotosensibilizador en una concentración que oscila de 1 nM a unos 0,5 M. Las formulaciones parenterales preferentes tienen una concentración de fotosensibilizador de 1 μ M a 10 mM. Tales soluciones también pueden contener tampones, emulsionantes, tensioactivos y, opcionalmente, electrólitos, tal como cloruro de sodio, farmacéuticamente aceptables. Las formulaciones para la administración enteral pueden variar ampliamente, como se conoce bien en la técnica. En general, tales formulaciones son líquidas, que incluyen una cantidad eficaz de los complejos en suspensión o solución acuosa. Tal compuesto enteral puede incluir opcionalmente tampones, tensioactivos, emulsionantes, agentes tixotrópicos y similares. Los agentes para la administración oral también pueden contener aromatizantes y otros ingredientes para potenciar las propiedades organolépticas. Las formulaciones para la administración tópica también pueden contener excipientes líquidos o semisólidos para ayudar a la penetración del fotosensibilizador. Los agentes también se pueden administrar en un pulverizador de aerosol. La dosis del fotosensibilizador puede variar de 0,1 a 500 mg/kg de masa corporal, preferiblemente de 0,5 a 2 mg/kg de masa corporal. El fotosensibilizador se deja acumular en la región de interés, y luego se ilumina con la luz de longitud de onda de 300 a

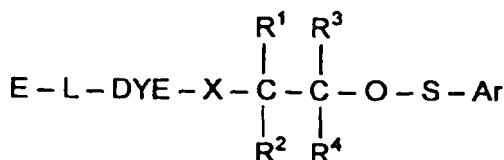
ES 2 338 216 T3

1200 nm, preferiblemente de 350 a 850 nm, en el sitio de la lesión. Si la lesión se encuentra en la superficie de la piel, se puede iluminar directamente el fotosensibilizador; de lo contrario, se pueden emplear catéteres endoscópicos equipados con una fuente de luz para conseguir el efecto fototerápico. La intensidad, potencia y duración de la iluminación, y la longitud de onda de la luz pueden variar ampliamente según la localización y el sitio de las lesiones. La longitud de onda de la luz puede variar de 300 a 1200 nm. La velocidad de flujo de las partículas se mantiene preferiblemente, pero no siempre, por debajo de 200 mW/cm² para disminuir al mínimo los efectos térmicos. La potencia adecuada depende del tamaño, la profundidad y la patología de la lesión. Los agentes fototerápicos de la invención tienen una utilidad clínica amplia que incluye, pero sin limitarse a ellos, fototerapia de los tumores, procedimientos inflamatorios y deterioro de la vasculatura.

Los agentes fototerápicos de la invención se pueden formular en compuestos de diagnóstico o terapéuticos para la administración enteral, parenteral, tópica o cutánea. La administración tópica o cutánea del fotosensibilizador también puede incluir la formulación en aerosol, cremas, geles, soluciones, etc. Los agentes se administran en dosis eficaces para conseguir el efecto de diagnóstico o terapéutico deseado. Tales dosis pueden variar ampliamente según el complejo concreto empleado, los órganos o tejidos a examinar, el equipamiento empleado en el procedimiento clínico, la eficacia del tratamiento conseguido y similares. Estos agentes contienen una cantidad eficaz del agente fototerápico, junto con vehículos y excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para el tipo de administración contemplada. Estos agentes también pueden incluir estabilizantes y potenciadores de la penetración cutánea.

REIVINDICACIONES

1. Agente fototerápico que tiene la fórmula,



en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina, moléculas que se unen al receptor de los esteroides y moléculas que se unen al receptor de los glúcidos, y ácido dihidroxiindolcarboxílico; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$, $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, $-\text{OCN}(\text{R}^5)-$, $-\text{HNC}(=\text{S})\text{NH}-$, y $\text{HNC}(=\text{O})\text{NH}-$; DYE es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en cianinas, indocianinas, ftalocianinas, rodaminas, fenoxazinas, fenotiazinas, fenoselenazinas, fluoresceínas, porfirinas, benzoporfirinas, escuarainas, corrinas, croconios, colorantes azoicos, colorantes de metina, colorantes de indolenio, crelinas e hipocrelinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que comprende hidrógeno, alquilo(C_1-C_{10}), arilo(C_5-C_{10}), polihidroxi alquilo(C_1-C_{10}) y polialcoxi alquilo(C_1-C_{10}); y Ar es un radical aromático o heteroaromático derivado del grupo que consiste en bencenos, naftalenos, naftoquinonas, difenilmetanos, fluorenos, antracenos, antraquinonas, fenantrenos, tetracenos, naftacenodionas, piridinas, quinolinas, isoquinolinas, indoles, isoindoles, pirroles, imidazoles, oxazoles, tiazoles, pirazoles, pirazinas, purinas, bencimidazoles, furanos, benzofuranos, dibenzofuranos, carbazoles, acridinas, acridonas, fenantridinas, tiofenos, benzotiofenos, dibenzotiofenos, xantenos, xantonas, flavonas, cumarinas y antracilinas.

2. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$; DYE se deriva de cianinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_{10}), arilo(C_5-C_{10}) y polihidroxi alquilo(C_1-C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

3. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina, y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; X se selecciona del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$; DYE se deriva de ftalocianinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_{10}), arilo(C_5-C_{10}) y polihidroxi alquilo(C_1-C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

4. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$; DYE se deriva de rodaminas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_{10}), arilo(C_5-C_{10}), y polihidroxi alquilo(C_1-C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

5. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$; DYE se deriva de porfirinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1-C_{10}), arilo(C_5-C_{10}) y polihidroxi alquilo(C_1-C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

6. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(\text{R}^5)\text{NOC}-$, y $-(\text{R}^5)\text{NOCCH}_2\text{O}-$; DYE se deriva de

benzoporfirinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1 - C_{10}), arilo(C_5 - C_{10}) y polihidroxialquilo(C_1 - C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

7. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, y $-(R^5)NOCCH_2O-$; DYE se deriva de corrinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1 - C_{10}), arilo(C_5 - C_{10}) y polihidroxialquilo(C_1 - C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

8. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, y $-(R^5)NOCCH_2O-$; DYE se deriva de fenotiazinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1 - C_{10}), arilo(C_5 - C_{10}) y polihidroxialquilo(C_1 - C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

9. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, y $-(R^5)NOCCH_2O-$; DYE se deriva de hipocrelinas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1 - C_{10}), arilo(C_5 - C_{10}) y polihidroxialquilo(C_1 - C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

10. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E se selecciona del grupo que consiste en moléculas que se unen al receptor de la somatostatina, moléculas que se unen al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor, moléculas que se unen al receptor de la neurotensina, moléculas que se unen al receptor de la bombesina, moléculas que se unen al receptor de la colecistocinina y moléculas que se unen al receptor de los esteroides; L y X se seleccionan independientemente del grupo que consiste en $-(R^5)NOC-$, y $-(R^5)NOCCH_2O-$; DYE se deriva de fluoresceínas; R^1 a R^5 se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo(C_1 - C_{10}), arilo(C_5 - C_{10}) y polihidroxialquilo(C_1 - C_{10}); y Ar es un radical aromático derivado del benceno.

11. Agente fototerápico según la reivindicación 1, en el que E es una biomolécula seleccionada del grupo que consiste en hormonas, aminoácidos, péptidos, peptidomiméticos, proteínas, nucleósidos, nucleótidos, ácidos nucleicos, enzimas, glúcidos, glucomiméticos, lípidos, albúminas, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, receptores, compuestos de inclusión, moléculas que se unen a receptores, poliaminoácidos, polioles, poliaminas, poliácidos, oligonucleótidos, aboroles, dendrímeros y aptámeros.

12. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, para su uso en medicina.

13. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para su uso en un método para tratar tumores u otras lesiones.

14. Agente fototerápico según la reivindicación 13, en el que dicho método comprende dejar que el agente fototerápico se acumule en el tumor u otra lesión y exponer el tumor u otra lesión a la luz de longitud de onda entre 300 y 950 nm con potencia y velocidad de fluencia suficientes para causar necrosis o apoptosis del tumor u otra lesión.

15. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 14, en el que dicho método comprende administrar el agente fototerápico en una dosis de 0,1 a 500 mg/kg de masa corporal.

16. Agente fototerápico según la reivindicación 15, en el que dicho método comprende administrar el agente fototerápico en una dosis de 0,5 a 2 mg/kg de masa corporal.

17. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en el que dicho método comprende la administración parenteral.

18. Agente fototerápico según la reivindicación 17, en el que el método comprende administrar el agente fototerápico en una solución que contiene tampones, emulsionantes, tensioactivos y, opcionalmente, electrólitos, todos ellos farmacéuticamente aceptables.

19. Agente fototerápico según la reivindicación 18, en el que la solución es una suspensión o solución acuosa estéril y el agente fototerápico está presente a una concentración que oscila de 1 nM a 0,5 M.

20. Agente fototerápico según la reivindicación 19, en el que el agente fototerápico está presente a una concentración que oscila de 1 μ M a 10 mM.

ES 2 338 216 T3

21. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en el que dicho método comprende la administración enteral.

5 22. Agente fototerápico según la reivindicación 21, en el que el método comprende administrar el agente fototerápico en una formulación que contiene tampones, emulsionantes, tensioactivos y agentes tixotrópicos.

23. Agente fototerápico según la reivindicación 22, en el que la formulación es una suspensión o disolución acuosa.

10 24. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en el que dicho método comprende la administración tópica.

25. Agente fototerápico según la reivindicación 24, en el que el método comprende administrar el agente fototerápico en una formulación que contiene excipientes líquidos o semisólidos.

15 26. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 16, en el que dicho método comprende la administración tópica o cutánea del fotosensibilizador como una formulación en aerosol, crema, gel o solución.

20 27. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 26, en el que E se selecciona entre compuestos que se unen a los receptores de la somatostatina, la bombesina, la neurotensina, la colecistocinina, la bacterioendotoxina sensible al calor, los estrógenos y la progesterona, y el método es para tratar tumores.

28. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 26, en el que el método es para el tratamiento de los tumores colorrectal, cervical, ovárico, de pulmón y neuroendocrino.

25 29. Agente fototerápico según la reivindicación 28, en el que E es un compuesto que se une a los receptores de la somatostatina, la colecistocinina, la bombesina, neuroendocrino o la bacterioendotoxina sensible al calor.

30 30. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 26, en el que E se selecciona entre los compuestos que se unen a la integrinas, a las selectinas, al factor de crecimiento del endotelio vascular, a las fibrinas, al activador tisular del plasminógeno, a la trombina, a las LDL, a las HDL, al Sialil-Lewis^x y sus miméticos, y a la placa aterosclerótica, y el método es para tratar las lesiones vasculares.

31. Agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 13 a 26, en el que E es:

35 una hormona esteroídica y el método es para tratar las lesiones de mama y de próstata,

una molécula que se une a los receptores de la somatostatina, la bombesina o la neurotensina, y el método es para tratar tumores neuroendocrinos,

40 una molécula que se une al receptor de la colecistocinina y el método es para tratar el cáncer de pulmón,

una molécula que se une al receptor de la bacterioendotoxina sensible al calor (ST) o al antígeno carcinoembrionario (ACE), y el método es para tratar el cáncer colorrectal,

45 el ácido dihidroxiindolcarboxílico u otro intermedio biosintético productor de melanina para tratar el melanoma,

una molécula que se une al receptor de la integrina o a la placa aterosclerótica para tratar las enfermedades vasculares, o

50 una molécula que se une a la placa amiloide para tratar las lesiones cerebrales.

32. Composición de diagnóstico o terapéutica para la administración enteral, parenteral, tópica o cutánea, que comprende el agente fototerápico según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

55

60

65

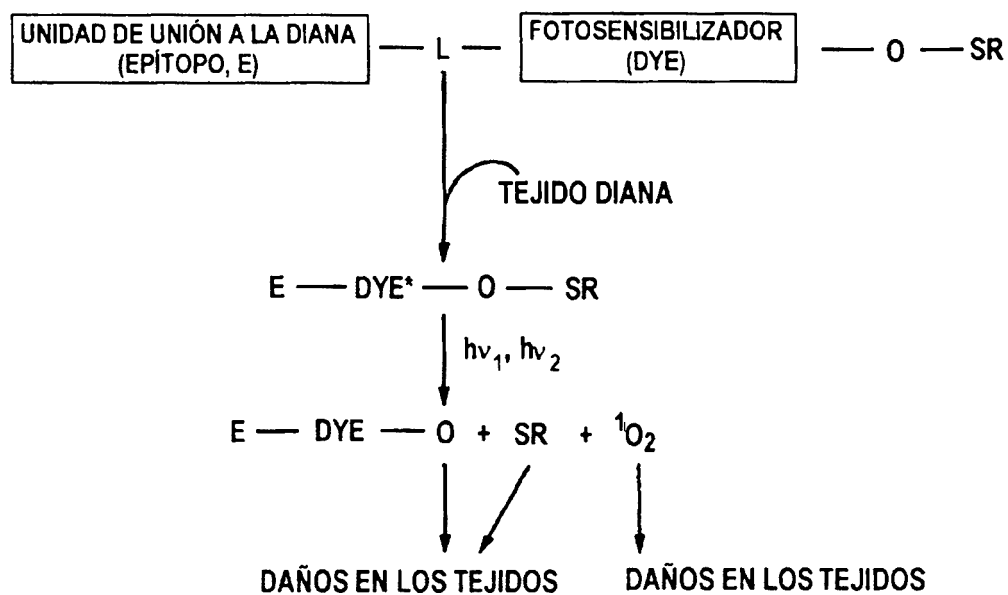


FIG. 1

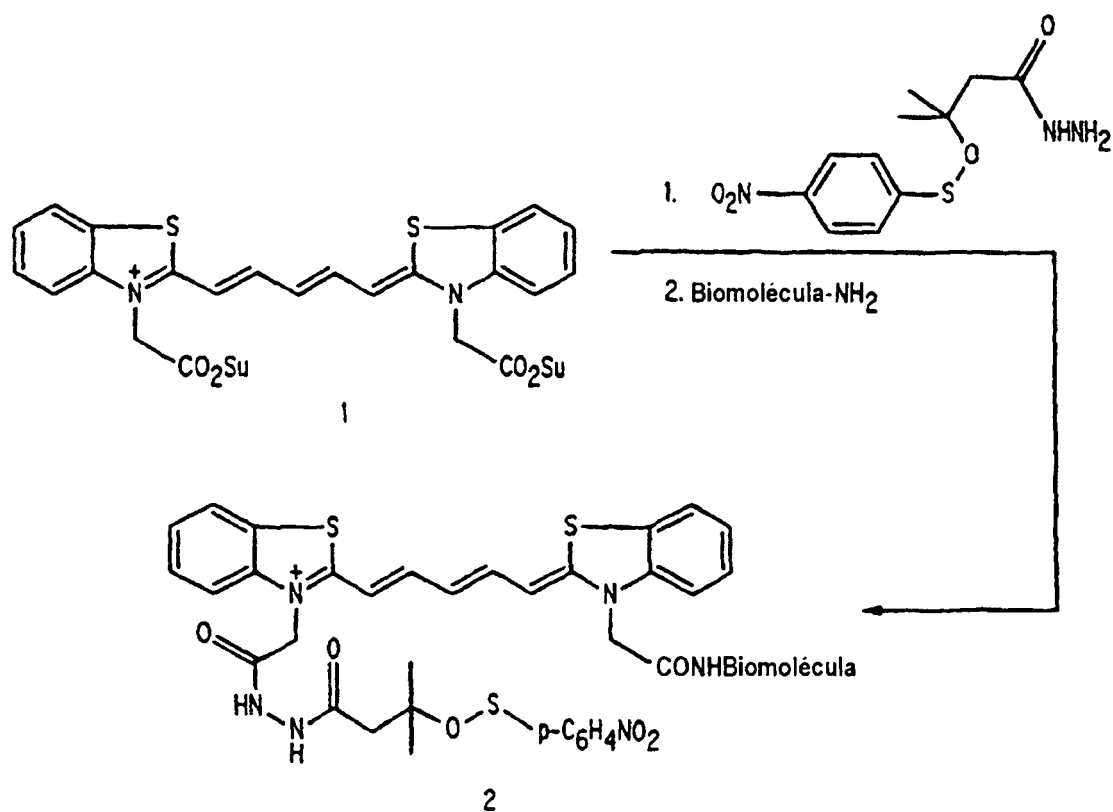


FIG. 2

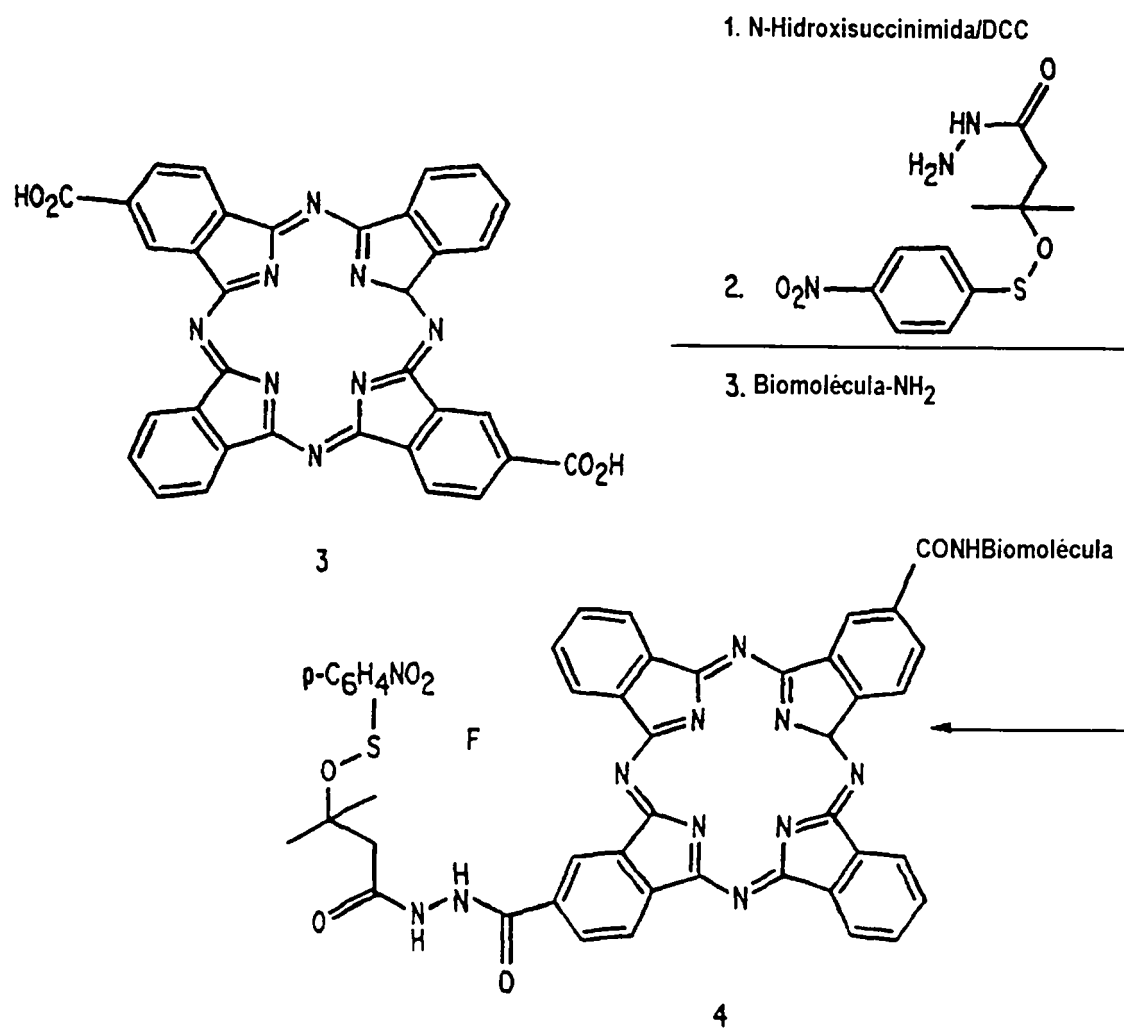


FIG. 3