

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 774 662**

51 Int. Cl.:

**C07F 15/00** (2006.01)

**A61K 9/51** (2006.01)

**A61K 31/282** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.04.2015 PCT/IL2015/050448**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.11.2015 WO15166498**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2015 E 15724777 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019 EP 3137473**

54 Título: **Derivados de Pt (IV) y nanotransportadores que los comprenden**

30 Prioridad:

**02.05.2014 US 201461987717 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**22.07.2020**

73 Titular/es:

**YISSUM RESEARCH DEVELOPMENT COMPANY  
OF THE HERBREW UNIVERSITY OF JERUSALEM  
LTD. (100.0%)  
Hi Tech Park, Edmond J. Safra Campus, Givat  
Ram  
91390 Jerusalem, IL**

72 Inventor/es:

**BENITA, SIMON;  
NASSAR, TAHER;  
GIBSON, DAN y  
ABU AMMAR, AIMAN**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 774 662 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**

Derivados de Pt (IV) y nanotransportadores que los comprenden

**Campo tecnológico**

La presente invención se refiere a derivados lipófilos de Pt (IV) para rendimiento de fármaco mejorado en terapia para el cáncer y que demuestran menor toxicidad, además de nanotransportadores que los comprenden.

**Antecedentes de la técnica**

- [1] Seigel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer Journal for Clinicians 2013, 63(1):11-30
- [2] Sundar S, Symond RP, Decatris MP, Kumar DM, Osman A, Vasanthan S, O'byrne KJ. Gynecologic Oncology 2004, 94, 502-508
- [3] Harper B, Krause-Heuer A, Grant M, Manohar M, Garbutcheon-Singh B, Aldrich-Wright J. Chemistry: A European Journal 2010, 16, 7064-7077
- [4] Raymond E, Chaney SG, Taamma A, Cvitkovic E. Ann Oncol 1998, 9(10), 1053-71
- [5] Dieras V, Bougnoux P, Petit T, Chollet P, Beuzeboc P, Borel C, et al. Ann Oncol 2002, 13, 258-66
- [6] Fracasso PM, Blessing JA, Morgan MA, Sood AK, Hoffman JS. J Clin Oncol 2003, 21, 2856-9
- [7] Elkas JC, Winter WE 3<sup>o</sup>, Chernofsky MR, Sunde J, Bidus MA, Bernstein S, Rose GS. Gynecol Oncol 2007, 104(2), 422-7
- [8] Kostova I. Recent Pat Anticancer Drug Discov 2006, 1(1), 1-22
- [9] Hoffmann A-C, Wild P, Leicht C, Bertz S, Danenberg KD, Danenberg P V, et al. Neoplasia 2010, 12(8), 628-36
- [10] Holzer AK, Manorek GH, Howell SB. Molecular Pharmacology 2006, 70(4), 1390-4
- [11] Banerjee D, Sengupta S. Prog Mol Biol Transl Sci 2011, 104, 489-507
- [12] Yuan F, Dellian M, Fukumura D, Leunig M, Berk D A, Cancer Res 1995, 55, 3752-6
- [13] Fujiyama J et al. J Control Release 2003, 89, 397-408
- [14] Seetharamu N, Kim E, Hochster H, Martin F y Muggia F. Anticancer Res 2010, 30, 541-5
- [15] Stathopoulos G P, Boulikas T, Kourvetaris A y Stathopoulos J., Anticancer Res 2006, 26, 1489-93
- [16] Yang C, Lui H Z, Lu W D y Fu Z X., Oncol Rep 2011, 25, 1621-8.
- [17] Khan et al. Coordination Chemistry 2000, 52(2), páginas 119 a 127

**Antecedentes**

El cáncer es un problema principal de salud pública que se considera la segunda causa importante de muerte en los Estados Unidos, superada solo por enfermedad cardíaca, y representa una de cuatro muertes en el mundo. El cáncer de ovario ocupa la causa más común de muerte por cáncer; principalmente entre las malignidades ginecológicas en los países desarrollados [1]. En 2014, aproximadamente 21.980 mujeres se diagnosticarán con carcinoma de ovario en los Estados Unidos y aproximadamente 14.270 morirán por esta enfermedad. La mayoría de mujeres recién diagnosticadas con cáncer de ovario tienen enfermedad metastática, que tiene una tasa de cura de solo 15 a 20%. Este fenómeno es principalmente debido a la falta de síntomas específicos hasta que la enfermedad se ha extendido más allá de los ovarios, en cuyo momento la posibilidad de cura se reduce dramáticamente [2].

Los agentes anticancerígenos basados en platino (II) aprobados cisplatino, carboplatino y oxaliplatino se usan de forma rutinaria en la práctica clínica para el tratamiento de varios tumores sólidos que incluyen cáncer de ovario. Se estima que tanto como 50-70% de pacientes de cáncer se tratan con un fármaco de platino [3]. El oxaliplatino, un fármaco de platino de tercera generación, es 1,2-diaminociclohexano (DACH) derivado de cisplatino que muestra varias propiedades únicas en comparación con el compuesto parental. Es capaz de provocar aductos inter- e intracatenarios de ADN voluminosos y distorsiones conformacionales, que evitan la unión del complejo de proteína de reparación desapareado y lleva a la apoptosis [4]. El oxaliplatino ha demostrado actividad en cáncer de ovario sensible al platino y resistente al platino como una terapia de agente único en ensayos en fases I y II [5-7]. Sin embargo, el resultado terapéutico de la quimioterapia basada en platino puede alterarse mediante resistencia intrínseca o adquirida [8] que es una de las principales limitaciones de la quimioterapia anticancerígena del platino y es la consecuencia de sucesos multifactoriales. Hasta ahora, varios mecanismos implicados se han identificado. Entre estos, la acumulación

de fármaco reducida es el fenómeno observado más frecuentemente en las líneas celulares resistentes al platino, que puede ser debido a eflujo aumentado, influjo reducido o ambos [9-10].

Para superar los inconvenientes del fármaco y mejorar la citotoxicidad en líneas celulares sensibles y resistentes, se está invirtiendo muchísimo esfuerzo en el diseño de nuevos transportes dirigidos para los complejos de platino (II). Algunos grupos de investigación han añadido etiquetas moleculares a los centros de platino (II) con el propósito de aumentar la capacidad de direccionamiento o disminuir la reactividad, mientras otros se han enfocado en moléculas que contienen centros de platino (IV).

Los complejos de platino (IV) tienen muchas ventajas sobre el platino (II), incluyendo un menor perfil de toxicidad, una inercia cinética aumentada y actividad reducida. Son ejemplos clásicos de profármacos, por lo que un complejo suficientemente estable e inerte puede transportarse alrededor del cuerpo hasta que alcanza la diana deseada, donde puede convertirse a su forma citotóxica activa, que en este caso es platino (II). La lipofilidad creciente de los fármacos de platino ha surgido como una estrategia prometedora para superar su toxicidad y resistencia celular. Los fármacos lipófilos entran en las células por difusión pasiva y pueden evitar por consiguiente transportadores activos; además, dichos fármacos pueden administrarse oralmente en vez de intravenosamente y muestran alta capacidad de transporte. Estas propiedades permiten la mejora de biodisponibilidad del fármaco, superando la resistencia al fármaco, y la reducción de la frecuencia de la administración del fármaco.

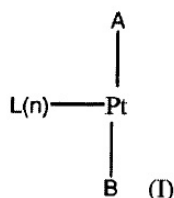
Recientemente, los agentes terapéuticos nanoparticulados han mostrado varias ventajas sobre los agentes de molécula pequeña tradicional; estas ventajas incluyen alta carga de agente, tamaño ajustable, propiedades superficiales a medida, cinéticas de liberación de fármaco controlables, y farmacocinéticas mejoradas. Los vehículos de distribución de fármaco a nanoescala se han estudiado extensamente como transportes para compuestos bioactivos y varios nanotransportadores para compuestos quimioterapéuticos para el cáncer ya están en las clínicas [11]. Las nanopartículas tienden también a tener acumulación aumentada en tumores como resultado del efecto de permeabilidad y retención mejorado (EPR) que resulta de neovasculaturas tumorales permeables [12]. Adicionalmente, las nanopartículas pueden dirigirse específicamente a células cancerígenas mediante conjugación superficial de un ligando apropiado para mejorar adicionalmente la acumulación de nanopartículas en tumores. Sin embargo, la formulación de fármacos de platino en nanopartículas ha sido un desafío, surgiendo de sus propiedades fisicoquímicas [13]. Por ejemplo, mientras se encontró que una formulación liposomal de cisplatino para distribuir mayores niveles de platino al tumor, falló al mostrar ventajas clínicas presumiblemente procedentes del diseño de transporte sub-óptimo que necesitaba altas concentraciones de lípidos [14]. De forma interesante, hay solo unos pocos informes de nanopartículas de oxaliplatino para quimioterapia del cáncer. Se han presentado recientes estudios preclínicos y en fase 1 con oxaliplatino liposomal y actualmente se realizan ensayos en fase II, y el resultado de eficacia de estos estudios pueden dar luz y revelar las ventajas de las formulaciones sobre el oxaliplatino [15-16].

Khan et al. presentaron la síntesis y caracterización de una serie de análogos cisplatinadores lipofílicos con piperidina como ligando amina no saliente [17].

### Descripción general

Los inventores de la invención descrita en la presente memoria han desarrollado nuevos derivados de platino (Pt), con el objetivo de mejorar el rendimiento del fármaco en terapia génica. Estos pueden usarse en sistemas de distribución de fármacos coloidales, proporcionando un mayor efecto terapéutico, menor toxicidad y protección del metabolismo *in vivo*.

Por consiguiente, en uno de sus aspectos, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



en donde

Pt es un átomo de platino;

A es un ácido graso C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub> asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

B es un ácido graso C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

Con tal que cada uno de A y B no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>;

L es un átomo o grupo de átomos ligando seleccionado de alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alqueno que contiene de 2 a 20 carbonos, alquino que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalqueno que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquino que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, átomo de haluro,  $-NR_1R_2$ ,  $-OR_3$ ,  $-SR_4$ ,  $-S(O)R_5$ , alqueno  $C_2-C_{20}-COOH$ ,  $-OH$ ,  $-SH$ ,  $-NH$  o cualquiera de los ligandos L1 a L5 como se designa en la presente memoria; y

n es el número de restos de ligando, siendo 1, 2, 3 o 4;

$R_1$  y  $R_2$  se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alqueno que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalqueno que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquino que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro,  $-C(O)NR_6R_7$ , sulfonilo, éster y carbonilo; o en donde  $R_1$  y  $R_2$  en forma de una estructura cíclica con el átomo N al que están unidos;

Cada uno de  $R_3$ ,  $R_4$  y  $R_5$  se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alqueno que contiene de 2 a 20 carbonos, alquino que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalqueno que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquino que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro, sulfonilo, éster y carbonilo; y

$R_6$  y  $R_7$  se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alqueno que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalqueno que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquino que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro, sulfonilo, éster, carbonilo,  $-OH$ ,  $-SH$  y  $-NH$ ,

en donde se cumple al menos una de las siguientes condiciones:

(i) al menos un ligando L está unido al átomo de platino por medio de al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre.

(ii) el átomo de platino está asociado a uno o más grupos de ácido graso  $C_{8-22}$ , con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado  $C_6-C_9$ .

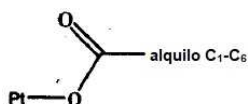
(iii) el átomo de platino está asociado a uno o más grupos ácido graso  $C_{8-22}$ , teniendo el compuesto un valor logP de entre aproximadamente 2 y 9 en mezcla octanol/agua, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado  $C_6-C_9$ .

El término "ácido graso" como se usa en la presente memoria se entiende que incluye un ácido carboxílico con una cola (cadena) alifática, un alquilo ramificado o alquilo aromático ramificado con resto cíclico o heterocíclico de entre aproximadamente 1 y 22 átomos de carbono, a menos que se indique otra cosa que está saturado o insaturado. Donde el número de átomos de carbono en el ácido graso se indica, p.ej., mediante la forma abreviada  $C_{8-22}$ , debería entenderse que el átomo carbonilo ( $C=O$ ) del ácido graso se cuenta también, a menos que se indique otra cosa.

Debería notarse que en el contexto de la presente invención, los grupos de ácido graso pueden no ser unos ácidos grasos alquilo ramificados  $C_6-C_9$ . En otras palabras, en un compuesto de fórmula (I) tanto A como B pueden no ser ácidos grasos alquilo ramificados  $C_6-C_9$ .

Los compuestos de la invención pueden comprender al menos un ácido graso largo seleccionado de ácidos grasos  $C_{8-22}$ , que es A y al menos un ácido graso corto seleccionado de ácidos grasos  $C_{2-7}$ , que es B. Por ejemplo, en algunas realizaciones, A puede ser un ácido graso largo tal como un ácido graso  $C_8$ , y B puede ser el mismo ácido graso, un ácido graso largo diferente o un ácido graso corto tal como ácido graso  $C_3$ .

Como un experto en la técnica entendería, un ácido graso que tiene entre 2 y 7 átomos de carbono (p.ej., ácido graso  $C_{2-7}$ ), cuando se une por medio de su átomo de oxígeno a un átomo de Pt central en un compuesto de la invención, es de la forma general



en donde el átomo de carbono del grupo carbonilo y los átomos C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> de los grupos alquilo, en combinación, dan un ácido graso C<sub>2-7</sub>. Por consiguiente, el ácido graso más corto es un ácido graso de dos carbonos. El ácido graso más largo en la estructura de ácido graso representada anteriormente es un ácido graso de siete carbonos.

- 5 La selección de un ácido graso específico o una combinación de ácidos grasos para sustituir los compuestos de Pt de la invención depende *inter alia* de la lipofilicidad deseada (la capacidad del compuesto para disolverse en sustancias oleosas y disolventes no polares). Por consiguiente, la selección permite adaptar la lipofilicidad y controlar así su permeabilidad a través de las membranas celulares.

- 10 En algunas realizaciones, A se selecciona de ácido octanoico (caprílico), ácido nonanoico (pelargónico), ácido decanoico (cáprico), ácido undecanoico (undecílico), ácido dodecanoico (láurico), ácido tridecanoico (tridecílico), ácido tetradecanoico (mirístico), ácido pentadecanoico (pentadecílico), ácido hexadecanoico (palmítico), ácido heptadecanoico (margárico), ácido octadecanoico (esteárico), ácido nonadecanoico (nonadecílico), ácido eicosanoico (araquídico), ácido heneicosanoico (heneicosílico) y ácido docosanoico (behénico).

- 15 B es un ácido graso C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>. En algunas realizaciones, B se selecciona de ácido propanoico (propiónico), ácido butanoico (butírico), ácido pentanoico (valérico), ácido hexanoico (caproico) y ácido heptanoico (enántico).

Los compuestos de la invención pueden definirse como "complejos de platino (Pt)", en que el átomo de platino puede estar asociado con una pluralidad de ligandos y puede asumir diferentes valores de valencia. En algunas realizaciones, el átomo de platino es platino (III), platino (IV), platino (V) o platino (VI).

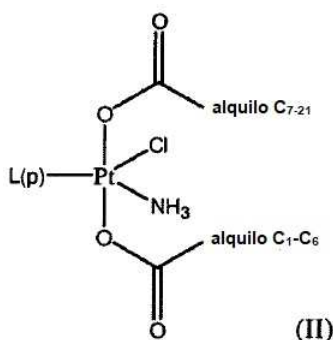
- 20 Cada átomo o grupo (grupo de átomos, p.ej., unidos de forma covalente) ligando L puede estar asociado con el átomo de Pt por medio de cualquier enlace químico o físico (unión), tal como enlace covalente, iónico, de Van der Waals o de coordinación que mantiene al átomo de Pt y al menos uno de los átomos ligandos juntos. Típicamente, el átomo de platino está asociado al (a los) ligando(s) por medio de enlace(s) de coordinación. El número, n, de ligandos, L, asociados con el átomo de Pt (en la forma "L(n)", el número entero n indica 1, 2, 3 o 4 ligandos L que están asociados con el átomo de Pt) puede estar ajustado para modificar uno o más parámetros del compuesto. En algunas realizaciones, n es 1. En algunas realizaciones, n es 2. En algunas realizaciones, n es 3. En algunas realizaciones, n es 4.

- 30 Los ligandos L pueden ser monodentados, es decir, asociados por medio de un enlace sencillo entre el átomo de Pt y un único átomo del ligando L. Los ligandos L pueden ser también ligandos polidentados, que tienen más de un átomo que pueden asociarse (o unirse, coordinarse) directamente al átomo de Pt en un complejo. En algunas realizaciones, el compuesto tiene al menos un ligando monodentado. En algunas realizaciones, el compuesto tiene al menos un ligando polidentado. En algunas realizaciones, el al menos un ligando polidentado es un ligando bidentado. En algunas realizaciones, el al menos un ligando polidentado es un ligando tridentado. En algunas realizaciones, el al menos un ligando polidentado es un ligando tetradentado.

- 35 Como los compuestos de la invención son complejos de Pt, pueden mostrar cualquier isomerización estructural, estereoisomerización o isomerización óptica. En algunas realizaciones, el compuesto es un isómero *cis*. En algunas realizaciones, el compuesto es un isómero *trans*. En algunas realizaciones, el compuesto es un isómero *mer*-. En algunas realizaciones, el compuesto es un isómero *fac*-.

En algunas realizaciones, al menos un ligando L es un haluro seleccionado de F, Cl, Br y I. En dichas realizaciones, el haluro puede ser Cl. En algunas realizaciones distintas, al menos un ligando L distinto es una amina.

- 40 En algunas realizaciones, el compuesto es de fórmula (II),



en donde L es como se define anteriormente y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

La terminología "L(p)" indica el número de puntos de unión disponibles para ligandos L adicionales al átomo de Pt. En algunas realizaciones, p es 0. En algunas realizaciones, p es 1. En algunas realizaciones, p es 2.

- 5 En otras realizaciones, al menos un ligando L es una amina como se define en la reivindicación 1, que puede seleccionarse de amoniaco, una amina primaria, una amina secundaria, una amina alifática heterocíclica no plana o una amina aromática heterocíclica.

Según algunas realizaciones, la amina primaria se selecciona de metilamina, etilamina, n-propilamina, isopropilamina, n-butilamina, n-hexilamina, n-heptilamina y n-nonilamina.

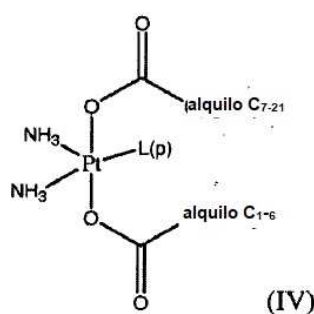
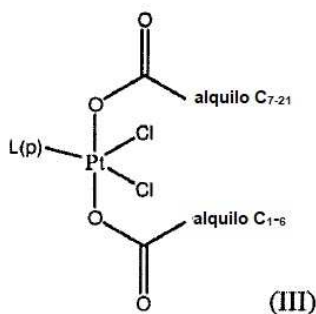
- 10 Según otras realizaciones, la amina secundaria se selecciona de dimetilamina, dietilamina, dipropilamina y dibutilamina.

Según algunas otras realizaciones, la amina alifática heterocíclica no plana se selecciona de piperazina, 2-metilpiperazina, piperadina, 2-, 3- o 4-hidroxipiperidina, 4-piperidino-piperidina, pirrolidina, 4-(2-hidroxietil)piperazina y 3-aminopirrolidina.

- 15 Según realizaciones adicionales, la amina aromática heterocíclica se selecciona de piridina, 2-, 3- o 4-aminopiridina, 2-, 3- o 4-picolina, quinolina, 3- o 4-aminoquinolina, tiazol, imidazol, 3-pirrolina, pirazina, 2-metilpirazina, 4-aminoquinolina y piridazina.

En realizaciones adicionales, n es 2, 3 o 4, y en donde al menos 2 ligandos L son idénticos. En algunas realizaciones, L es un haluro o una amina.

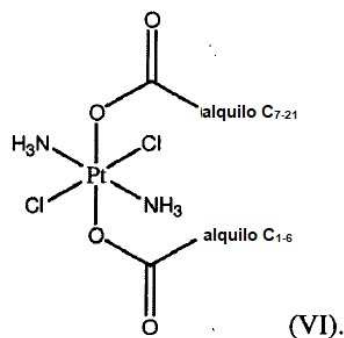
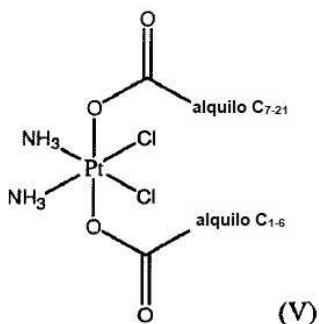
En algunas de dichas realizaciones, el compuesto puede seleccionarse de compuestos de fórmulas (III) y (IV):



En donde L es como se define anteriormente y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

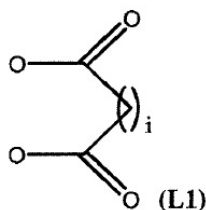
En otras realizaciones, al menos 2 ligandos L son haluros y los demás ligandos L son aminas. En realizaciones adicionales, al menos 2 ligandos L son aminas y los ligandos restantes son haluros.

Según algunas realizaciones, el compuesto puede ser de fórmula (V) o fórmula (VI):



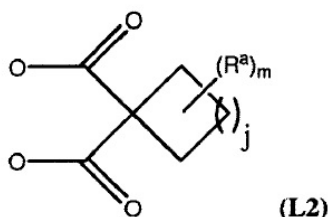
Como ya se anota anteriormente, los compuestos de la invención comprenden un resto de ácido graso A, un resto de ácido graso B, (A y B pueden ser iguales o diferentes), y pueden comprender además al menos un ligando L. En algunas realizaciones, el al menos un ligando L se selecciona de ligandos designados en la presente memoria L1 a L5.

L1 que es el ligando:



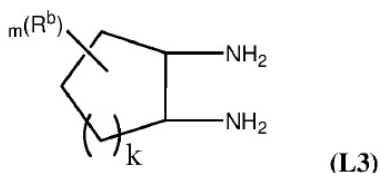
en donde i es un número entero entre 0 y 5; en donde el ligando se asocia al Pt por medio de los átomos de oxígeno.

L2 que es el ligando:



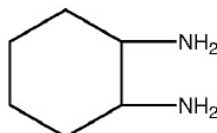
en donde j es un número entero entre 0 y 2, m es un número entero entre 0 y 6, y  $R^a$  se selecciona de hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloalqueno sustituido o no sustituido, cicloalquino sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alqueno sustituido o no sustituido, alquino sustituido o no sustituido, halógeno,  $-NR_1R_2$  sustituido o no sustituido,  $-OR_3$  sustituido o no sustituido,  $-SR_4$  sustituido o no sustituido,  $-S(O)R_5$  sustituido o no sustituido, alqueno-COOH sustituido o no sustituido, éster sustituido o no sustituido, OH, -SH, y -NH, fenilo, hidroxilo; en donde el ligando se asocia al Pt por medio de átomos de oxígeno.  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  y  $R_5$  son como se definen anteriormente.

L3 que es el ligando:



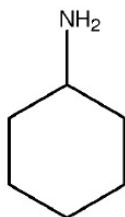
en donde k es un número entero entre 0 y 2, m es un número entero entre 0 y 6, y  $R^b$  se selecciona de hidrógeno, alquilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloalqueno sustituido o no sustituido, cicloalquino sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, alqueno sustituido o no sustituido, alquino sustituido o no sustituido, halógeno,  $-NR_1R_2$  sustituido o no sustituido,  $-OR_3$  sustituido o no sustituido,  $-SR_4$  sustituido o no sustituido,  $-S(O)R_5$  sustituido o no sustituido, alqueno-COOH sustituido o no sustituido, éster sustituido o no sustituido, OH, -SH y -NH, fenilo, hidroxilo; en donde el ligando se asocia al Pt por medio de restos amina.  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$  y  $R_5$  son como se definen anteriormente.

L4 que es el ligando:



en donde el ligando se asocia al Pt por medio de los restos amina.

L5 que es el ligando:



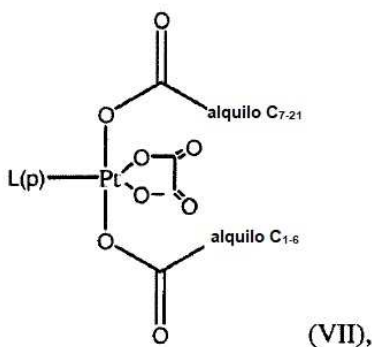
en donde el ligando se asocia al Pt por medio del resto amina.

En algunas realizaciones, en un compuesto según la fórmula (I), L es L1 o L2 o L3 o L4 o L5 o cualquier combinación de los mismos.

- 5 En algunas realizaciones, en donde n es mayor que 1, cada L se selecciona independientemente de L1 a L5.

En algunas realizaciones, en un compuesto de fórmula (I), en donde n es mayor que 1, dos ligandos son idénticos y el resto de los ligandos son independientemente L1 o L2 o L3 o L4 o L5.

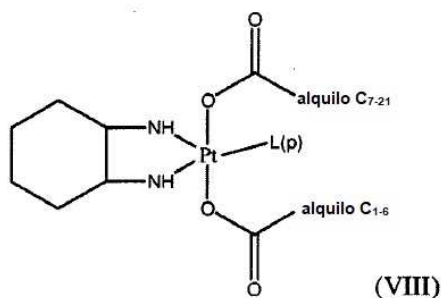
En algunas realizaciones, al menos un ligando L es L1 y el compuesto que tiene la fórmula (VII):



- 10 En donde L es como se define anteriormente y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

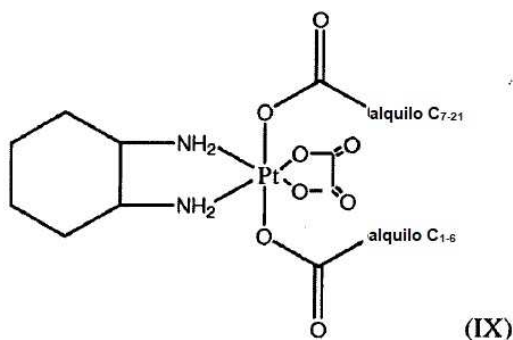
En realizaciones de un compuesto de fórmula (VII), L puede ser  $-NR_1R_2$ , en donde  $R_1$  y  $R_2$  son como se definen en la presente memoria.

En otras realizaciones, al menos un ligando L es L4 y el compuesto es de la fórmula (VIII):



- 15 en donde L es como se define anteriormente y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

En algunas realizaciones, n es 2, un ligando es L1 y el otro ligando es L4. En dichas realizaciones, el compuesto de la invención puede ser un compuesto de fórmula (IX):



En otras realizaciones, donde al menos un ligando es L1 o L2, al menos un ligando L distinto es un haluro o una amina.

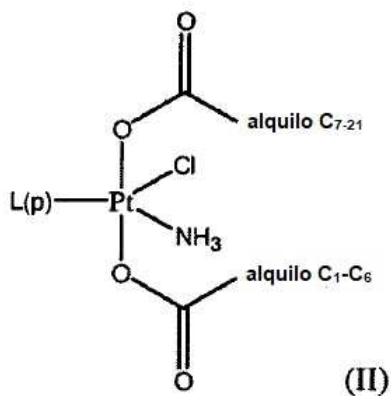
Según algunas realizaciones, n es 2, 3 o 4, al menos un ligando es L1 y al menos un ligando distinto es un haluro o una amina.

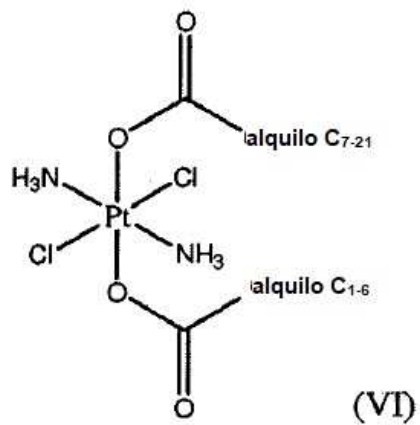
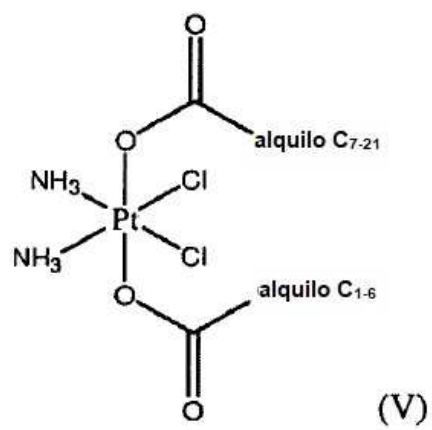
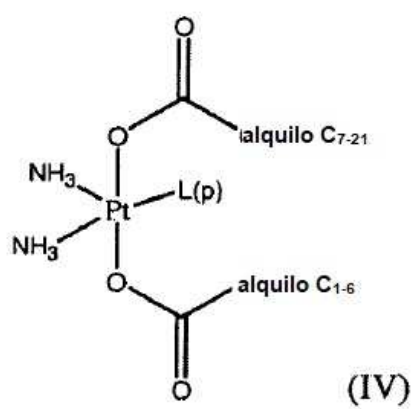
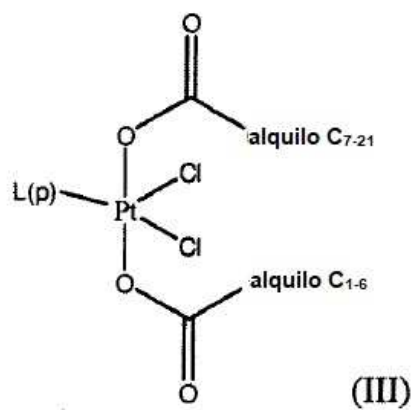
- 5 Según otras realizaciones, n es 2, 3 o 4, al menos un ligando es L4 y al menos un ligando distinto es un haluro o una amina.

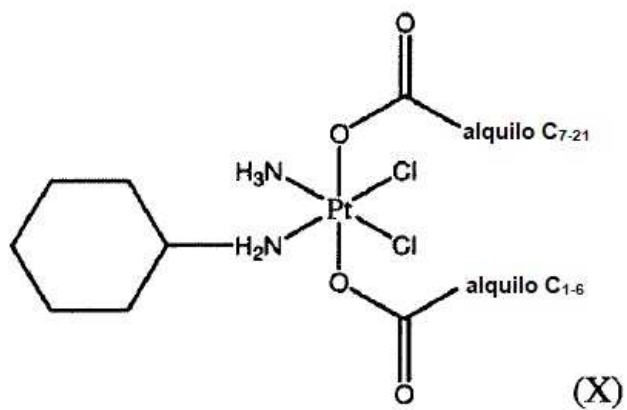
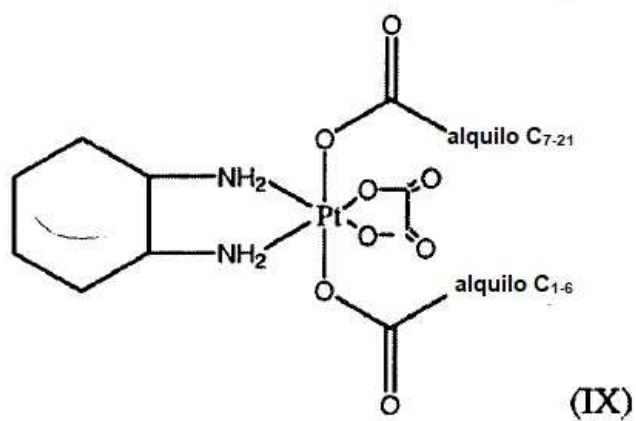
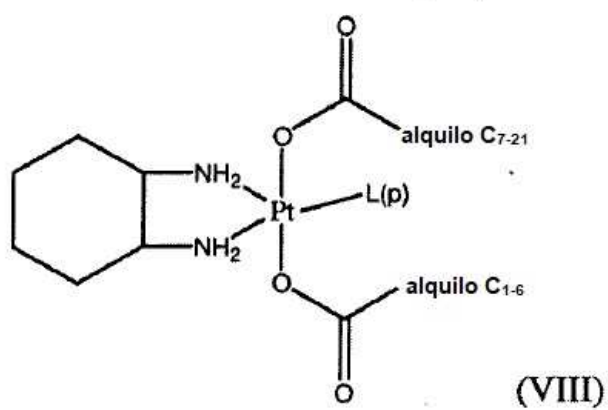
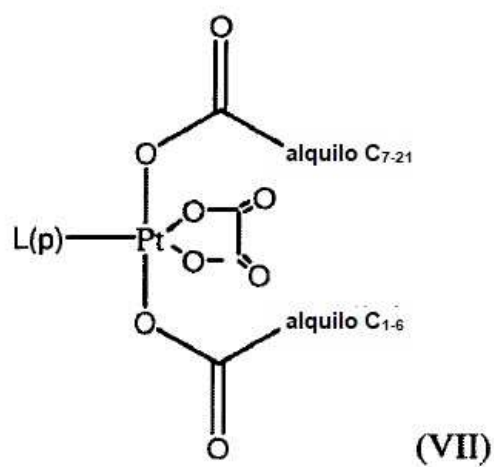
Según realizaciones adicionales, n es 3 o 4, al menos un ligando es L1 o L4 y al menos 2 de los otros ligandos son idénticos y se seleccionan de un haluro y una amina.

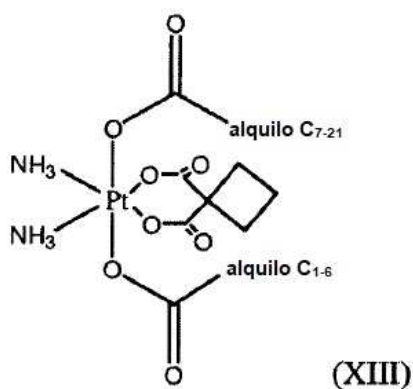
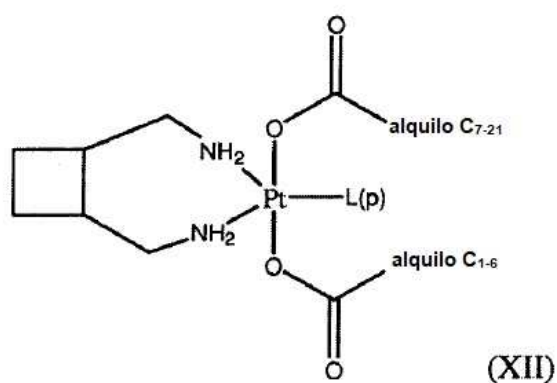
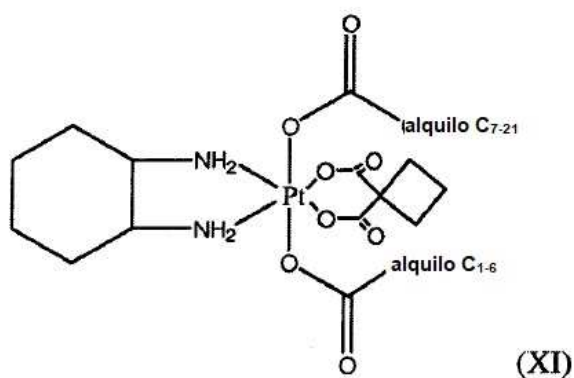
- 10 En algunas realizaciones, al menos un ligando L está unido al átomo de platino por medio de al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. En dichas realizaciones, algunos de los enlaces entre el átomo de platino y el (los) heteroátomo(s) pueden ser covalentes y algunos de los enlaces pueden ser enlaces de coordinación.

Según algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden seleccionarse de:



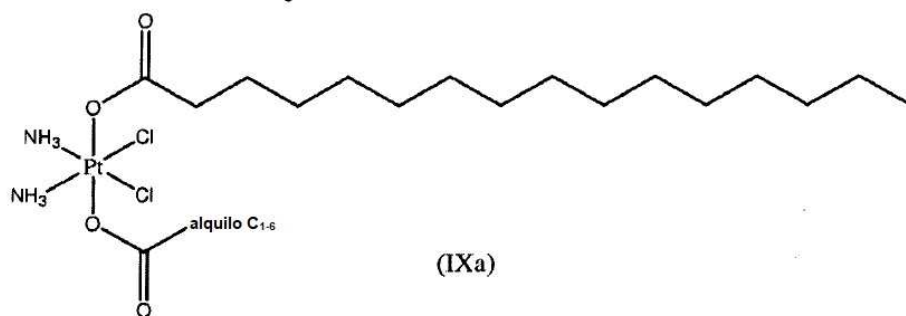
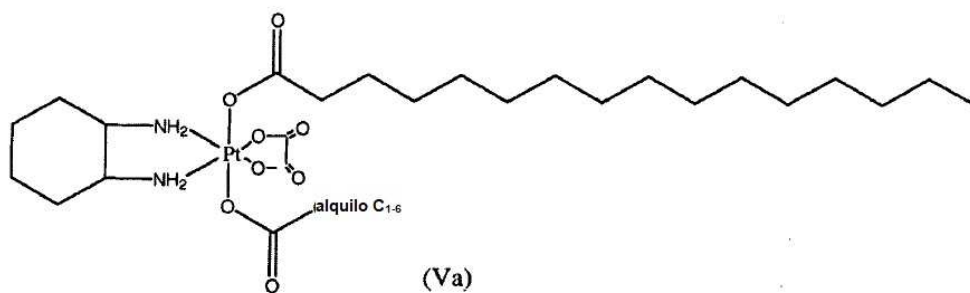




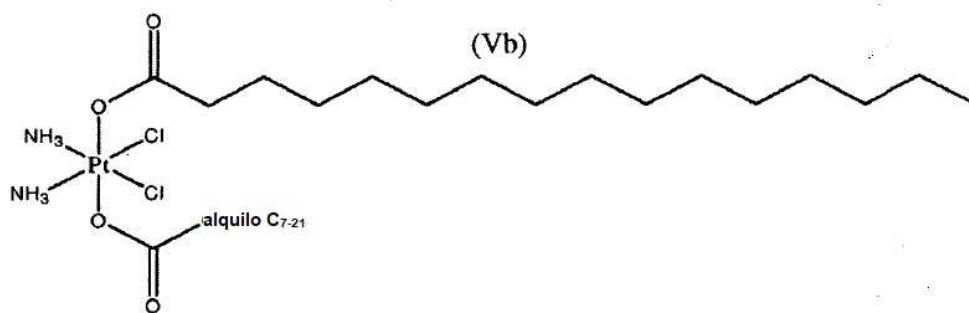
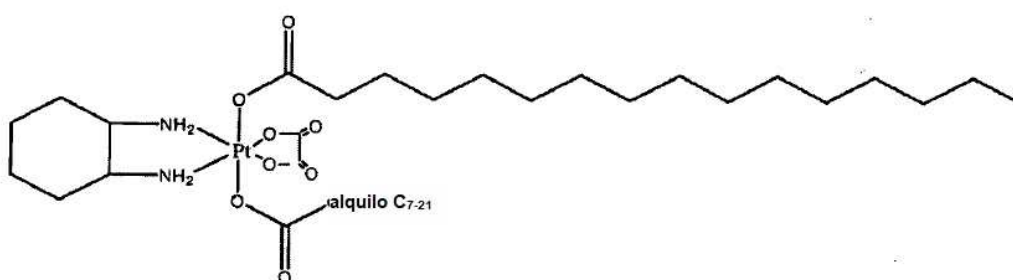


En donde, donde sea relevante, L es como se define en adelante y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

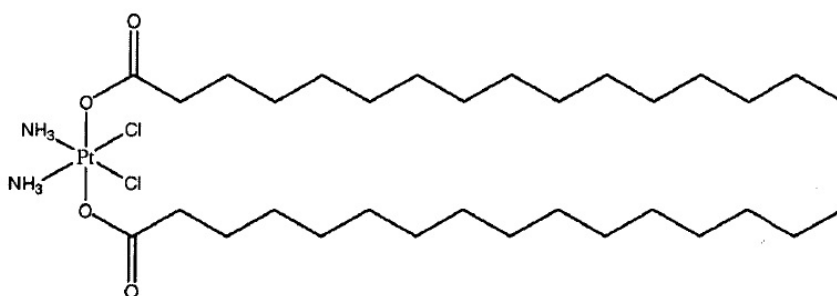
En otras realizaciones, el compuesto es de fórmula (Va) o (IXa), mostradas a continuación, en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> se selecciona de -alquilo C<sub>1</sub>, -alquilo C<sub>2</sub>, -alquilo C<sub>3</sub> y -alquilo C<sub>4</sub>. En algunas realizaciones, el compuesto es de fórmula (Va) o (IXa) en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.



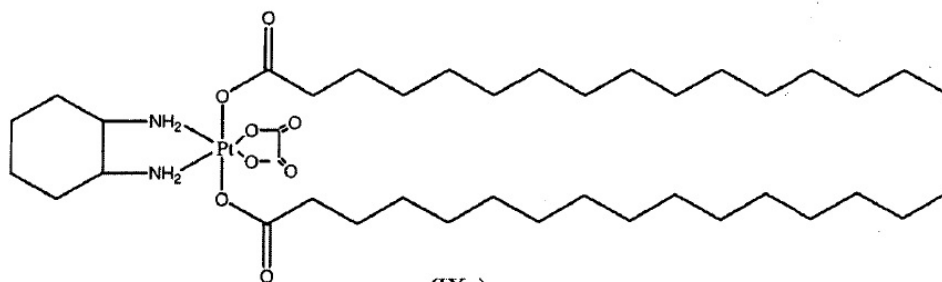
Se describen en la presente memoria compuestos de fórmula (Vb) y (IXb):



Se describen además compuestos de fórmula (Vc) y (IXc):



(Vc)



(IXc)

En algunas realizaciones, el compuesto de la invención es la Fórmula (Va) o (IXa) en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.

En algunas realizaciones, el compuesto es acetato de palmitato de oxaliplatino, denominado en la presente memoria como OXA-PAL-ACT (OPA), designándose el compuesto como Compuesto B en la Fig. 1A.

- 5 Por consiguiente, la invención proporciona el compuesto de Fórmula (I) OXA-PAL-ACT (OPA), composiciones que comprenden el mismo, usos del mismo y formas encapsuladas o particuladas del mismo.

Se describe en la presente memoria un compuesto de Fórmula (I) que comprende un átomo de platino asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>5-22</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea ácido graso alquilo ramificado C<sub>6-C<sub>9</sub></sub>.

- 10 Se describe además un agente anticancerígeno de Pt asociado con uno o más grupos de ácido graso C<sub>8-22</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6-C<sub>9</sub></sub>.

Se describe además un compuesto que comprende un átomo de platino asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>8-22</sub>, teniendo el compuesto un valor logP de entre aproximadamente 2 y 9 en mezcla de octanol/agua, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6-C<sub>9</sub></sub>.

- 15 En otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), como se define en la reivindicación 1, que tiene un valor logP de al menos 2 en el sistema disolvente dual de octanol/agua.

En algunas realizaciones, el compuesto de la invención tiene un valor logP de al menos 7 en el sistema disolvente de octanol/agua. En otras realizaciones, el compuesto de la invención tiene un valor logP de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 9 en octanol/agua.

- 20 En otras realizaciones, el compuesto de la invención tiene un valor logP de entre aproximadamente 2 y 4 en octanol/agua.

Es digno de mención que el valor logP es una medida de la permeabilidad del compuesto a través de membranas celulares después de su inyección en la corriente sanguínea, o en forma de fármaco libre o incorporado en transportes.

Las siguientes definiciones se aplican, dentro de las limitaciones de la reivindicación 1, a menos que se indique otra cosa.

- 25 Como se usa en la presente memoria, las cadenas de carbono "alquilo", "alqueno" y "alquino", si no se especifica, contienen de 1 a 20 carbonos, o 2 a 16 carbonos, y son lineales o ramificadas. En algunas realizaciones, la cadena de carbono contiene 1 a 10 átomos de carbono. En otras realizaciones, la cadena de carbono contiene 1 a 6 átomos de carbono. En algunas realizaciones distintas, la cadena de carbono contiene 2 a 6 átomos de carbono. Las cadenas de carbono alqueno de 2 a 20 carbonos, que en ciertas realizaciones contienen 1 a 8 dobles enlaces; las cadenas de carbono alquino de 2 a 16 carbonos, en ciertas realizaciones, contienen 1 a 5 dobles enlaces. Las cadenas de
- 30

carbono alquinilo de 2 a 20 carbonos, en ciertas realizaciones, contienen 1 a 8 triples enlaces, y en aún ciertas realizaciones distintas, pueden contener 1 a 5 triples enlaces.

Grupos alquilo, alquenilo y alquinilo ilustrativos en la presente memoria incluyen, aunque no están limitados a metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, isohexilo, alilo (propenilo) y propargilo (propinilo).

- 5 Como se usa en la presente memoria, "cicloalquilo" se refiere a un sistema anular mono- o multi-cíclico saturado, en ciertas realizaciones de 3 a 10 átomos de carbono, en otras realizaciones de 3 a 6 átomos de carbono; cicloalquenilo y cicloalquinilo se refieren a sistemas anulares mono-o multicíclicos que incluyen respectivamente al menos un doble enlace y al menos un triple enlace. Los grupos cicloalquenilo y cicloalquinilo pueden, en ciertas realizaciones, contener 3 a 10 átomos de carbono. En otras realizaciones, los grupos cicloalquenilo contienen 4 a 7 átomos de carbono y los grupos cicloalquinilo, en realizaciones aún adicionales, que contienen 8 a 10 átomos de carbono. Los sistemas anulares de los grupos cicloalquilo, cicloalquenilo y cicloalquinilo pueden estar compuestos de un anillo o dos o más anillos que pueden unirse en un modo condensado, en puente o espiro-conectado.

- 15 Como se usa en la presente memoria, "arilo" se refiere a grupos monocíclicos o multicíclicos aromáticos que contienen de 6 a 10 átomos de carbono. Los grupos arilo incluyen, aunque no están limitados a, grupos tales como fluorenilo no sustituido o sustituido, fenilo no sustituido o sustituido y naftilo no sustituido o sustituido.

- 20 Como se usa en la presente memoria, "heteroarilo" se refiere a un sistema anular aromático monocíclico o multicíclico, en ciertas realizaciones, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 miembros donde uno o más, en una realización 1 a 3, de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo, es decir, un elemento distinto del carbono, que incluye aunque no está limitado a nitrógeno, oxígeno o azufre. El grupo heteroarilo puede estar opcionalmente condensado a un anillo de benceno. Los grupos heteroarilo incluyen, aunque no están limitados a, furilo, imidazolilo, pirimidinilo, tetrazolilo, tienilo, piridilo, pirrolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, quinolinilo e isoquinolinilo.

- 25 Como se usa en la presente memoria, "heterocíclico" se refiere a un sistema anular mono- o multi-cíclico saturado, en una realización de 3 a 10 miembros, en otra realización de 4 a 7 miembros, en una realización adicional de 5 a 6 miembros, donde uno o más, en ciertas realizaciones, 1 a 3, de los átomos en el sistema anular es un heteroátomo, es decir, un elemento distinto del carbono, que incluye aunque no está limitado a, nitrógeno, oxígeno o azufre. En realizaciones donde el (los) heteroátomo(s) es (son) nitrógeno, el nitrógeno está opcionalmente sustituido con alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, cicloalquilo, heterocíclico, cicloalquilalquilo, heterocíclicilalquilo, acilo, guanidina, o el nitrógeno puede estar cuaternizado para formar un grupo amonio donde los sustituyentes se seleccionan como anteriormente.

- 30 El término "sustituido" se refiere a la sustitución de al menos un átomo de un ligando como se define anteriormente. En algunas realizaciones el sustituyente se selecciona de alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquinilo, arilo, heteroarilo, heterocíclico, halógeno, -NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, -OR<sub>3</sub>, -SR<sub>4</sub>, -S(O)R<sub>5</sub>, alquilenil-COOH, éster, -OH, -SH, y -NH. En algunas realizaciones, el número de sustituyentes (en cierto ligando) es 1 o 2 o 3 o 4 o 5 o 6 o 7 u 8 o 9 o 10 sustituyentes.

- 35 Según algunas realizaciones, los compuestos de la invención están en una forma salina, típicamente en una forma salina farmacéuticamente aceptable. El término "forma salina" indica forma de base libre o ácido libre, que comprende un compuesto de la invención (es decir, complejo cargado), y al menos un contraion. "Sal(es) farmacéuticamente aceptable(s)", se refieren a las sales que son seguras y efectivas para el uso farmacéutico en mamíferos (p.ej., humanos) y que poseen la actividad biológica deseada.

- 40 En algunas realizaciones, la sal se selecciona de sal hidrocloreuro, sal hidrobromuro, sal hidroyoduro, sal nitrato, sal sulfato, sal bisulfato, sal fosfato, sal fosfato ácido, sal isonicotinato, sal acetato, sal lactato, sal salicilato, sal citrato, sal tartrato, sal pantotenato, sal bitartrato, sal ascorbato, sal succinato, sal maleato, sal gentisinato, sal fumarato, sal gluconato, sal glucaronato, sal sacarato, sal formiato, sal benzoato, sal glutamato, sal metanosulfonato, sal etanosulfonato, sal bencenosulfonato, sal p-toluensulfonato y sal pamoato. Otros aniones adecuados en los compuestos de la invención, se describen, por ejemplo, en Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. of Pharmaceutical Science, 66:1-19 (1977)).

- 45 Los compuestos de la invención pueden estar en forma de nanotransportador que comprende al menos un compuesto como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, el nanotransportador puede seleccionarse de una nanopartícula, una nanocápsula o mezclas de los mismos.

- 50 Como se usa en la presente memoria, el "nanotransportador" de la invención es una materia particulada, que es biocompatible y suficientemente resistente a la destrucción química y/o física, de manera que una cantidad suficiente de los nanotransportadores permanecen sustancialmente intactos después de la administración en el cuerpo humano o animal y durante tiempo suficiente para ser capaces de alcanzar el tejido diana deseado (órgano). Generalmente, los nanotransportadores son esféricos de forma, teniendo un diámetro promedio de hasta 700 nm. Donde la forma del nanotransportador no es de forma esférica, el diámetro se refiere a la dimensión más larga del nanotransportador.

Dependiendo de diversos parámetros asociados con el compuesto de la invención (p.ej., solubilidad, peso molecular, polaridad, carga eléctrica, reactividad, estabilidad química, actividad biológica y otros), el compuesto puede estar contenido (encapsulado) en nanocápsulas (NCs), y/o incrustado en una nanopartícula (NPs) de formación de matriz. Para la aplicación elegida, el nanotransportador puede estar por lo tanto en la forma de núcleo/carcasa (denominado en adelante también como nanocápsula), que tiene una carcasa polimérica y un núcleo que contiene al menos un compuesto de la invención.

De forma alternativa, las nanopartículas pueden ser de una composición sustancialmente uniforme sin presentar una estructura núcleo/carcasa distinta. Estos nanotransportadores se denominan en la presente memoria como nanopartículas (NPs).

En algunas realizaciones, el diámetro promedio del nanotransportador está entre aproximadamente 100 y 200 nm. En otras realizaciones, el diámetro promedio está entre aproximadamente 200 y 300 nm. En realizaciones adicionales, el diámetro promedio está entre aproximadamente 300 y 400 nm, los diámetros promedio entre 400 y 500 nm. En realizaciones adicionales, el diámetro promedio está entre aproximadamente 600 y 700 nm.

En algunas realizaciones distintas, el diámetro promedio del nanotransportador está entre aproximadamente 50 y 700 nm. En otras realizaciones, el diámetro promedio está entre aproximadamente 50 y 500 nm. En otras realizaciones, el diámetro promedio está entre aproximadamente 50 y 400 nm. En realizaciones adicionales, el diámetro promedio está entre aproximadamente 50 y 300 nm. En realizaciones adicionales, el diámetro promedio está entre aproximadamente 50 y 200 nm. En realizaciones adicionales, el diámetro promedio está entre aproximadamente 50 y 100 nm.

Los nanotransportadores pueden ser cada uno esencialmente de la misma forma y/o tamaño. En algunas realizaciones, los nanotransportadores tienen una distribución de diámetros de manera que no más del 0,01 por ciento a 10 por ciento de las partículas tienen un diámetro mayor que 10 por ciento por encima o por debajo del diámetro promedio anotado anteriormente, y en algunas realizaciones, de manera que no más de 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 por ciento de los nanotransportadores tienen un diámetro mayor que 10 por ciento por encima o por debajo de los diámetros promedio anotados anteriormente.

Los materiales adecuados ilustrativos para formar los nanotransportadores, nanocápsulas y/o nanopartículas, son poliésteres que incluyen ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), polihidroxibutirato y policaprolactona), poli(ortoésteres), polianhídridos, ácido poliamino, poli(cianoacrilatos de alquilo), polifosfacenos, copolímeros de (PLA/PGA) y asparato u óxido de polietileno (PEO).

En algunas realizaciones, el nanotransportador es una nanopartícula, comprendiendo dicha nanopartícula una primera matriz, en donde dicho al menos un compuesto de la invención está incrustada en dicha matriz.

En otras realizaciones, el nanotransportador es una nanocápsula, comprendiendo dicha nanocápsula una primera carcasa que encapsula dicho al menos un compuesto de la invención o una composición que comprende al menos un compuesto de la invención.

Cada uno de los nanotransportadores puede estar envuelto además por otra capa de encapsulación, formando así una protección de doble capa. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el nanotransportador se encapsula además en una segunda capa protectora, que puede comprender el mismo o diferente material que el de la primera capa protectora. En otras realizaciones, el nanotransportador se incrusta además en una segunda matriz, las matrices primera y segunda pueden estar comprendidas por los mismos o diferentes materiales.

Para aumentar la cantidad de compuesto activo que alcanza el órgano diana, se desea a veces proporcionar un producto que comprende una pluralidad de nanotransportadores empaquetados en una única carcasa. Por lo tanto, en otro aspecto, se proporciona una nano- o una microcápsula que comprende una pluralidad de nanotransportadores de la invención.

Otro aspecto proporciona una nano- o micropartícula que comprende una pluralidad de nanotransportadores de la invención. Dichas nano- o micropartículas pueden crear formas de dosificación de acción prolongada cuando se administran parenteralmente, o pueden usarse como polvos para distribución oral, por inhalación o pulmonar de compuestos de la invención.

En algunas realizaciones, la nano- o micropartícula, que comprende una pluralidad de nanotransportadores de la invención, pueden estar formadas de un polímero hidrófobo.

En dichas realizaciones, la pluralidad de nanotransportadores puede (i) encapsularse mediante una proteína reticulada hidrófoba p.ej. (HSA) albúmina sérica humana (formando específicamente doble nanoencapsulación) o (ii) incrustarse en una matriz, tal como una matriz formada de una mezcla polimérica hidrófoba. Dicha mezcla polimérica hidrófoba puede ser una mezcla Eudragit:HPMC, en que el Eudragit tiene solubilidad dependiente del pH, mientras que HPMC es soluble en agua independientemente del pH.

En otro de estos aspectos, la invención proporciona una composición que comprende un compuesto, un nanotransportador, una nano- o microcápsula, o una nano- o micropartícula como se describe en la presente memoria. Típicamente, la composición es una composición farmacéutica.

Como se usa en la presente memoria, "composición farmacéutica" comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, junto con diluyentes, conservantes, solubilizantes, emulgentes, adyuvantes y/o transportes adecuados. Dichas composiciones son formulaciones líquidas o liofilizadas o secas de otra forma e incluyen diluyentes de diverso contenido de tampón (p.ej., Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica, aditivos tal como albúmina o gelatina para evitar la absorción a superficies, detergentes (p.ej., Tween 20, Tween 80, Pluronic F68, sales de ácido biliar), agentes solubilizantes (p.ej., glicerol, polietilenglicerol), anti-oxidantes (p.ej., ácido ascórbico, metabisulfito sódico), conservantes (p.ej., Timerosal, alcohol bencílico, parabenos), sustancias volumétricas o modificadores de la tonicidad (p.ej., lactosa, manitol), unión covalente de polímeros tal como polietilenglicol a la proteína, complejación con iones metálicos, o incorporación del material en o sobre preparaciones particuladas de compuestos poliméricos tal como ácido poliláctico, ácido poliglicólico, hidrogeles, etc., o sobre liposomas, microemulsiones, micelas, vesículas unilaminares o multilaminares, fantasmas de eritrocito o esferoplastos o nanoemulsiones cargadas o negativamente o positivamente. Dichas composiciones influirán al estado físico, solubilidad, estabilidad, velocidad de liberación in vivo, y velocidad de aclaramiento in vivo. Las composiciones de liberación controlada o sostenida incluyen la formulación en depósitos lipófilos (p.ej., ácidos grasos, ceras, aceites).

Las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden consistir en (a) disoluciones líquidas, tales como una cantidad efectiva del compuesto disuelto en diluyentes, tales como agua, solución salina, o zumo de naranja; (b) cápsulas, bolsitas, comprimidos, pastillas para chupar y pastillas, cada una conteniendo una cantidad predeterminada del ingrediente activo, como sólidos o gránulos; (c) polvos; (d) suspensiones en un líquido apropiado; y (e) emulsiones adecuadas o formulaciones auto-emulgentes. Las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes, tales como agua y alcoholes, por ejemplo, etanol, alcohol bencílico, y los alcoholes de polietileno, con o sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, agente de suspensión o agente emulgente. Las formas de cápsula pueden ser del tipo gelatina con cobertura dura o blanda normales que contienen, por ejemplo, tensioactivos, lubricantes y cargas inertes. Las formas de comprimido pueden incluir una o más de lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico, celulosa microcristalina, goma arábica, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa sódica talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de zinc, ácido esteárico, y otros excipientes, colorantes, diluyentes, agentes tamponantes, agentes desintegrantes, agentes humectantes, conservantes, agentes saborizantes, y transportes farmacológicamente compatibles. Las formas de pastillas para chupar pueden comprender el ingrediente activo en un sabor, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto, además de pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica, emulsiones, geles y similares que contienen, además del ingrediente activo, dichos transportes como se conocen en la técnica.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen nanoemulsiones estériles, disoluciones para inyección estériles isotónicas, acuosas y no acuosas, que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostatos, y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que incluyen agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. El compuesto puede administrarse en un diluyente fisiológicamente aceptable en un transporte farmacéutico, tal como un líquido estéril o mezcla de líquidos, que incluyen agua, solución salina, dextrosa acuosa y disoluciones de azúcar relacionadas, un alcohol, tal como etanol, isopropanol o alcohol de hexadecilo, glicoles, tales como propilenglicol o polietilenglicol, cetales de glicerol, tal como 2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-metanol, éteres, tal como poli(etilenglicol) 400, un aceite, un ácido graso, un éster o glicérido de ácido graso, o un glicérido de ácido graso acetilado con o sin la adición de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, tal como un jabón o un detergente, agente de suspensión, tal como pectina, carbómeros, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa, o agentes emulgentes y otros adyuvantes farmacéuticos.

Los aceites, que pueden usarse en formulaciones parenterales incluyen aceites de petróleo, animales, vegetales o sintéticos. Ejemplos específicos de aceites incluyen de cacahuete, soja, sésamo, semillas de algodón, maíz, oliva, petrolato y minerales. Ácidos grasos adecuados para usar en formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en formulaciones inyectables. Los requisitos para transportes farmacéuticos efectivos para composiciones inyectables se conocen bien por los expertos en la técnica. Véase *Pharmaceutics and Pharmacy Practice*, J.B. Lippincott Co., Filadelfia, Pa., Banker and Chalmers, eds., páginas 238-250 (1982), y *ASHP Handbook on Injectable Drugs*, Toissel, 4ª ed., páginas 622-630 (1986).

Adicionalmente, los compuestos de la presente invención pueden prepararse en supositorios mezclando con una variedad de bases, tal como bases emulgentes o bases solubles en agua. Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o fórmulas en pulverizador que contienen, además del ingrediente activo, dichos transportes como se conocen en la técnica que son apropiados.

La composición puede ser adecuada para la administración oral.

De forma alternativa, la composición es adecuada para la administración intravenosa.

Además, la composición puede estar en una forma de nanoemulsión. Las emulsiones pueden incluir aunque no estar limitadas a las formas Ac/Ag, Ag/Ac, Ag/Ac/Ag, Ac/Ag/Ac, Ag/Ac<sub>1</sub>/Ac<sub>2</sub>, Ag/Ac<sub>2</sub>/Ac<sub>1</sub>, Ac<sub>1</sub>/Ag/Ac<sub>2</sub>, Ac<sub>1</sub>/Ac<sub>2</sub>/Ag, Ac<sub>2</sub>/Ac<sub>1</sub>/Ag, Ac<sub>2</sub>/Ag/Ac<sub>1</sub> y combinaciones de estas formas con fases continuas o bicontinuas.

- 5 Otro aspecto de la invención proporciona un compuesto, un nanotransportador, una nano- o microcápsula, o una nano- o micropartícula como se describe en la presente memoria, para usar en el tratamiento o el retraso de la progresión de un trastorno proliferativo.

10 También se describe el uso de un compuesto, un nanotransportador, una nano- o microcápsula, o una nano- o micropartícula como se describe en la presente memoria, para la preparación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo.

Se describe adicionalmente un método para tratar o retrasar o evitar la progresión de un trastorno proliferativo, comprendiendo el método administrar una cantidad efectiva de un compuesto, un nanotransportador, una nano- o microcápsula, o una nano- o micropartícula como se describe en la presente memoria, a un sujeto que lo necesita.

- 15 El término "trastornos proliferativos" incluye enfermedades o trastornos que efectúan unos procesos de crecimiento, diferenciación o proliferación celular. En algunas realizaciones, el trastorno de proliferación es cáncer. El término "cáncer" como se usa en la presente memoria incluye cualquier enfermedad neoplásica que se caracteriza por una división celular anormal e incontrolada que provoca crecimiento maligno o tumor. El cáncer como se usa en la presente memoria puede referirse o a un tumor sólido o metástasis tumoral.

20 Ejemplos no limitantes de cáncer son cáncer de ovario, y cáncer pancreático, cáncer de células escamosas (p.ej. cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago que incluye cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o uterino, carcinoma de las glándulas salivales, cáncer de riñón o renal, cáncer de próstata, cáncer de la vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, carcinoma anal, carcinoma de pene, además de cáncer de cabeza y cuello. Los cánceres sólidos aparecen en muchas formas, por ejemplo, cáncer de mama, cáncer de próstata, sarcomas y cáncer de piel. Una forma de cáncer de piel es el melanoma.

El cáncer puede seleccionarse de cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer pancreático y cáncer de ovario.

- 30 El término "tratamiento" como se usa en la presente memoria se refiere a la administración de una cantidad terapéutica de la composición que es efectiva para mejorar síntomas indeseados asociados con una enfermedad, prevenir la manifestación de dichos síntomas antes de que ocurran, ralentizar la progresión de la enfermedad (también denominado en la presente memoria como "retraso de la progresión"), ralentizar el deterioro de síntomas, mejorar el comienzo del periodo de remisión, ralentizar el daño irreversible provocado en la etapa crónica progresiva de la enfermedad, retrasar el comienzo de dicha etapa progresiva, disminuir la gravedad o curar la enfermedad, mejorar la tasa de supervivencia o la recuperación más rápida, o para prevenir que la enfermedad se dé o una combinación de dos o más de los anteriores.

35 El término "cantidad efectiva" como se usa en la presente memoria se determina por dichas consideraciones como puede saberse en la técnica. La cantidad debe ser efectiva para alcanzar el efecto terapéutico deseado como se describe anteriormente, dependiendo, entre otros, del tipo y gravedad de la enfermedad a tratar y el régimen de tratamiento. La cantidad efectiva se determina típicamente en ensayos clínicos diseñados de forma apropiada (estudios de intervalo de dosis) y la persona versada en la técnica sabrá cómo realizar de forma apropiada dichos ensayos para determinar la cantidad efectiva. Como se conoce generalmente, una cantidad efectiva depende de una variedad de factores que incluyen la afinidad del ligando al receptor, su perfil de distribución en el cuerpo, una variedad de parámetros farmacológicos tales como vida media en el cuerpo, en efectos secundarios indeseados, si los hay, en factores tales como edad y género, etc.

La cantidad efectiva del compuesto puede administrarse mediante una o más de las siguientes rutas: oral, rectal, transmucosa, transnasal, intestinal, parenteral, intramuscular, subcutánea, inyecciones intramedulares, intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal o inyecciones intraoculares.

- 50 Se describe en la presente memoria un kit que comprende una composición como se describe en la presente memoria e instrucciones para el uso.

Se describen en la presente memoria también profármacos de los compuestos reivindicados.

55 Como se usa en la presente memoria el término "profármaco" se refiere a un agente que se convierte en el fármaco parental (agente activo) *in vivo* mediante algún proceso químico fisiológico (p.ej., un profármaco convertido a la forma de fármaco deseada bajo condiciones fisiológicas). Los profármacos son útiles ya que pueden ser más fáciles de

administrar que el fármaco parental, son menos tóxicos y presentan biodisponibilidad mejorada. Después de la administración, el profármaco se escinde enzimáticamente o químicamente para distribuir el fármaco activo en la sangre o tejido.

- 5 En algunos casos, el profármaco libera el agente activo (activado) en un pH fisiológico (7,4). En algunos casos, el profármaco se activa a un pH inferior que el pH fisiológico. En algunos casos, el profármaco se activa a un pH de aproximadamente 6.

### Breve descripción de los dibujos

- 10 Para entender mejor el tema que se describe en la presente memoria y ejemplificar como puede llevarse a la práctica, se describirán ahora las realizaciones, por medio solo de ejemplo no limitante, con referencia a los dibujos de acompañamiento, en que:

Fig. 1A es una descripción de la síntesis de OXA-PAL-ACT; Fig. 1B muestra una representación esquemática de un constructo de NP de OXA-PAL-ACT. Estructura química de la reducción intracelular de profármaco de Pt (IV) para la liberación de oxaliplatino activo en células cancerígenas humanas.

- 15 Fig. 2A muestra el espectro  $^1\text{H}$ -RMN de OXA-PAL-ACT; Fig. 2B muestra el espectro  $^{195}\text{Pt}$ -RMN de OXA-PAL-ACT: 1589 ppm.

Figs. 3A-C muestra imágenes de NPs de OXA-PAL-ACT.

Figs. 4A-B muestra imágenes SEM de NPs de OXA-PAL-ACT: modo SE (Fig. 4A) y BSE (Fig. 4B).

Fig. 5 muestra la medida representativa del tamaño de NPs de OXA-PAL-ACT.

- 20 Fig. 6A muestra la evaluación *in vitro* de la citotoxicidad de NPs de OXA-PAL-ACT en la línea celular SKOV-3; Fig. 6B muestra la evaluación *in vitro* de la citotoxicidad de NPs de OXA-PAL-ACT en la línea celular SKOV-3-luc.

Figs. 7A-B muestra el efecto de la citotoxicidad de los derivados de oxaliplatino en la línea celular PC-3: (A) intervalo de concentración entero; (B) 0-5  $\mu\text{g/ml}$ .

- 25 Figs. 8A-D muestran (Fig. 8A) la actividad citotóxica de derivados de oxaliplatino en la monocapa de la línea celular PC-3-luc que representa el cáncer de próstata; (Fig. 8B) actividad citotóxica de los derivados de oxaliplatino en la línea celular BxPC-3; (Fig. 8C) actividad citotóxica de derivados de oxaliplatino en la monocapa de la línea celular ovar-8 que representa el cáncer de ovario; y (Fig. 8D) actividad citotóxica de los derivados de oxaliplatino en la monocapa de la línea celular SKOV-3 que representa el cáncer de ovario.

Fig. 9 muestra las placas MTT para oxaliplatino y OXA-PAL-ACT (línea celular SKOV-3).

- 30 Figs. 10A-B muestran el efecto citotóxico de oxaliplatino y OXA-PAL-ACT en las líneas celulares A2780-cisR (Fig. 10A) y A2780 (Fig. 10B) que representan cáncer de ovario.

Fig. 11 muestra el efecto citotóxico de OXA-PAL-ACT en líneas celulares no cancerígenas. La relación terapéutica en HaCaT y RASM fue mayor que 1,8 y 2, respectivamente. Monocapa de línea celular HaCaT que representa queratinocitos humanos, monocapa de la línea RASM que representa células del músculo liso aórtico de rata.

- 35 Figs. 12A-C muestran la apoptosis de células SKOV-3. La muerte celular apoptótica en las células SKOV-3 se evaluó mediante análisis de citometría de flujo usando tinción doble con Annexin V y yoduro de propidio (PI). Las células se trataron con 5  $\mu\text{g/ml}$  (Fig. 12B) y 50  $\mu\text{g/ml}$  (Fig. 12C) de OXA-PAL-ACT durante 24 h. El control se muestra en la Fig. 12A. Las células apoptóticas son [células annexin V(+) PI(+) y annexin V(+) PI(-)].

- 40 Figs. 13A-B muestran la acumulación de Pt en toda la célula (absorción celular) después de la incubación con concentraciones variables de fármaco después de 24 h de exposición en células SKOV-3-luc como se mide por ICP-MS. Los valores son media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ): (Fig. 13A) acumulación de Pt *in vitro*/células después de 24 h de tratamiento con SKOV-3-luc; (Fig. 13B) acumulación de Pt *in vitro*/proteína después de 24 h de tratamiento con SKOV-3-luc.

- 45 Figs. 14A-B muestran la acumulación de Pt en toda la célula (absorción celular) después de la incubación con concentraciones variables de fármaco después de 24 h de exposición en células SKOV-3 como se mide por ICP-MS. Los valores son media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 3$ ): (Fig. 14A) acumulación de Pt *in vitro*/células después de 24 h de tratamiento con SKOV-3; (Fig. 14B) acumulación de Pt *in vitro*/proteína después de 24 h de tratamiento con SKOV-3.

- 50 Fig. 15 muestra la extensión de platinación de ADN después de 24 h de exposición en células SKOV-3 como se mide por ICP-MS. Los valores son media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 7$ ). El análisis estadístico se realizó usando SPSS y reveló que la diferencia observada en los valores de platinación de ADN fue significativa (\*\* $P < 0,01$ , ANOVA).

y  $**P < 0,01$ , prueba de Kruskal-Wallis). El análisis post hoc mostró que hay una diferencia significativa entre disolución de OXA y OXA-PAL-ACT/NPs ( $**P < 0,01$ , Tukey).

Fig. 16A muestra la detección longitudinal y la cuantificación del crecimiento del tumor de SKOV-3 luc en ratones vivos mediante el ensayo de formación de imágenes por luciferasa bioluminiscente. El análisis estadístico se realizó usando SPSS y reveló que la diferencia observada fue significativa (ANOVA de una vía  $**P < 0,01$ ). El análisis post hoc usando la prueba de Dunnett (de 2 lados) mostró que hay una diferencia significativa entre el grupo de control y cada grupo de tratamiento OPA ( $**P < 0,01$ ). Fig. 16B muestra la curva de supervivencia de Kaplan-Meier procedente del día de inyección de células tumorales hasta la muerte (según los requisitos de eutanasia aprobados del comité ético). El estudio se terminó en el día 93<sup>o</sup>).

Fig. 17 muestra el seguimiento de peso corporal empezando desde la inoculación tumoral (día 0) a lo largo de todo el periodo de estudio hasta la eutanasia. Los cambios se grabaron como un porcentaje del peso corporal inicial observado un día antes de la inyección de células tumorales (100% en el día 0). Los resultados se presentan como media  $\pm$  DE, hasta el último animal superviviente (según los requisitos de eutanasia aprobados del comité ético).

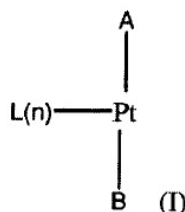
Fig. 18A. Detección longitudinal y cuantificación del crecimiento tumoral de BxPC-3-luc2 desde la inyección de células (día 0 hasta 47) en ratones vivos SCID-bg ( $n = 7-9$ ) mediante el ensayo de formación de imágenes de luciferasa bioluminiscente. Los resultados se presentan como media  $\pm$  EEM. El análisis estadístico se realizó usando SPSS y reveló que la diferencia observada entre los grupos es significativa (ANOVA de una vía  $**P < 0,01$ ). Fig. 18B muestra el seguimiento de peso corporal comenzando desde la inoculación tumoral (día 0) a lo largo del periodo de estudio entero hasta la eutanasia. Los resultados se presentan como media  $\pm$  DE, hasta el último animal superviviente (según los requisitos de eutanasia aprobados por el comité ético).

Fig. 19. Detección longitudinal y cuantificación del crecimiento tumoral de HCT-116-luc2 desde la inyección de células (día 0 hasta 33) en ratones vivos SCID-bg ( $n = 9-10$ ) mediante el ensayo de formación de imágenes de luciferasa bioluminiscente. Los resultados se presentan como media  $\pm$  EEM. El análisis estadístico se realizó usando SPSS y reveló que la diferencia observada entre los grupos es significativa (ANOVA de una vía  $**P < 0,01$ ).

El alcance de la presente invención es como se describe en las reivindicaciones.

Mientras, la presente descripción puede resumirse por los siguientes puntos 1 a 78:

1. Un compuesto de fórmula (I)



en donde

Pt es un átomo de platino;

A es un ácido graso  $\text{C}_8\text{-C}_{22}$  asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

B es un ácido graso  $\text{C}_2\text{-C}_{22}$  asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

Con tal que cada uno de A y B no sea un ácido graso alquilo ramificado  $\text{C}_6\text{-C}_9$ ;

L es un átomo o grupo de átomos ligando seleccionados de alquilo sustituido o no sustituido, alquienilo sustituido o no sustituido, alquinilo sustituido o no sustituido, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloalquienilo sustituido o no sustituido, cicloalquinilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, heteroarilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, átomo de haluro, amina  $-\text{NR}_1\text{R}_2$  sustituida o no sustituida,  $-\text{OR}_3$  sustituido o no sustituido,  $-\text{SR}_4$  sustituido o no sustituido,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}_5$  sustituido o no sustituido, alquilenilo- $\text{COOH}$  sustituido o no sustituido,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ,  $-\text{NH}$ , o cualquiera de los ligandos L1 a L5 como se designan en la presente memoria; y

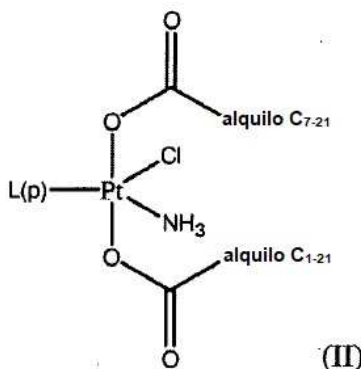
n es el número de resto de ligando, que es 1, 2, 3 o 4;

$\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, alquienilo, alquienilo, cicloalquilo, cicloalquienilo, cicloalquinilo, arilo, heteroarilo, heterociclilo, haluro,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}_6\text{R}_7$ , sulfínilo, éster y carbonilo; o en donde  $\text{R}_1$  y  $\text{R}_2$  en forma de una estructura cíclica con el átomo N al que están unidos;

Cada uno de R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, alqueno, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo, heterociclilo, haluro, sulfinilo, éster y carbonilo; y

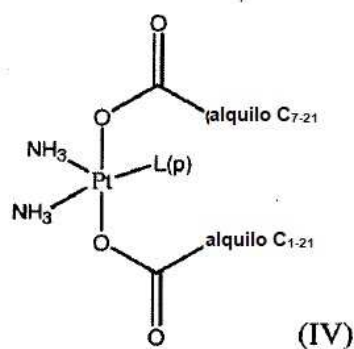
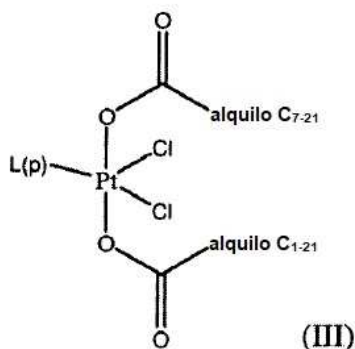
R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo, alqueno, alqueno, cicloalquilo, cicloalqueno, cicloalquino, arilo, heteroarilo, heterociclilo, haluro, sulfinilo, éster, carbonilo, -OH, -SH y -NH.

- 5 2. El compuesto según el punto 1, en donde A se selecciona de ácido octanoico (caprílico), ácido nonanoico (pelargónico), ácido decanoico (cáprico), ácido undecanoico (undecílico), ácido dodecanoico (láurico), ácido tridecanoico (tridecílico), ácido tetradecanoico (mirístico), ácido pentadecanoico (pentadecílico), ácido hexadecanoico (palmítico), ácido heptadecanoico (margárico), ácido octadecanoico (esteárico), ácido nonadecanoico (nonadecílico), ácido eicosanoico (araquídico), ácido heneicosanoico (heneicosílico) y ácido docosanoico (behénico).
- 10 3. El compuesto según el punto 1 o 2, en donde B es un ácido graso C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>.
4. El compuesto según el punto 3, en donde B se selecciona de ácido propanoico (propiónico), ácido butanoico (butírico), ácido pentanoico (valérico), ácido hexanoico (caproico) y ácido heptanoico (enántico).
5. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 4, en donde el átomo de platino se selecciona de platino (III), platino (IV), platino (V) y platino (VI).
- 15 6. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 5 en donde al menos un ligando L es un haluro seleccionado de F, Cl, Br y I.
7. El compuesto según el punto 6, en donde dicho haluro es Cl.
8. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 7, en donde al menos un ligando L es una amina.
9. El compuesto según el punto 6, en donde al menos un ligando L distinto es una amina.
- 20 10. El compuesto según el punto 7, siendo un compuesto de fórmula (II),



en donde L es como se define en el punto 1 y p es el número de restos de ligando, siendo 0, 1 o 2.

11. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 10, en donde n es 2, 3 o 4, y en donde al menos 2 ligandos L son idénticos.
- 25 12. El compuesto según el punto 11, en donde L es un haluro o una amina.
13. El compuesto según el punto 12, seleccionándose de compuestos de fórmulas (III) y (IV):

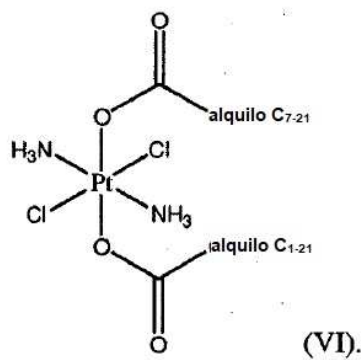
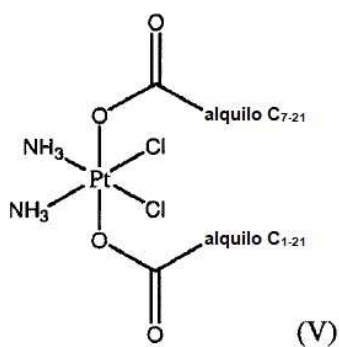


en donde L es independientemente como se define en el punto 1 y p en la Fórmula (IV) es 0, 1 o 2.

14. El compuesto según el punto 10, en donde al menos 2 ligandos L son haluros y los demás ligandos L son aminas.

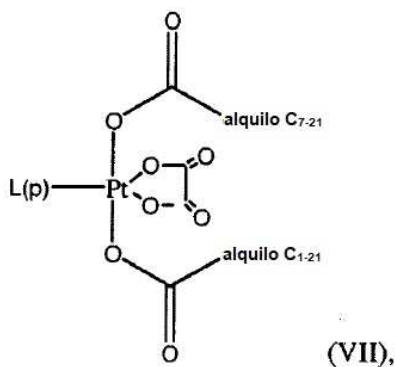
15. El compuesto según el punto 10, en donde al menos 2 ligandos L son aminas y los demás ligandos L son haluros.

5 16. El compuesto según el punto 10 que es un compuesto de fórmula (V) o (VI):



17. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 13, en donde al menos un ligando L se selecciona de ligandos designados en la presente memoria L1 a L5.

18. El compuesto del punto 17, en donde al menos un ligando L es L1 y el compuesto que tiene la fórmula (VII):

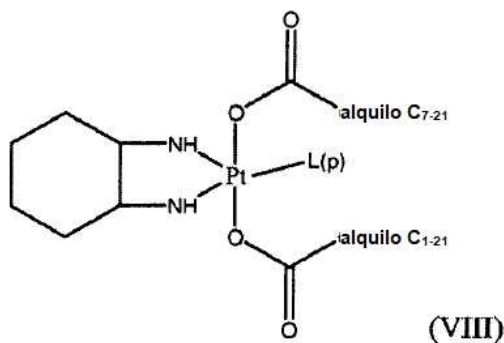


10

en donde L es como se define en el punto 1 y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

19. El compuesto según el punto 18, en donde L es  $-NR_1R_2$ , en donde  $R_1$  y  $R_2$  son como se definen en el punto 1.

20. El compuesto según el punto 17, en donde al menos un ligando L es L4 y el compuesto que tiene la fórmula (VIII):



en donde L es como se define en el punto 1 y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

21. El compuesto según cualquiera de los puntos 17 a 20, en donde al menos un ligando L distinto es un haluro o una amina.

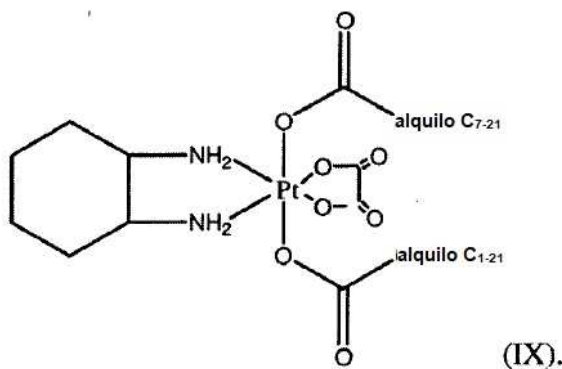
5 22. El compuesto según el punto 21, en donde n es 2, 3, o 4, al menos un ligando es L1 y al menos un ligando distinto es un haluro o una amina.

23. El compuesto según el punto 21, en donde n es 2, 3, o 4, al menos un ligando es L4 y al menos un ligando distinto es un haluro o una amina.

10 24. El compuesto según el punto 21, en donde n es 3 o 4, al menos un ligando es L1 o L4 y al menos 2 de los demás ligandos son idénticos y se seleccionan de un haluro y una amina.

25. El compuesto según el punto 17, en donde n es 2, un ligando es L1 y el otro ligando es L4.

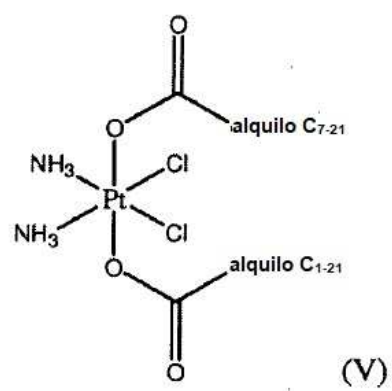
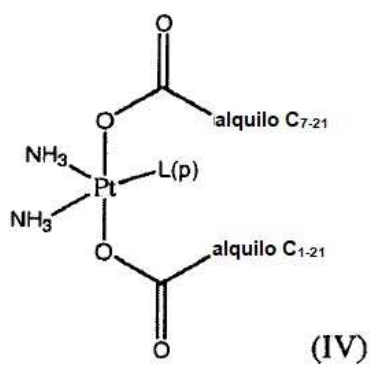
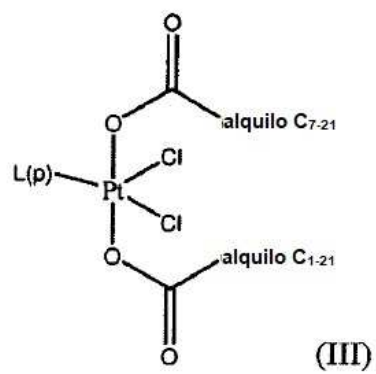
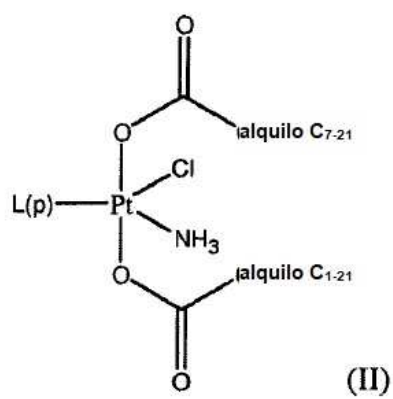
26. El compuesto según el punto 25, siendo un compuesto de fórmula (IX):

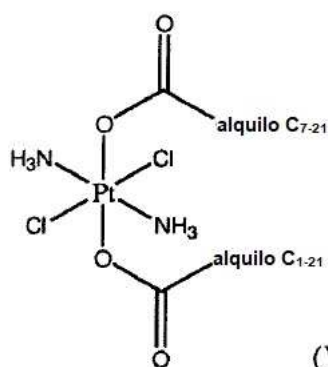


15 27. El compuesto según el punto 1, en donde al menos un ligando L está unido al átomo de platino por medio de un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre.

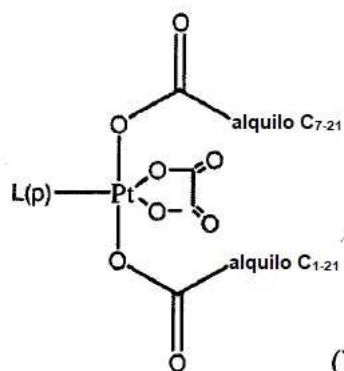
28. El compuesto según el punto 27, en donde al menos uno de los enlaces entre el átomo de platino y los heteroátomos son covalentes y los demás enlaces restantes son enlaces coordinantes.

29. El compuesto según el punto 1 que se selecciona de:

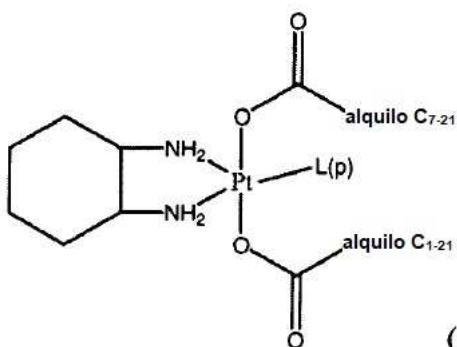




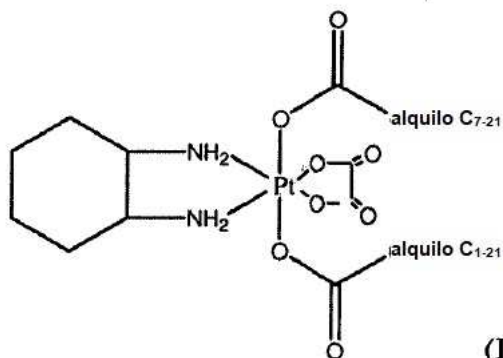
(VI)



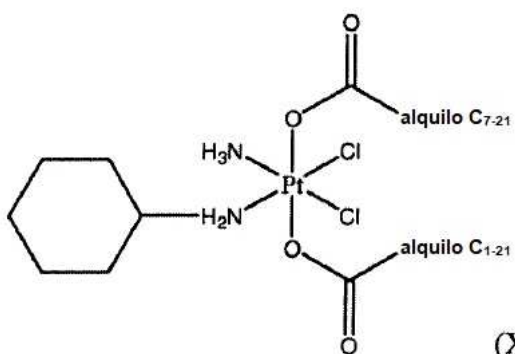
(VII)



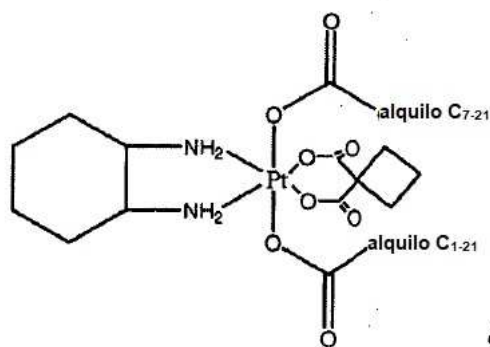
(VIII)



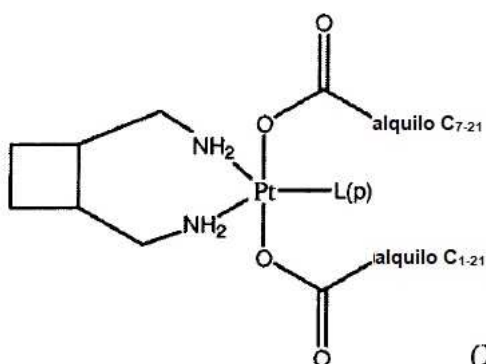
(IX)



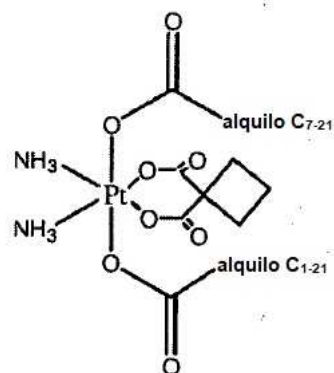
(X)



(XI)



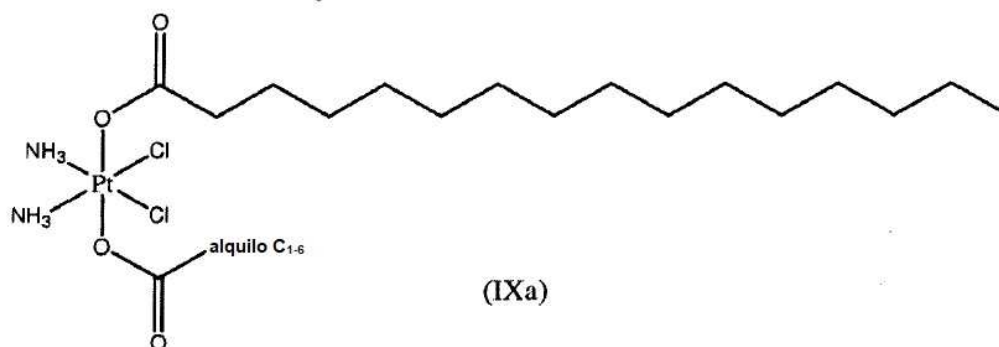
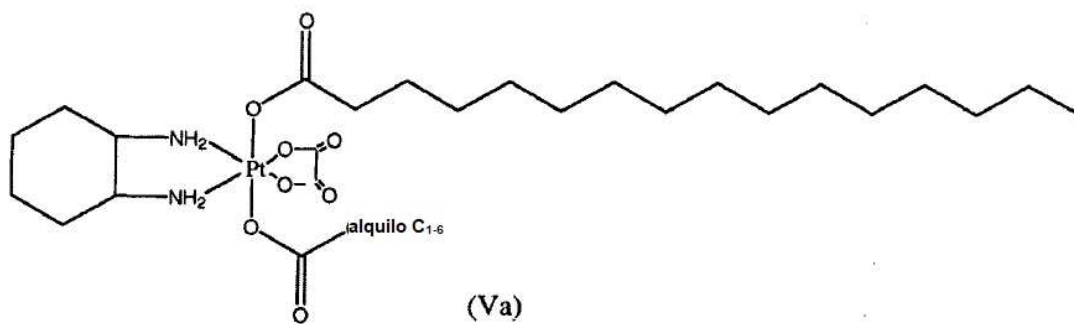
(XII)



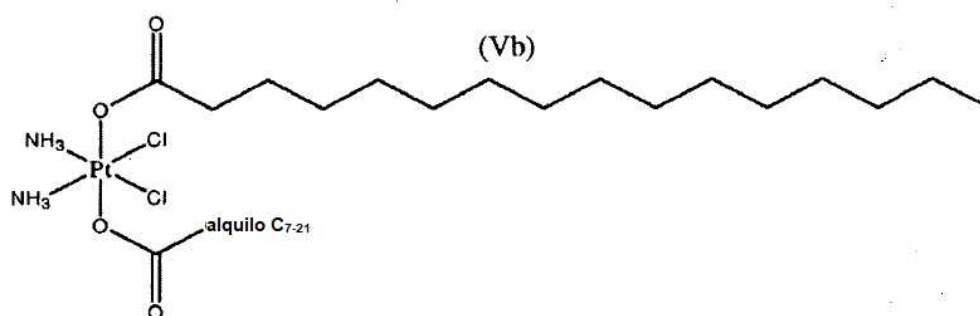
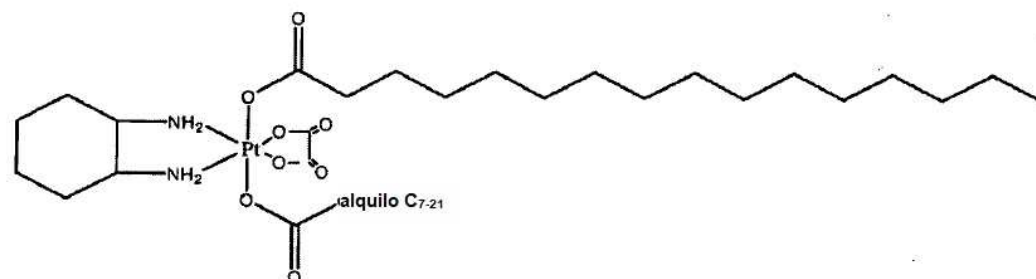
(XIII)

en donde p es independientemente el número de restos ligando, que se selecciona de 0, 1 y 2.

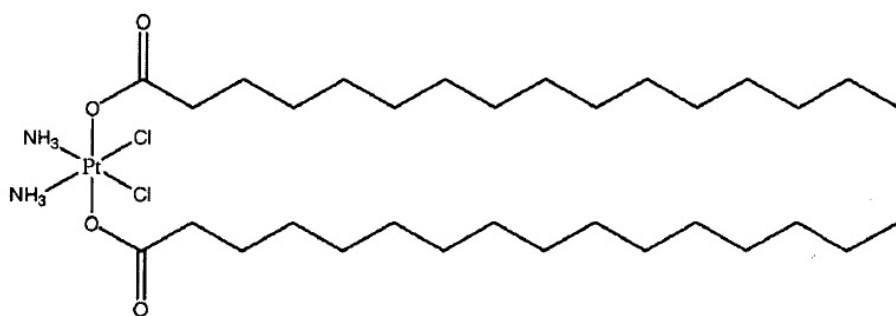
30. El compuesto según el punto 1 que es de fórmula (Va) o (IXa):



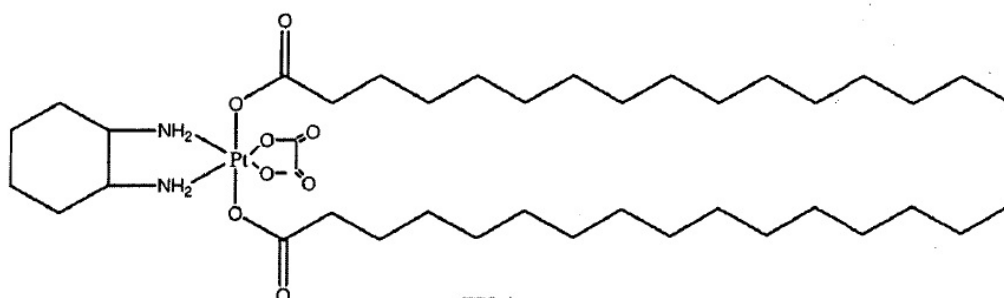
31. El compuesto según el punto 30, en donde dicho alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.
32. El compuesto según el punto 30, en donde el compuesto es acetato de palmitato de oxaliplatino.
33. El compuesto según el punto 1 que es de fórmula (Vb) o (IXb):



34. El compuesto según el punto 1 que es de fórmula (Vc) o (IXc):



(Vc)



(IXc)

35. El compuesto según el punto 1, en donde el átomo de platino está asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>8-22</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>.
- 5 36. El compuesto según el punto 1, en donde el átomo de platino está asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>8-22</sub>, teniendo el compuesto un valor logP de entre aproximadamente 2 y 9 en mezcla de octanol/agua, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>.
37. El compuesto según el punto 36, en donde el valor logP es al menos 2 en octanol/agua.
38. El compuesto según el punto 36, en donde el valor logP es al menos 7 en octanol/agua.
39. El compuesto según cualquiera de los puntos 1-38, que está en una forma salina.
- 10 40. El compuesto según el punto 39, en donde dicha sal se selecciona de sal hidrocloreuro, sal hidrobromuro, sal hidroyoduro, sal nitrato, sal sulfato, sal bisulfato, sal fosfato, sal fosfato ácido, sal isonicotinato, sal acetato, sal lactato, sal salicilato, sal citrato, sal tartrato, sal pantotenato, sal bitartrato, sal ascorbato, sal succinato, sal maleato, sal gentisinato, sal fumarato, sal gluconato, sal glucaronato, sal sacarato, sal formiato, sal benzoato, sal glutamato, sal metanosulfonato, sal etanosulfonato, sal bencenosulfonato, sal p-toluensulfonato y sal pamoato.
- 15 41. El compuesto según el punto 40, que es una sal acetato o una sal succinato.
42. Un compuesto que comprende un átomo de platino asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>6-20</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>.
43. El compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 42, que es un agente anticancerígeno-Pt.
- 20 44. Un agente anticancerígeno de Pt asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>6-20</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>.
45. Un compuesto que comprende un átomo de platino asociado a uno o más grupos de ácido graso C<sub>6-20</sub>, con tal que dicho ácido graso no sea un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>, teniendo dicho compuesto un valor logP de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 9 en mezcla de octanol/agua.
- 25 46. Un compuesto según el punto 45, que tiene un valor logP de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 9 en la mezcla de octanol/agua.
47. Un nanotransportador que comprende al menos un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46.
48. El nanotransportador según el punto 47 que se selecciona de una nanopartícula, una nanocápsula y mezclas de los mismos.

49. El nanotransportador según el punto 48 que es una nanopartícula, comprendiendo dicha nanopartícula una primera matriz, en donde dicho al menos un compuesto está incrustado en dicha matriz.
50. El nanotransportador según el punto 48 que es una nanocápsula, comprendiendo dicha nanocápsula una primera carcasa que encapsula dicho al menos un compuesto.
- 5 51. El nanotransportador según el punto 50, en donde dicha primera carcasa encapsula una composición que comprende dicho al menos un compuesto.
52. El nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 51, que está encapsulado adicionalmente en una segunda carcasa.
- 10 53. El nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 52, que está incrustado adicionalmente en una segunda matriz.
54. Una nano- o microcápsula que comprende una pluralidad de nanotransportadores según cualquiera de los puntos 47 a 53.
55. Una nano- o micropartícula que comprende una pluralidad de nanotransportadores según cualquiera de los puntos 47 a 53.
- 15 56. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55.
57. La composición según el punto 56, que es una composición farmacéutica.
58. La composición según el punto 57 que es adecuada para administración oral.
59. La composición según el punto 57 que es adecuada para administración intravenosa.
- 20 60. La composición según el punto 57 que está en una forma de nanoemulsión.
61. Un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53 una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, para usar en el tratamiento o retraso de la progresión de un trastorno proliferativo.
- 25 62. El uso de un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, para la preparación de un medicamento para tratar o retrasar la progresión de un trastorno proliferativo.
63. Un método para tratar un trastorno proliferativo, comprendiendo el método administrar una cantidad efectiva de un compuesto de cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador de cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, a un sujeto que lo necesita.
- 30 64. Un método de retraso de la progresión de un trastorno proliferativo, comprendiendo el método administrar una cantidad efectiva de un compuesto de cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador de cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, a un sujeto que lo necesita.
65. El método según el punto 63 o 64, en donde el trastorno proliferativo es cáncer.
- 35 66. El método según el punto 65, en donde dicho cáncer se selecciona de cáncer de ovario, y cáncer pancreático, cáncer de células escamosas (p.ej. cáncer de células escamosas epiteliales), cáncer de pulmón que incluye cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma del pulmón y carcinoma escamoso del pulmón, cáncer del peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gástrico o de estómago que incluye cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer de cuello de útero, cáncer de ovario, cáncer hepático, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer colorrectal, carcinoma de endometrio o
- 40 67. El método según el punto 66, en donde el cáncer se selecciona de cáncer de pulmón, cáncer de ovario, cáncer pancreático y cáncer de colon.
68. Un kit que comprende una composición de cualquiera de los puntos 56 a 60 e instrucciones para el uso.
- 45 69. La composición según cualquiera de los puntos 56 a 60, en donde el fármaco anticancerígeno es acetato de palmitato de oxaliplatino.
70. La composición según cualquiera de los puntos 56 a 60, en donde el fármaco anticancerígeno es un compuesto de Fórmula (Va) o (IXa) en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.

71. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, en donde el compuesto es un compuesto de Fórmula (Va) o (IXa) en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.
- 5 72. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, en donde el compuesto es un fármaco anticancerígeno.
73. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de los puntos 1 a 46, un nanotransportador según cualquiera de los puntos 47 a 53, una cápsula del punto 54 o una partícula del punto 55, en donde el compuesto es acetato de palmitato de oxaliplatino.
- 10 74. El acetato de palmitato de oxaliplatino para usar en el tratamiento de cáncer.
75. Acetato de palmitato de oxaliplatino.
76. El acetato de palmitato de oxaliplatino para usar en la preparación de un medicamento.
77. Un compuesto de Fórmula (Va) o (IXa), en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo.
78. Un compuesto de Fórmula (Va) o (IXa), en donde el alquilo C<sub>1-6</sub> es metilo, para usar en el tratamiento de cáncer.

## 15 Descripción detallada de las realizaciones

### Materiales y métodos

#### Materiales

- 20 El oxaliplatino se adquirió de AK Scientific, Inc. EE.UU. El ácido palmítico, azul de tiazolil tetrazolio bromuro, cloroformiato de etilo y cisteína se compraron de Sigma-Aldrich. El ácido oleico (Fisher Scientific) y PLGA 50 KDa, Resomer® RG 504 H (Boehringer Ingelheim lote 1035006). Lipoid E80 (Lipoid GmbH-Alemania, lote 1031157). Todos los disolventes orgánicos fueron de grado HPLC y se compraron de J.T. Baker (Deventer, Holanda).

Síntesis de acetato de palmitato de oxaliplatino (OXA-PAL-ACT, Compuesto B de la Fig. 1A)

#### Síntesis de OXA-ACT-OH (A)

- 25 Se disolvieron 100 mg (0,252 mmoles) de oxaliplatino en 20 mL de ácido acético y se añadió 1 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%. La mezcla se agitó a temperatura ambiente hasta que todo el oxaliplatino se disolvió completamente (4-5 horas). El exceso de ácido acético se eliminó por evaporación al vacío y el sólido blanco resultante se lavó con dietiléter y acetona y se secó por evaporación al vacío. El compuesto se caracterizó por <sup>195</sup>Pt-RMN y <sup>1</sup>H-RMN. Rendimiento: 51%.

#### Síntesis de OXA-PAL-ACT (B)

##### Síntesis de anhídrido palmítico

- 30 Se disolvieron 500 mg de ácido palmítico (1,95 mmoles) en 20 mL de diclorometano y se añadieron 201,2 mg de N,N'-díciclohexilcarbodiimida (0,5 eq., 0,975 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se monitorizó por TLC con acetato de etilo como la fase móvil. La N,N'-díciclohexilurea que se formó se filtró de la mezcla de reacción y el exceso de diclorometano se eliminó por evaporación.

- 35 El sólido blanco obtenido después de la eliminación de diclorometano se re-disolvió en una pequeña cantidad de diclorometano y la N,N'-díciclohexilurea precipitada se filtró. Este proceso se repitió cuatro veces para eliminar N,N'-díciclohexilurea completamente. El anhídrido palmítico formado se caracterizó por <sup>1</sup>H-RMN. Rendimiento: 89%.

#### Síntesis de OXA-PAL-ACT

- 40 Se disolvieron 50 mg de OXA-ACT-OH (0,106 mmoles) en 5 mL de DMF y se añadieron 78,4 mg de anhídrido palmítico (1,5 eq., 0,159 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 400°C durante 12 h (toda la noche). La terminación de la reacción se comprobó por <sup>195</sup>Pt-RMN (desaparición del pico a +1390 ppm y formación de un nuevo pico a +1589 ppm). El anhídrido no reaccionado se filtró de la mezcla de reacción y el DMF se eliminó por evaporación al vacío dando un sólido amarillento claro pegado a las paredes del matraz de fondo redondo.

#### Purificación de OXA-PAL-ACT

- 45 1 mL de metanol se añadió al sólido obtenido después de la evaporación de DMF y la mezcla se agitó bien (para disolver las impurezas y Pal-anhídrido no reaccionado mediante metanol). El precipitado blanco insoluble se recogió por centrifugado y se lavó dos veces con una pequeña cantidad de metanol y se secó al vacío. Después, el producto se purificó adicionalmente usando HPLC. El compuesto obtenido se caracterizó por <sup>195</sup>Pt-RMN y <sup>1</sup>H-RMN. Rendimiento: 31%.

## Determinación de logP

El coeficiente de partición ( $P_{ow}$ ) de OXA-PAL-ACT se determinó en n-octanol y agua mediante el método de matraz de agitación, y logP se calculó como sigue:

$$\log P_{oct} = \log_{10} \frac{[Pt]_{oct}}{[Pt]_{ac}}$$

## 5 Estudio in vitro

### Líneas celulares y condiciones de incubación celular

Los experimentos *in vitro* se realizaron en líneas celulares de cáncer de pulmón (A549), cáncer de próstata (DU145 y PC-3), cáncer pancreático (BxPC-3) y cáncer de ovario (SKOV-3 y OVCAR-8). Las células A549, BxPC-3 y OVCAR-8 se cultivaron en medio RPMI suplementado con suero bovino fetal al 10% (Gibco), 1% de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomycin y 0,13% en p/p de gentamicina. Las células PC-3 se cultivaron en DMEM más suero bovino fetal al 10%, 1% de L-glutamina, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomycin y 1% de piruvato. Las células DU145 se cultivaron en medio RPMI1640 suplementado con suero bovino fetal al 10%, 100 U/ml de penicilina, y 100 ug/ml de estreptomycin. Las células SKOV-3 se cultivaron en medio de McCoy 5A suplementado con suero bovino fetal al 10%, 100 U/ml de penicilina, y 100 ug/ml de estreptomycin. Las líneas celulares se mantuvieron a 37°C bajo CO<sub>2</sub> al 5%. Todos los productos del cultivo celular se obtuvieron de Biological Industries (Beit HaEmek, Israel). Los fármacos se disolvieron en DMSO y se añadieron al medio apropiado. Las concentraciones de fármaco se eligieron en un intervalo que nunca expondría a las células a más de 0,5% de DMSO es decir, para 50 µg/ml de concentración máxima; 0,5 mg de OXA-PAL-ACT se disolvieron en 50 µl de DMSO y después se añadieron a 10 ml de medio celular.

## 20 Ensayo de citotoxicidad *in vitro*

Para evaluar la eficacia de los diversos fármacos, las células se sembraron en una placa de 24 pocillos, estéril, y se incubaron en presencia del fármaco durante 72 h/120 h a 37°C, 5% de CO<sub>2</sub>. El número de células vivas se cuantificó usando el ensayo de (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) (MTT). Las células se incubaron durante 2 h con MTT, se añadió DMSO para disolver los cristales y las placas se midieron a 540 nm. Los gráficos de viabilidad (%) se construyeron respecto al control de cada ensayo. Los datos se representaron en un gráfico, las líneas conectaron los puntos, y los valores se determinaron desde el gráfico interpolado.

### Determinación de contenidos de platino en las células

Las células SKOV-3 y SKOV-3 LUC se sembraron en placas de 24 pocillos por triplicado (50x10<sup>3</sup> células/pocillo), se dejaron alcanzar el 80-90% de confluencia, y se trataron con oxaliplatino, OXA-PAL-ACT y NPs de OXA-PAL-ACT 5 µg/ml, 15 µg/ml, 25 µg/ml durante 24 h (37°C).

Después de la incubación, se eliminó el medio que contenía el fármaco, y las células se enjuagaron dos veces con PBS frío, se tripsinizaron y se centrifugaron en un granulado (4400 rpm (1 rpm = 1/60 Hz), 5 min). Se añadieron 500 µl de ácido nítrico a granulos celulares, y se incubaron toda la noche a 70°C. Las muestras se prepararon mediante dilución usando 0,1% de SDS y 1% de disolución de lisis de ácido nítrico, y se analizaron para el contenido de Pt por ICP-MS. El ADN se aisló y se purificó desde las líneas celulares con el kit de sangre y tejido DNeasy (Qiagen).

### Preparación de nanopartículas de OXA-PAL-ACT

Las nanoesferas de OXA-PAL-ACT se prepararon mediante el método de deposición en disolvente (Nano-precipitación). Típicamente, se disolvieron 7 mg de OXA-PAL-ACT, 14 mg de PLGA 50 KDa, 7 mg de lipoid E80 y 1,5 mg de OCA en 4 ml de mezcla de etanol/acetona (1:20). La fase orgánica se añadió a 2,5 ml de disolución acuosa que contenía 0,1% en p/v de Solutol® HS 15. La suspensión se agitó a 900 rpm durante 15 min, y después se concentró mediante la evaporación de disolventes usando flujo de aire a un volumen final de 2,5 ml, seguido por centrifuga durante 10 min a 4400 rpm (1 rpm = 1/60 Hz).

## Resultados y discusión

### Síntesis y caracterización de OXA-PAL-ACT

45 El OXA-PAL-ACT se identificó usando <sup>1</sup>H-RMN, <sup>195</sup>Pt-RMN, HPLC (Figs. 2A-2B) y análisis elemental (Tabla 1).

Tabla 1: Valores de análisis elemental de OXA-PAL-ACT

|                             | C     | H    | N    |
|-----------------------------|-------|------|------|
| Teórico (%)                 | 43,87 | 6,80 | 3,94 |
| Resultados del análisis (%) | 43,69 | 6,61 | 3,89 |

El logP observado fue  $2,76 \pm 0,14$  ( $n = 5$ ), mientras el valor calculado (CLogP) fue 8,57 (por software Chemdraw).

#### Preparación y caracterización de NPs de OXA-PAL-ACT

- 5 Después de sintetizar el compuesto OXA-PAL-ACT, se obtuvieron nanopartículas esféricas de él.

Se usaron TEM, SEM y AFM para caracterizar la morfología y tamaño de las NPs de OXA-PAL-ACT. Los resultados mostraron que todos ellos asumieron una forma esférica, sus diámetros medios oscilaron de 150 nm a 230 nm determinados también por Malvern Zetasizer (Malvern Instruments, Malvern UK). Los valores de potencial zeta oscilaron de -45 mV a -50 mV. Además, se notó que se obtuvieron altos rendimientos de encapsulación de OXA-PAL-ACT (>95%), y la incorporación de él en las NPs osciló de 21,5% a 22,7% en p/p. (Figs. 3-5 y Tabla 2).

10

Tabla 2: Propiedades fisicoquímicas de NPs de OXA-PAL-ACT y blanco

|                    | Diámetro medio (nm) | Valor PDI      | Potencial zeta (mV) | Contenido de NP % en p/p | Rendimiento de encapsulación % | Conc. final (mg/ml) |
|--------------------|---------------------|----------------|---------------------|--------------------------|--------------------------------|---------------------|
| NPs de OXA-PAL-ACT | 146,3 $\pm$ 1,6     | 0,1 $\pm$ 0,01 | -49,3 $\pm$ 1,1     | 22,7                     | 97,4                           | 2,6                 |
| NPs de blanco      | 180,4 $\pm$ 2,6     | 0,1 $\pm$ 0,01 | -48,6 $\pm$ 1,8     | -                        | -                              | -                   |
| Lio-NPs            | 197,1 $\pm$ 2,1     | 0,1 $\pm$ 0,02 | -51,7 $\pm$ 0,8     | 22,7                     | 97,4                           | 2,6                 |

Para almacenar lotes mayores de NPs, con el objetivo de uso farmacéutico, había una necesidad de desarrollar un proceso para la liofilización de estas NPs. Después del encapsulado del fármaco, las NPs se secaron por congelación usando el instrumento épsilon 2-6d de Martin Christ las NPs fueron físicamente estables cuando se liofilizaron con sacarosa (5% en p/v), como crioprotector. No se detectaron cambios significativos en tamaño, potencial zeta o contenido de fármaco después de que las NPs secas por congelación se mantuvieran a 4°C durante 1 mes, además, la actividad citotóxica *in vitro* de las NPs se mantuvo (Figs. 6A-6B).

15

#### Evaluación de propiedades biológicas de OXA-PAL-ACT

- 20 Como puede verse en las Figs. 7-11 y las Tablas 3A-3B, los valores de  $CI_{50}$  de derivados de oxaliplatino se determinaron en varias líneas de células cancerígenas después de 120 h de tratamiento. El OXA-PAL-ACT tiene una potencia única frente a células cancerígenas, con mayor eficacia que el oxaliplatino, además, tiene amplio espectro de actividad frente a varias células cancerígenas que son típicamente resistentes a la terapia con platino.

Tabla 3A: Resumen de los valores  $Cl_{50}$  de derivados de oxaliplatino en varias líneas de células cancerígenas después de 120 h de tratamiento.

|                                                                                                                | PC-3            | PC-3 LUC          | BXPC-3            | OVCAR-8         | SKOV-3            | A2780 | A2780-cisR      |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|-------|-----------------|
| Oxaliplatino $\mu\text{g/ml}$                                                                                  | $3,63 \pm 0,15$ | $11 \pm 3,60$     | $1,35 \pm 0,35$   | $3,75 \pm 1,77$ | $32,5 \pm 3,54$   | 0,31  | $1,63 \pm 0,11$ |
| OXADP $\mu\text{g/ml}$                                                                                         | $2,20 \pm 1,21$ | $21,35 \pm 19,30$ | $24,07 \pm 12,96$ | $16 \pm 3,12$   | N.D.*             |       |                 |
| OXA-PAL-ACT<br>$\mu\text{g/ml}$                                                                                | $0,25 \pm 0,01$ | $0,33 \pm 0,08$   | $0,25 \pm 0,01$   | $0,33 \pm 0,03$ | $0,39 \pm 0,02$   | 0,26  | 0,24            |
| OXA-PAL-SUCC<br>$\mu\text{g/ml}$                                                                               | $0,35 \pm 0,01$ | $0,78 \pm 0,88$   | $1,23 \pm 1,18$   | $2,83 \pm 0,38$ | $20,67 \pm 15,88$ |       |                 |
| *N.D.- No determinado (el valor $Cl_{50}$ es mayor que la concentración probada máxima- 50 $\mu\text{g/ml}$ ). |                 |                   |                   |                 |                   |       |                 |
| **Los datos son de tres experimentos independientes                                                            |                 |                   |                   |                 |                   |       |                 |

Tabla 3B: Resumen de valores  $CI_{50}$  de derivados de oxaliplatino en varias líneas de células cancerígenas después de 120 h de tratamiento

|                                                                                                                | A549 | HCT-15 | A498  | A375            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|--------|-------|-----------------|
| Cisplatina $\mu\text{g/ml}$                                                                                    | 8,35 | 11,32  | 17,53 | 3,75 $\pm$ 1,77 |
| OXA-PAL-ACT $\mu\text{g/ml}$                                                                                   | 0,34 | 0,43   | 0,20  | 0,16            |
| OXA-PAL-SUCC $\mu\text{g/ml}$                                                                                  | 0,45 | 0,35   | 0,24  | 0,19            |
| *N.D.- No determinado (el valor $CI_{50}$ es mayor que la concentración probada máxima- 50 $\mu\text{g/ml}$ ). |      |        |       |                 |
| **Los datos son de tres experimentos independientes                                                            |      |        |       |                 |

Como se muestra en la Fig. 10, se determinó la actividad de OXA y OXA-PAL-ACT frente a dos líneas celulares de cáncer de ovario. A2780 es la línea parental a la línea celular resistente a cisplatina A2780-cisR, como resultado, el factor de resistencia se calculó a partir de valores  $CI_{50}$  de curvas de respuesta a la dosis. Los factores de resistencia de OXA y OXA-PAL-ACT fueron 5,2 y 1, respectivamente, que indica que OXA-PAL-ACT puede ser efectivo frente a tipos de cáncer que son típicamente resistentes a la terapia con platino.

La muerte celular apoptótica en células SKOV-3 se evaluó por análisis de citometría de flujo usando la tinción doble de Annexin V y yoduro de propidio (PI). Las células se trataron con 5  $\mu\text{g/ml}$  y 50  $\mu\text{g/ml}$  de OXA-PAL-ACT durante 24 h. Los resultados se proporcionan en la Fig. 12.

La acumulación celular de platino es una etapa clave en la farmacología de fármaco de platino celular. Para examinar la acumulación relativa de OXA-PAL-ACT en células cancerígenas, el contenido total de Pt se midió en células SKOV-3 y SKOV-3-luc después de su exposición a oxaliplatino, OXA-PAL-ACT o NPs de OXA-PAL-ACT a concentraciones de fármaco variables. Los datos, normalizados o a la proteína celular total o  $1 \times 10^5$  células, se presentan en las Figs. 13-14. La acumulación celular de OXA-PAL-ACT y NPs de OXA-PAL-ACT fue sustancialmente mayor en comparación con la de oxaliplatino.

El análisis de la extensión de la platinación de ADN del núcleo medido después de 24 h de exposición de las células SKOV-3 a 25  $\mu\text{g/ml}$  de oxaliplatino, OXA-PAL-ACT o NPs de OXA-PAL-ACT, mostrado en la Fig. 15 indica mayor platinación de ADN de OXA-PAL-ACT en comparación con el oxaliplatino. Se acepta generalmente que el daño del ADN inducido mediante unión de fármacos de platino es en gran parte responsable de sus propiedades citotóxicas. Por consiguiente, la mayor platinación del ADN no manifestó de forma sorprendente una citotoxicidad aumentada de OXA-PAL-ACT en comparación con el oxaliplatino libre frente a la línea celular de cáncer de ovario humano SKOV-3.

#### Absorción celular de NPs en células SKOV-3 por CLSM

La absorción celular y localización de NPs se observó ya 15 min después de la incubación y fue más evidente a las 6 h. El núcleo se tiñó mediante DAPI mientras las NPs marcadas de forma fluorescente usando rodamina se visualizaron fácilmente en el citoplasma. De hecho, la acumulación citoplasmática aumentada de NPs se observó como una función de dilución (1:100 frente a 1:200) y a las 6 h en comparación con intervalos de tiempo de 1, 3, con un patrón de localización perinuclear y nuclear más pronunciado.

#### Modelo de ratón de carcinoma de ovario

Para la inducción de un modelo de ratón de carcinoma de ovario, se inyectaron ratones con inmunodeficiencia combinada severa (SCID) de 5-6 semanas de edad, divididos en 4 grupos, con  $2 \times 10^6$  células SKOV-3 luc directamente en la cavidad intraperitoneal (i.p.). Las células se suspendieron en 100  $\mu\text{l}$  de PBS.

#### Régimen de dosificación

Se administró el tratamiento una vez a la semana mediante inyección i.v., 4 tratamientos en total. Los grupos de tratamiento comprendieron oxaliplatino libre a la dosis de 5 mg/kg de peso corporal, OXA-PAL-ACT a la dosis de 15 mg/kg de peso corporal, disolución de inyección (vehículo) como control, y NPs de OXA-PAL-ACT 15 mg/kg. Todos los tratamientos se dieron en un régimen de tratamiento idéntico. Para la validación tumoral y el seguimiento del crecimiento tumoral, se realizó la formación de imágenes bioluminiscente cada 7 días usando una cámara CCD (IVIS, Caliper Life Sciences, Xenogen Corporation). Se inyectó D-luciferina de forma intraperitoneal y los ratones se anestesiaron mediante isoflurano al 3%. Los animales se pusieron en papel negro en la caja de formación de imágenes IVIS y se tomaron imágenes de forma dorsal y ventral. La luminiscencia total (dorsal y ventral) se grabó en unidades de radiancia (fotones/s/cm<sup>2</sup>). 30 días después de la inyección de células y la validación de la inoculación tumoral, los animales se dividieron en cuatro grupos con valores de radiancia promedio igual.

Como puede verse en la Fig. 16A, el tratamiento empezó desde el día 30. La dosis máxima tolerada de disolución de OXA fue 5 mg/kg mientras que la dosis tolerada máxima de OXA-PAL-ACT en disolución fue 15 mg/kg debido a la toxicidad del vehículo. Es digno de mención que el OXA-PAL-ACT incorporado en NPs fue bien tolerado a la dosis de 30 mg/kg. Pudo observarse que desde el día 60 tanto OXA-PAL-ACT en disolución como en NPs fueron más eficientes que OXA. No hubo diferencia entre OXA-PAL-ACT en disolución y NPs a la misma dosis como se representa en la Fig. 16B. Además, en la Fig. 17, se presenta la variación de peso corporal sobre el tiempo. Mientras que OXA era tóxico como se reflejó por la marcada reducción de peso empezando cerca del día 50 desde la inoculación celular, la formulación restante que incluye OXA-PAL-ACT en disolución y NPs no redujo el peso del animal de forma similar al vehículo de control y además también se notó alguna ganancia que muestra que las formulaciones de OXA-PAL-ACT fueron bien toleradas visualmente. Estos resultados son muy alentadores y abren nuevas oportunidades terapéuticas para que los médicos en el futuro ofrezcan un nuevo arsenal terapéutico para luchar con las enfermedades cancerígenas que amenazan la vida.

#### Carcinoma pancreático

Se inocularon ratones SCID de 5-6 semanas de edad de forma subcutánea con  $2 \times 10^6$  células BxPC-3-luc. 7 días después de la inoculación tumoral, los ratones se dividieron en cuatro grupos con valores de radiancia promedio igual.

El tratamiento se administró una vez a la semana mediante inyección i.v. (cola), 4 tratamientos en total.

Las actividades antiproliferativas del compuesto nuevo (libre e incorporado en NPs) y OXA se determinaron en líneas celulares HCT 116-luc2 (cáncer colorrectal humano) y BxPc-3-luc2 (cáncer pancreático humano) mediante el ensayo MTT. Los valores de concentración inhibidora de crecimiento al 50% (CI<sub>50</sub>) resultantes se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores de CI<sub>50</sub> de OXA, OXA-PAL-ACT (OPA) y NPs de OPA en dos líneas celulares cancerígenas

| Línea celular | CI <sub>50</sub> (μM) |           |            |
|---------------|-----------------------|-----------|------------|
|               | OXA                   | OPA       | NPs de OPA |
| HCT 116-luc2  | 2,30±1,08             | 0,37±0,02 | 0,40±0,02  |
| BxPc-3-luc2   | 62,67±2,52            | 0,31±0,09 | 0,31±0,01  |

Los tumores pancreáticos se indujeron por inyección subcutánea de las células de adenocarcinoma de páncreas transfectadas con luciferasa, BxPc-3-luc2, a ratones SCID-bg. El desarrollo y progresión tumoral se validó por formación de imágenes bioluminiscentes. En el octavo día después de la inyección de células tumorales, se inició un ciclo de cuatro tratamientos (ruta intravenosa) (una vez a la semana). OPA y NPs de OPA fueron igualmente y significativamente más eficientes en la inhibición del crecimiento tumoral pancreático en comparación con OXA y el control. Además, no hubo diferencia entre el control y OXA que no mostraron ninguna eficacia en esta línea celular específica.

#### Modelo de cáncer de colon

Los ratones SCID de 5-6 semanas de edad se inocularon de forma subcutánea con  $1 \times 10^6$  células HCT-116-luc2. 1 día después de la inoculación tumoral, se inició el tratamiento. El tratamiento se administró una vez cada cuatro días mediante inyección i.v. (cola), 4 tratamientos en total.

La Fig. 19 muestra la detección longitudinal y la cuantificación del crecimiento tumoral de HCT-116-luc2 desde la inyección de células (día 0 hasta 33) en ratones vivos SCID-bg (n = 9-10) mediante el ensayo de formación de imágenes de luciferasa bioluminiscente. Los resultados se presentan como media ± EEM. El análisis estadístico se realizó usando SPSS y reveló que la diferencia observada entre los grupos es significativa (ANOVA de una vía \*\*P<0,01). De hecho se infectaron dosis equivalentes ya que 9 mg/kg de OPA es equivalente a 5 mg/kg de OXA. Puede notarse que el tumor crece progresivamente y notablemente con el control en el tiempo mientras que el efecto inhibidor más pronunciado se obtiene por las NPs de OPA en el intervalo de tiempo de 33 días desde la inoculación tumoral. Los resultados de las NPs de OPA son significativamente más eficientes en la inhibición del tumor que el efecto de inhibición obtenido por OXA a la dosis equivalente. Sin embargo no hay diferencia de eficacia significativa entre la disolución de OPA y las NPs de OPA o entre la disolución de OPA y la disolución de OXA (Fig. 19).

#### Estudio comparativo

El coeficiente de partición de los nuevos compuestos de Pt se determinó en n-octanol y agua mediante el método del matraz de agitación. Los valores logP resultantes se presentan en la Tabla 5. Como se esperaba, los valores logP medidos de los nuevos derivados fueron mayores que OXA, indicando su carácter lipófilo intrínseco.

Tabla 5. Desplazamiento <sup>195</sup>Pt-RMN, logP medido experimentalmente, y potenciales de reducción medidos por voltametría cíclica de los compuestos de Pt. [a] frente a Ag/AgCl.

| Compuesto | Desplazamiento de $^{195}\text{Pt}$<br>(DMF) | logP medido | Ep (V) <sup>[a]</sup> |
|-----------|----------------------------------------------|-------------|-----------------------|
| OXA       | -2012                                        | -0,45       | -                     |
| OPA       | +1589                                        | 2,06        | -0,54±0,02            |
| OPS       | +1585                                        | 2,07        | -0,60±0,01            |
| ODP       | +1589                                        | 3,49        | -0,53±0,02            |
| CDDP      | -2168                                        | -1,39       | -                     |

#### Evaluación de las propiedades biológicas de OXA-PAL-ACT (OPA)

Las actividades antiproliferativas de los compuestos nuevos y oxaliplatino se determinaron en líneas celulares PC-3, PCC-3-luc (cáncer de próstata humano), BxPC-3 (cáncer pancreático humano), OVCAR-8, SKOV-3 (cáncer de ovario humano), CT-26-luc (cáncer colorrectal murino) mediante el ensayo MTT. Las células se trataron de forma continua durante 120 h. Los valores de concentración inhibidora del crecimiento al 50% (IC<sub>50</sub>) resultantes se resumen en la Tabla 6. OPA mostró una potencia única frente a diferentes líneas celulares de cáncer, con mayor citotoxicidad que OXA. Además, tiene amplio espectro de actividad frente a las células cancerígenas que son típicamente resistentes a los compuestos basados en platino.

Tabla 6. Valores IC<sub>50</sub> de derivados de OXA en varias líneas celulares de cáncer después de 120 h de incubación

| Compuesto | CI <sub>50</sub> (μM)* |             |             |            |             |           |
|-----------|------------------------|-------------|-------------|------------|-------------|-----------|
|           | PC-3                   | PC-3-luc    | BxPC-3      | OVCAR-8    | SKOV-3      | CT-26-luc |
| OXA       | 9,16±0,37              | 27,7±9,05   | 3,38±0,87   | 9,44±4,44  | 58,26±6,34  | 5,60±0,60 |
| ODP       | 2,42±1,33              | 23,51±21,24 | 26,49±14,27 | 17,61±3,43 | >55         | >55       |
| OPA       | 0,35±0,01              | 0,46±0,11   | 0,35±0,01   | 0,46±0,03  | 0,54±0,03   | 0,62±0,24 |
| OPS       | 0,45±0,01              | 1,01±1,13   | 1,59±1,52   | 3,67±0,49  | 26,85±20,62 | 4,43±0,93 |

\*Los valores son las medias ± desviaciones estándar obtenidos de tres experimentos independientes.

La actividad de OXA y OPA frente un par de líneas celulares de cáncer de ovarios resistentes y sensibles a la cisplatina, A2780 y A2780-cisR, se determinó como una función de la concentración. A2780cisR es resistente a la cisplatina a través de una combinación de absorción disminuida, reparación/tolerancia de ADN mejorada y niveles elevados de glutatión reducido (GSH).

El factor de resistencia es la relación del valor de CI<sub>50</sub> en la línea celular resistente a la de la línea celular parental (Tabla 7), que indica que OPA puede superar la resistencia adquirida a la cisplatina y puede ser efectivo frente a los tipos de cáncer que son típicamente resistentes a la terapia de platino.

Tabla 7. Valores de CI<sub>50</sub> (μM) y RF para compuestos frente a A2780, A2780-cisR

| Compuesto | CI <sub>50</sub> (μM) <sup>[a]</sup> |            |                  |
|-----------|--------------------------------------|------------|------------------|
|           | A2780                                | A2780-cisR | F <sup>[b]</sup> |
| OXA       | 0,78±0,02                            | 4,1±0,25   | 5,21             |
| ODP       | 7,5±0,5                              | >55        | >7,3             |
| OPA       | 0,36±0,01                            | 0,34±0,01  | 0,93             |
| OPS       | 0,46±0,01                            | 1,9±0,2    | 4,13             |
| CDDP      | 0,94±0,04                            | 14,6±1,44  | 15,53            |

<sup>[a]</sup> Valores de IC<sub>50</sub> son concentraciones de fármacos necesarias para el 50% de muerte celular y son las medias ± DE de tres experimentos independientes. <sup>[b]</sup> RF que representa el factor de resistencia es la relación del valor CI<sub>50</sub> en la línea celular resistente a aquella en la línea celular parental.

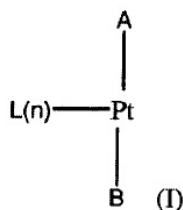
Debería enfatizarse que independientemente de la línea celular, OPA era siempre más citotóxico y eficiente que ODP dipalmitato de oxaliplatino sugiriendo que el valor del LogP no es el único parámetro que afecta al efecto de la citotoxicidad sino también la anfifilicidad de la molécula influye al efecto de citotoxicidad. Un cierto valor logP se

necesita aparentemente cerca al valor de 2 para permitir una buena y rápida permeabilidad de las células cancerosas como se refleja por los resultados descritos en la Tablas 6 y 7.

- 5 La absorción celular y localización de NPs se observó ya 15 min después de la incubación y fue más evidente a las 6 h. El núcleo se tiñó mediante DAPI mientras las NPs marcadas de forma fluorescente usando PE Lisamina Rodamina B se visualizaron fácilmente en el citoplasma. De hecho, la acumulación citoplasmática aumentada de NPs se observó como una función de dilución (1:100 frente a 1:200) y a 6 h en comparación con intervalos de tiempo de 1, 3 horas, con un patrón de localización perinuclear y nuclear más pronunciado.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o una forma salina del mismo,



en donde

5 Pt es un átomo de platino;

A es un ácido graso C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub> asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

B es un ácido graso C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub> asociado con el átomo de Pt por medio de un átomo de oxígeno del ácido graso;

Con tal que cada uno de A y B no sea ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>;

10 L es un átomo o grupo de átomos ligando seleccionado de alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alquenilo que contiene de 2 a 20 carbonos, alquinilo que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquenilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquinilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, átomo de haluro, -NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, -OR<sub>3</sub>, -SR<sub>4</sub>, -S(O)R<sub>5</sub>, alquileo C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>-COOH, -OH, -SH, -NH, o cualquiera de los ligandos L1 a L5 como se designa en la presente memoria; y

15 n es el número de restos ligando, siendo 1, 2, 3 o 4;

20 R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan cada uno de forma independiente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alquenilo que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquenilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquinilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro, -C(O)NR<sub>6</sub>R<sub>7</sub>, sulfinilo, éster y carbonilo; o en donde R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> forman una estructura cíclica con el átomo N se unen a;

25 cada uno de R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub> y R<sub>5</sub> se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alquenilo que contiene de 2 a 20 carbonos, alquinilo que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquenilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquinilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro, sulfinilo, éster y carbonilo; y

30 R<sub>6</sub> y R<sub>7</sub> se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo que contiene de 1 a 20 carbonos, alquenilo que contiene de 2 a 20 carbonos, cicloalquilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquenilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, cicloalquinilo que contiene de 3 a 10 átomos de carbono, arilo que contiene de 6 a 10 átomos de carbono, heteroarilo que comprende 5 a 15 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, heterociclilo que contiene de 3 a 10 miembros en donde 1 a 3 de los átomos en el sistema anular son un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno o azufre, haluro, sulfinilo, éster, carbonilo, -OH, -SH y -NH,

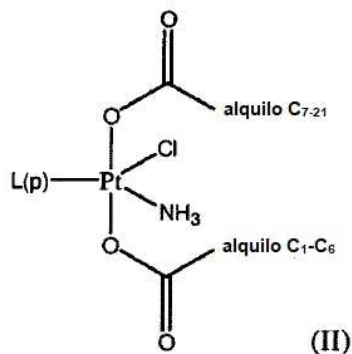
35 en donde al menos una de las siguientes condiciones se cumple:

(i) al menos un ligando L se une al átomo de platino por medio de al menos un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre;

(ii) el átomo de platino se asocia a uno o más grupos de ácido graso C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub>, con tal que dicho ácido graso no es un ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>;

(iii) el átomo de platino se asocia a uno o más grupos de ácido graso C<sub>8</sub>-C<sub>22</sub>, teniendo el compuesto un valor logP de entre aproximadamente 2 y 9 en mezcla de octanol/agua, con tal que dicho ácido graso no sea ácido graso alquilo ramificado C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub>.

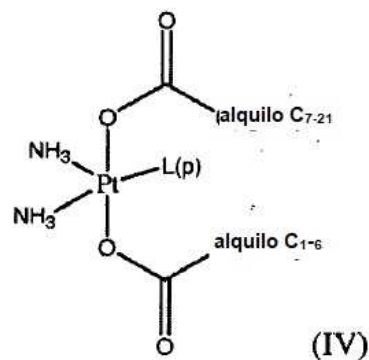
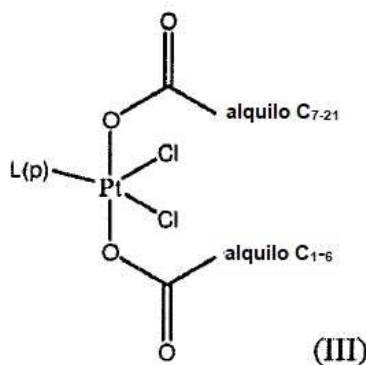
2. El compuesto según la reivindicación 1, siendo un compuesto de fórmula (II),



5

en donde L es como se define en la reivindicación 1 y p es el número de restos ligando, siendo 0, 1 o 2.

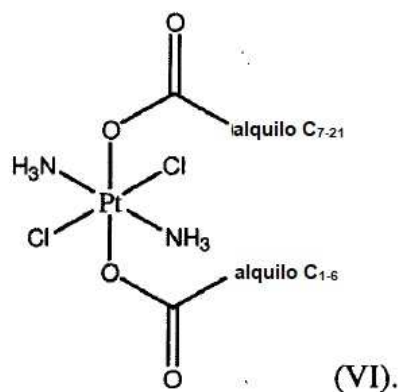
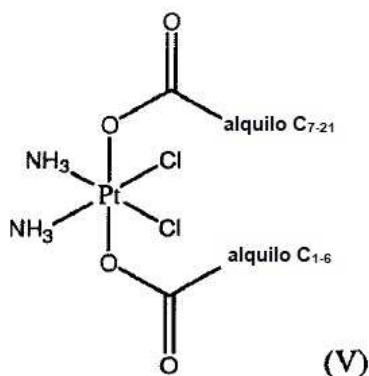
3. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionándose de compuestos de fórmulas (III) y (IV) y una forma salina de los mismos:



10 en donde L es independientemente como se define en la reivindicación 1 y p en la Fórmula (IV) es 0, 1 o 2.

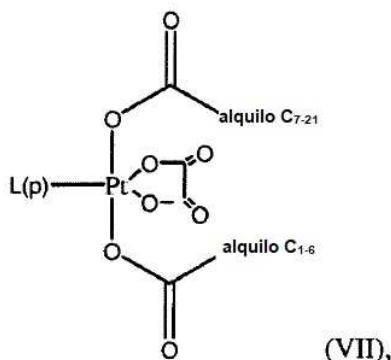
4. El compuesto según la reivindicación 2, en donde al menos 2 ligandos L son haluros y los otros ligandos L son aminas o al menos 2 ligandos L son aminas y los demás ligandos L son haluros.

5. El compuesto según la reivindicación 2 que es un compuesto de fórmula (V) o (VI):



15 6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde al menos un ligando L se selecciona de ligandos designados en la presente memoria L1 a L5.

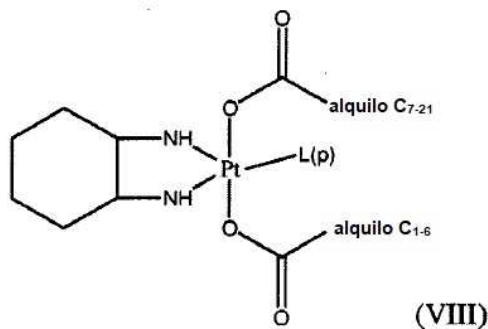
7. El compuesto según la reivindicación 6, en donde al menos un ligando L es L1 y el compuesto que tiene la fórmula (VII):



en donde L es como se define en la reivindicación 1 y p es el número de restos ligando, que es 0, 1 o 2.

5 8. El compuesto según la reivindicación 7, en donde L es  $-NR_1R_2$ , en donde  $R_1$  y  $R_2$  son como se definen en la reivindicación 1.

9. El compuesto según la reivindicación 6, en donde al menos un ligando L es L4 y el compuesto que tiene la fórmula (VIII):

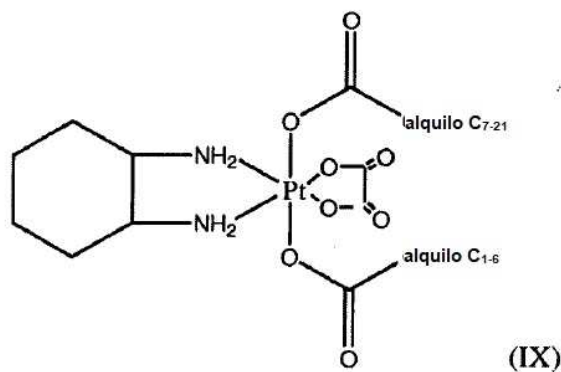


10 en donde L es como se define en la reivindicación 1 y p es el número de restos ligando, siendo 0, 1 o 2.

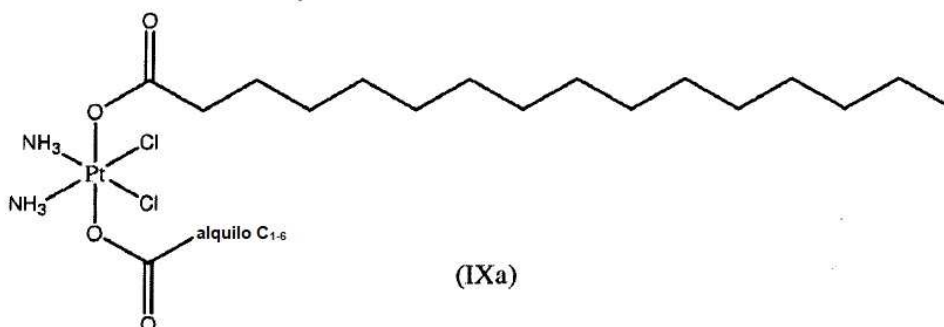
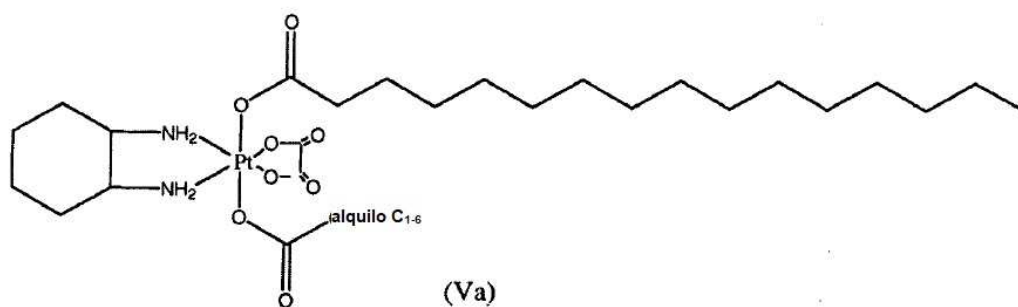
10. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, en donde al menos un ligando L distinto es un haluro o una amina, preferiblemente en donde n es 2, 3 o 4, al menos un ligando es L1 y al menos un ligando distinto es un haluro o una amina.

11. El compuesto según la reivindicación 6, en donde n es 2, un ligando es L1 y el otro ligando es L4.

15 12. El compuesto según la reivindicación 11, siendo un compuesto de fórmula (IX):

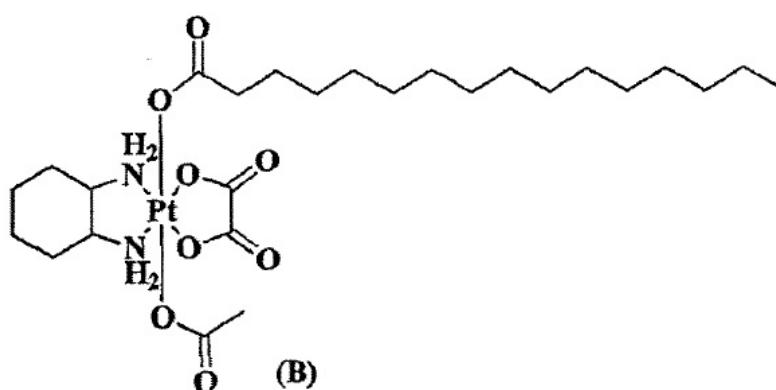


13. El compuesto según la reivindicación 1 que se selecciona de las fórmulas (Va) y (IXa):



en donde dicho alquilo C<sub>1-6</sub> en las fórmulas (Va) y (IXa) es preferiblemente metilo.

14. Un compuesto según la reivindicación 1 que es acetato de palmitato de oxaliplatino, representado por la siguiente fórmula (B):



5

15. Un nanotransportador que comprende al menos un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

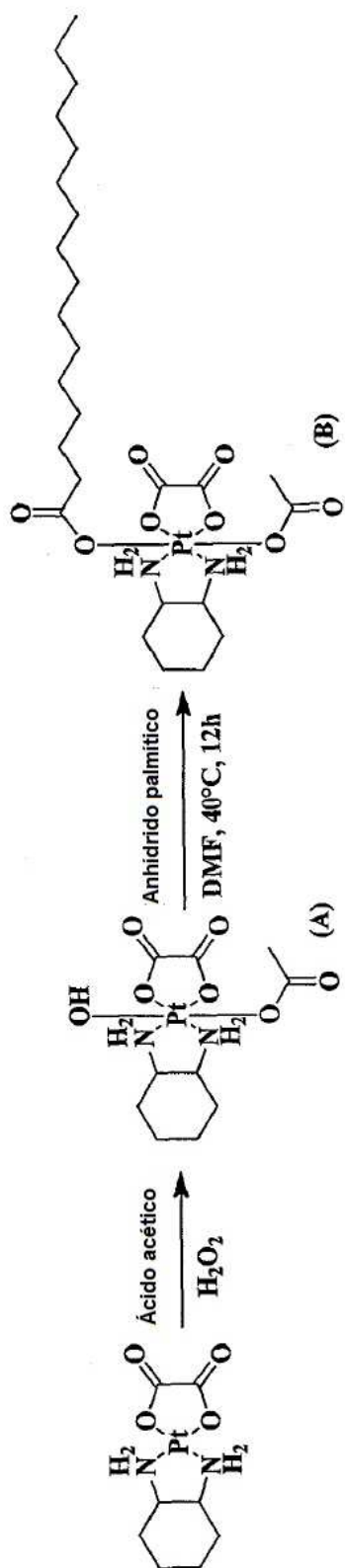


Fig. 1A

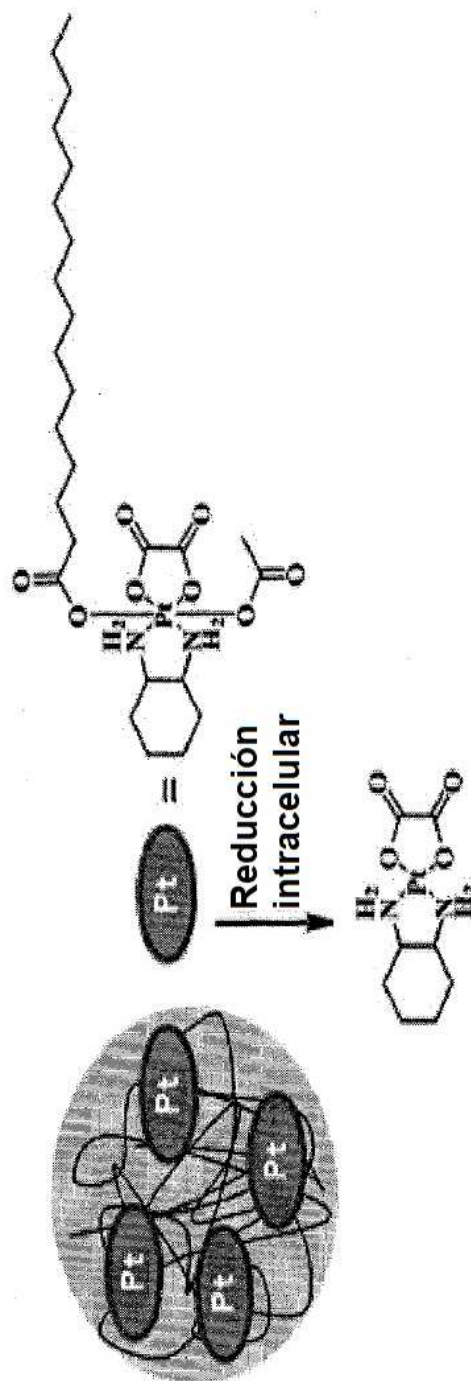


Fig. 1B

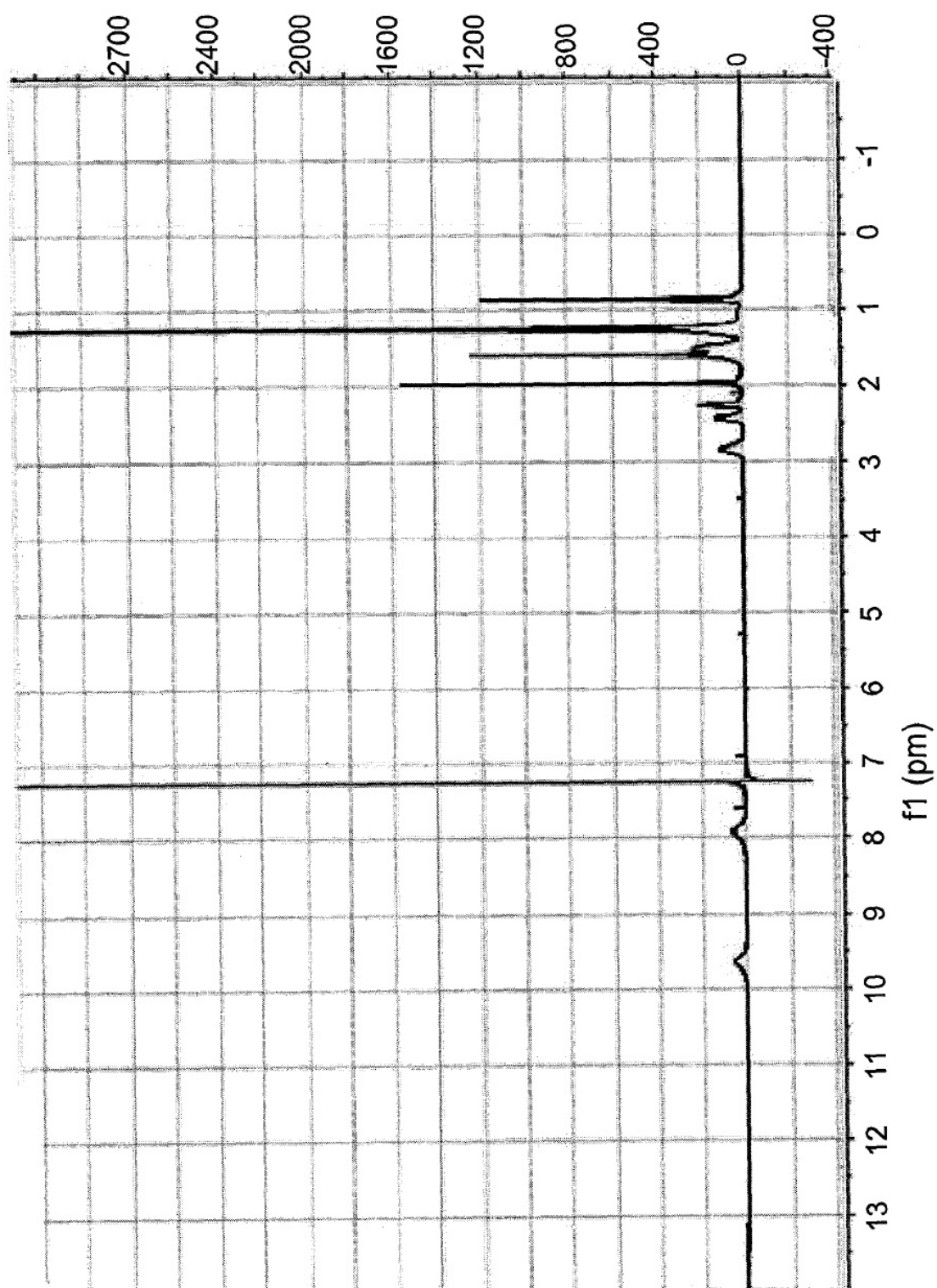


Fig. 2A

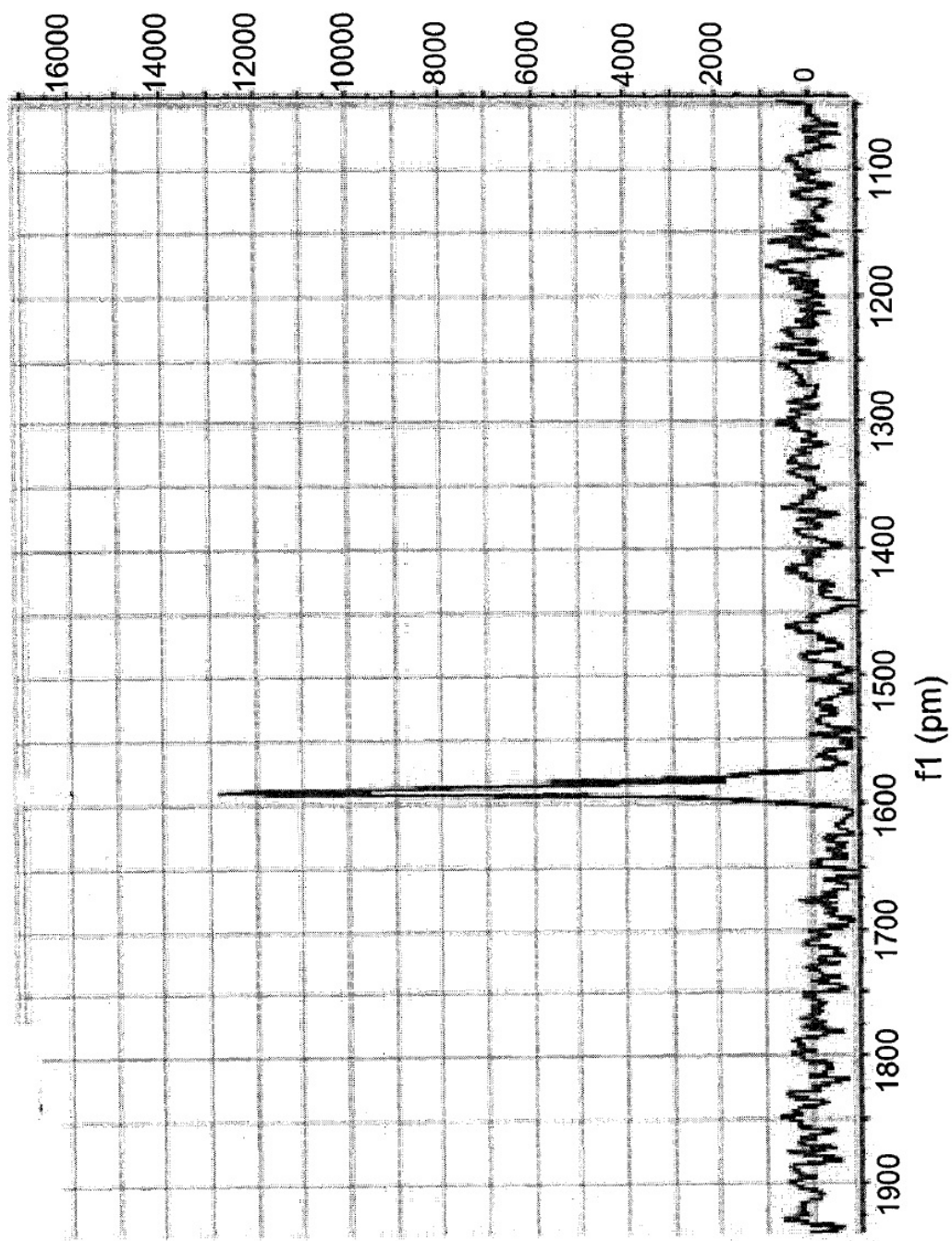


Fig. 2B

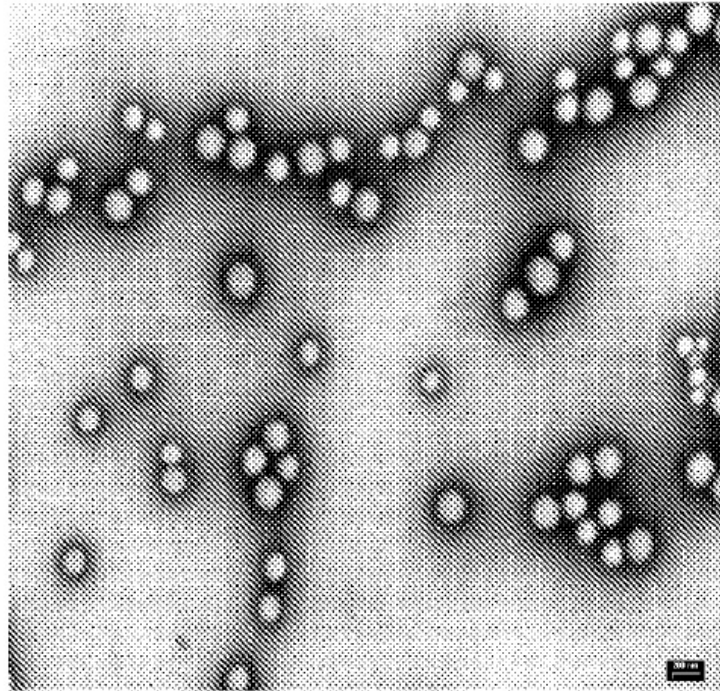


**Fig. 3A**

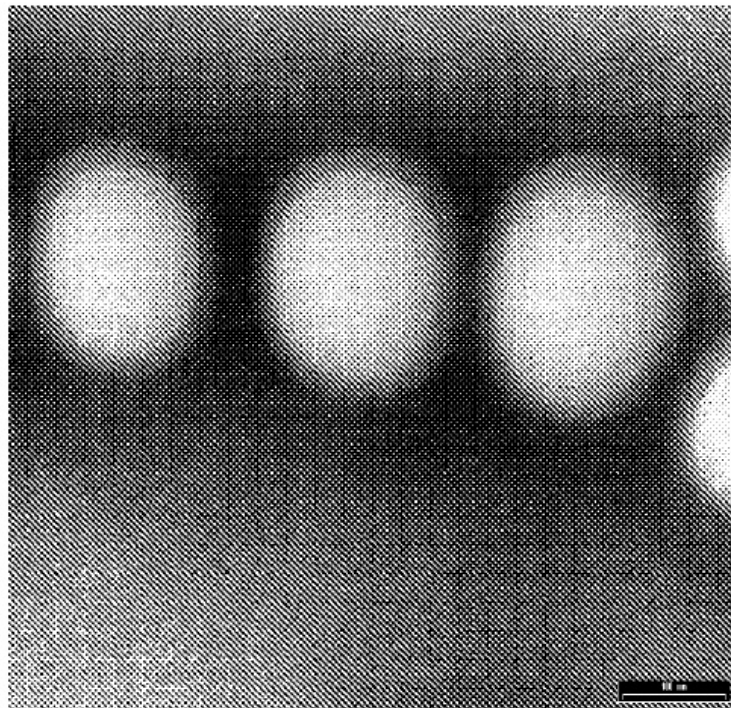


**Fig. 3B**

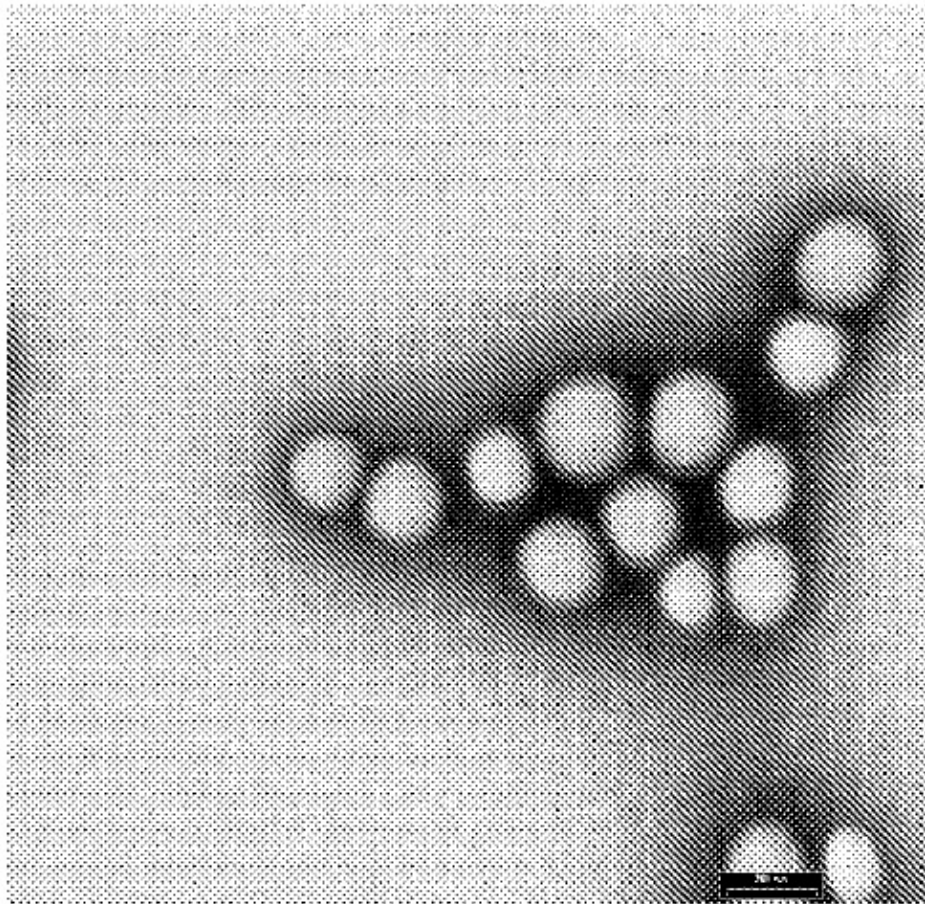


**Fig. 3C**

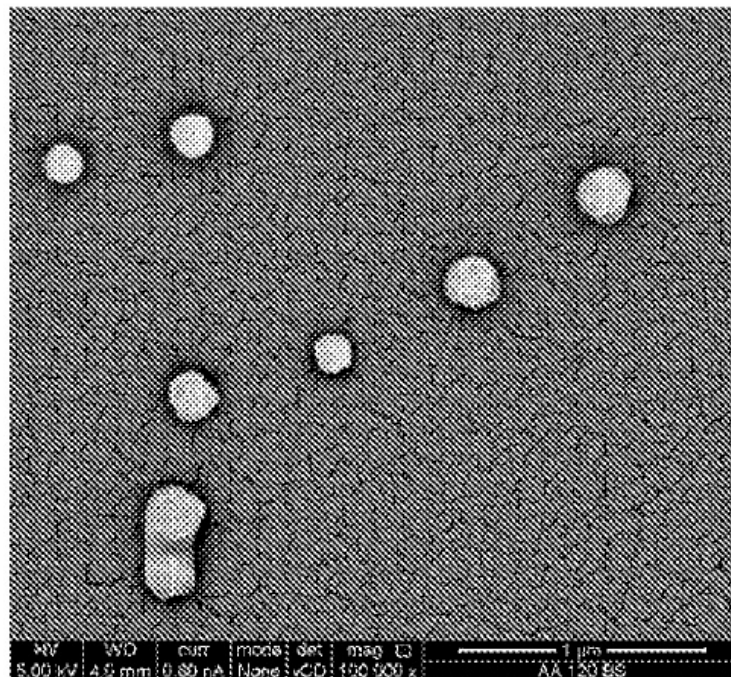


**Fig. 4A**

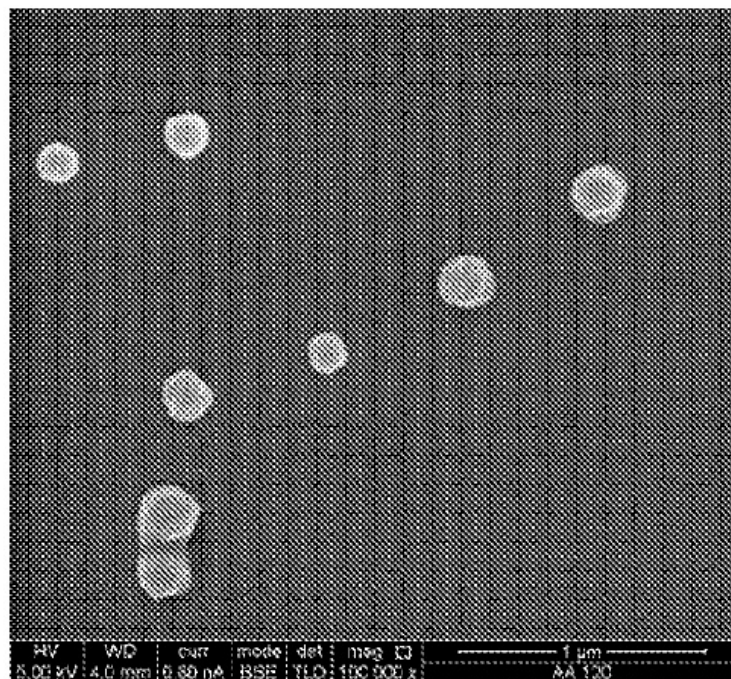


**Fig. 4B**

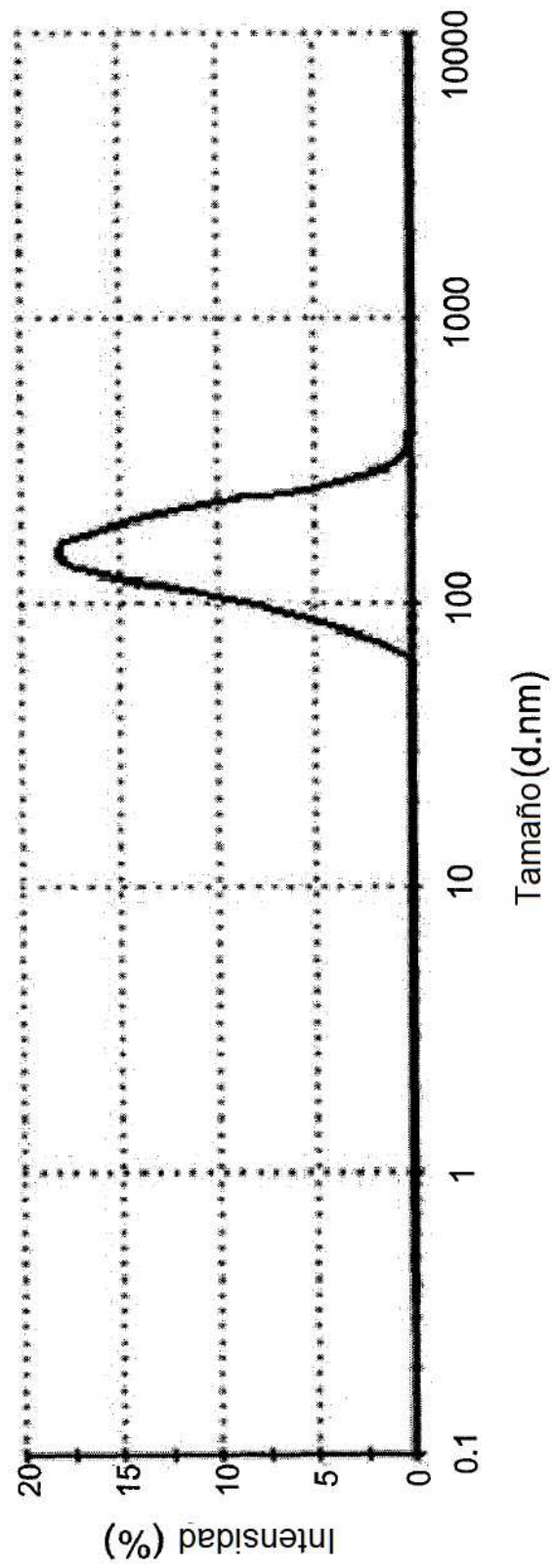
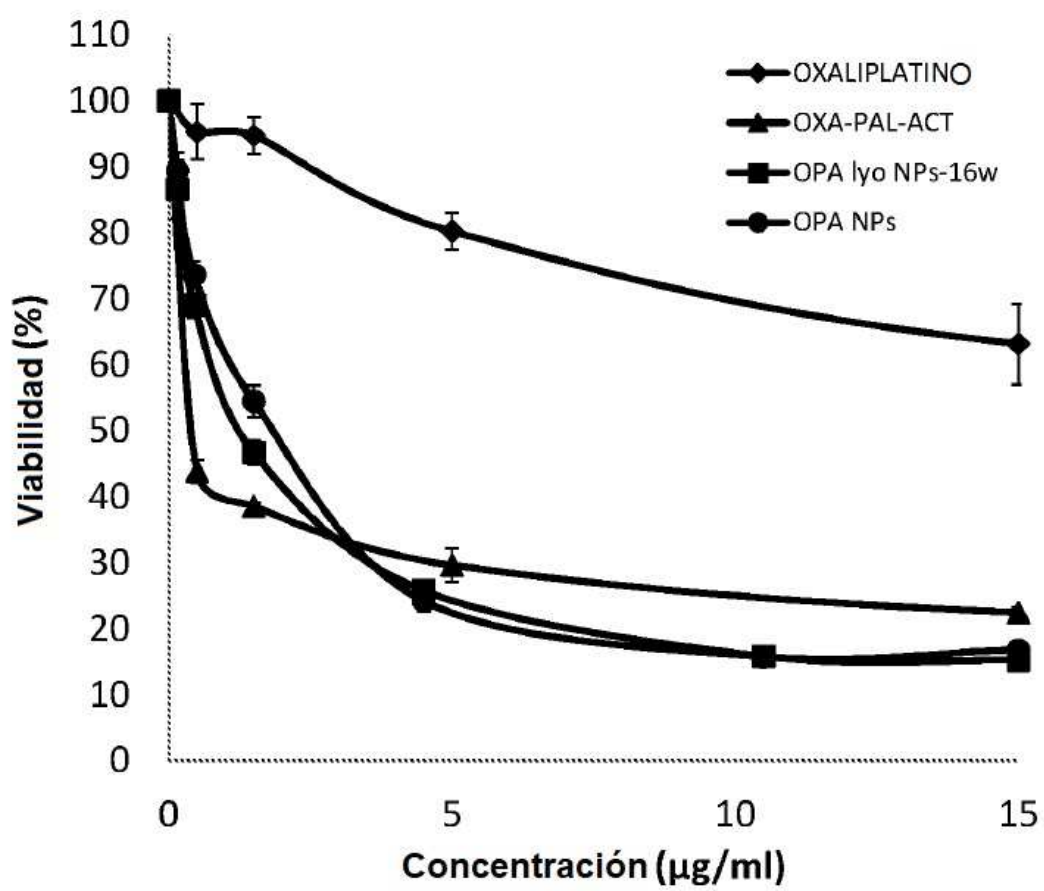
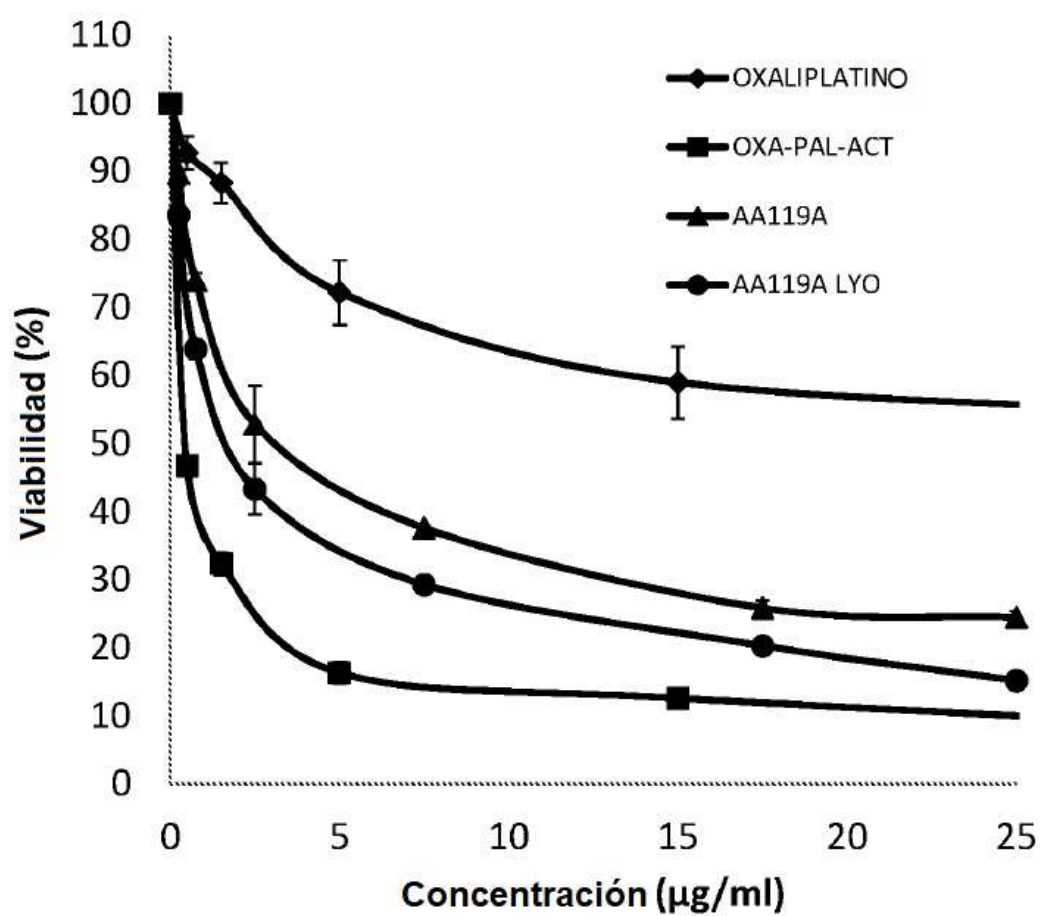
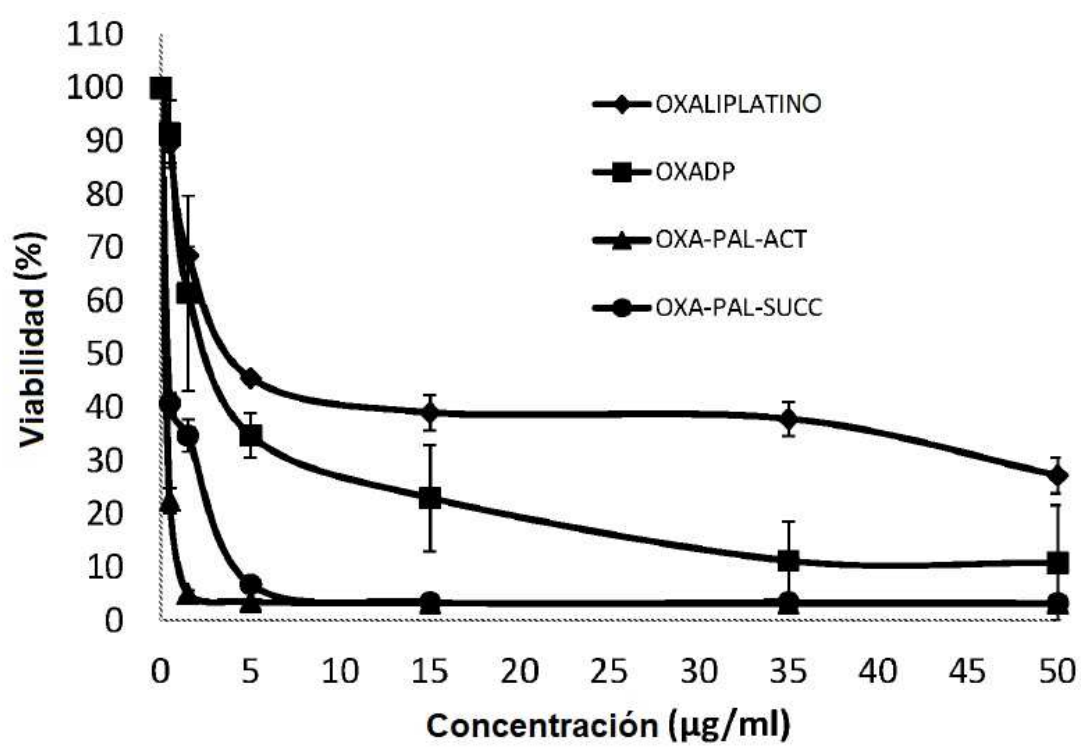


Fig. 5

**Fig. 6A**

**Fig. 6B**

**Fig. 7A**

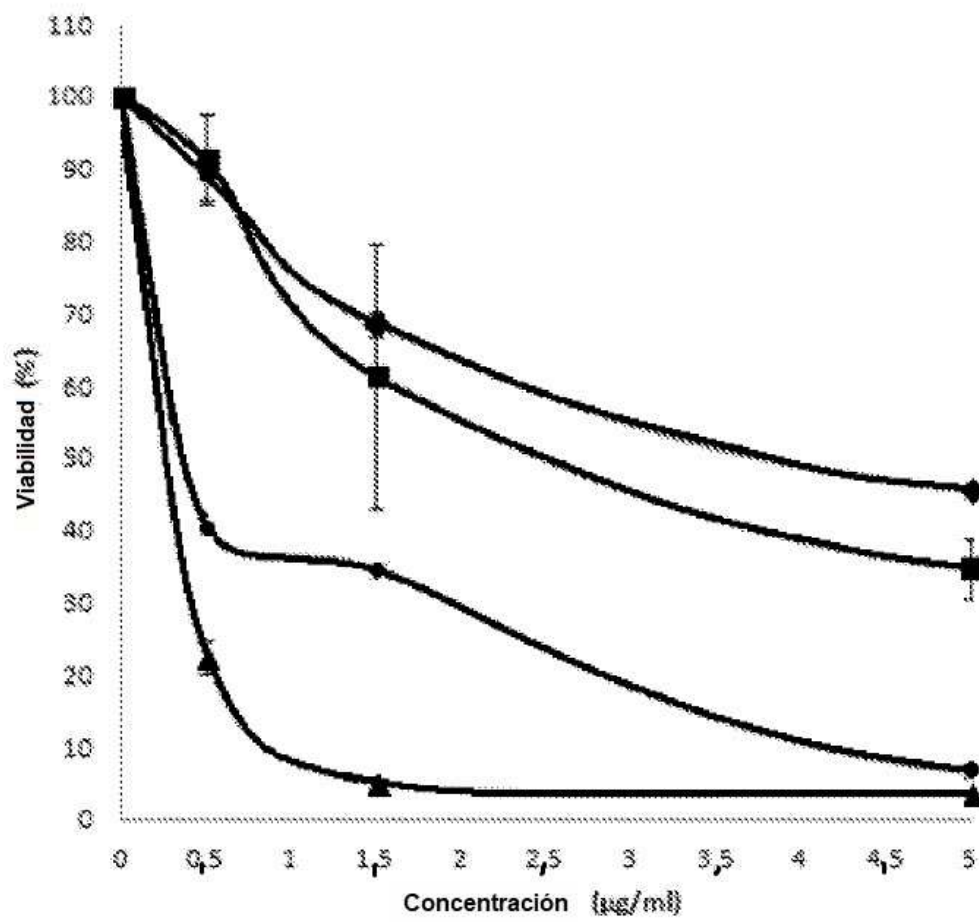
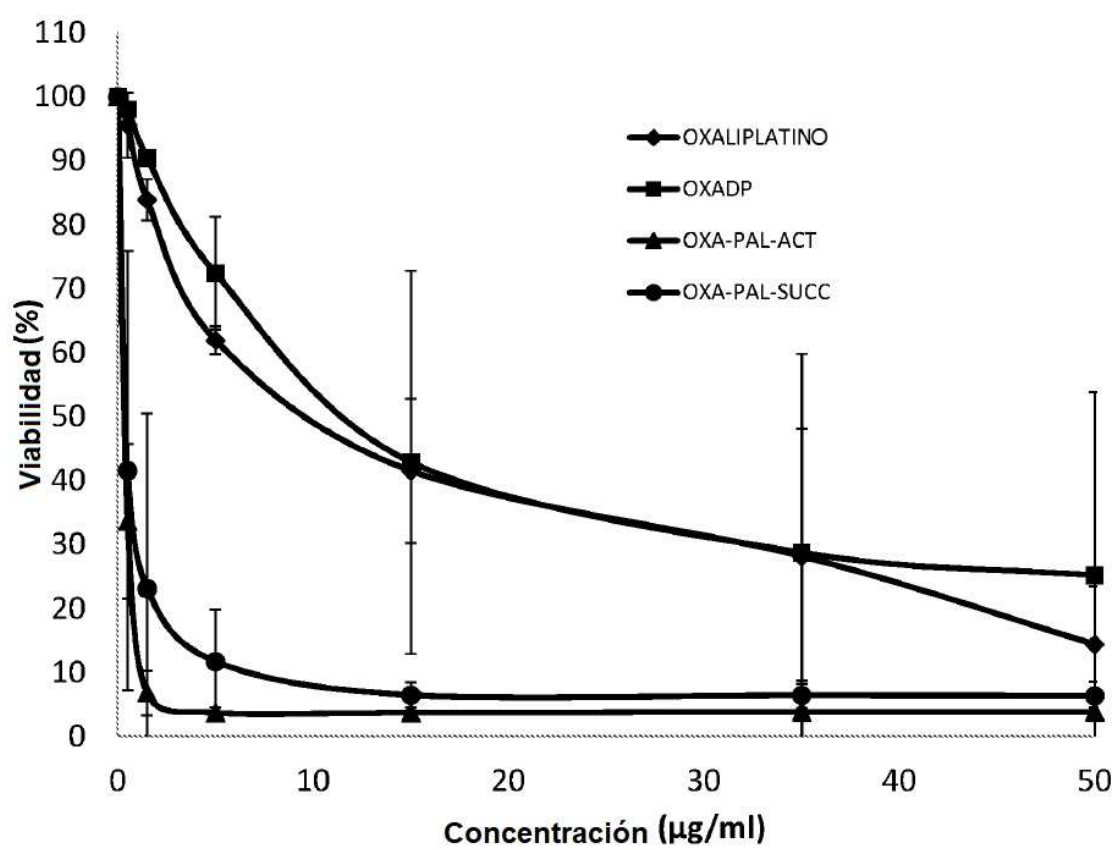
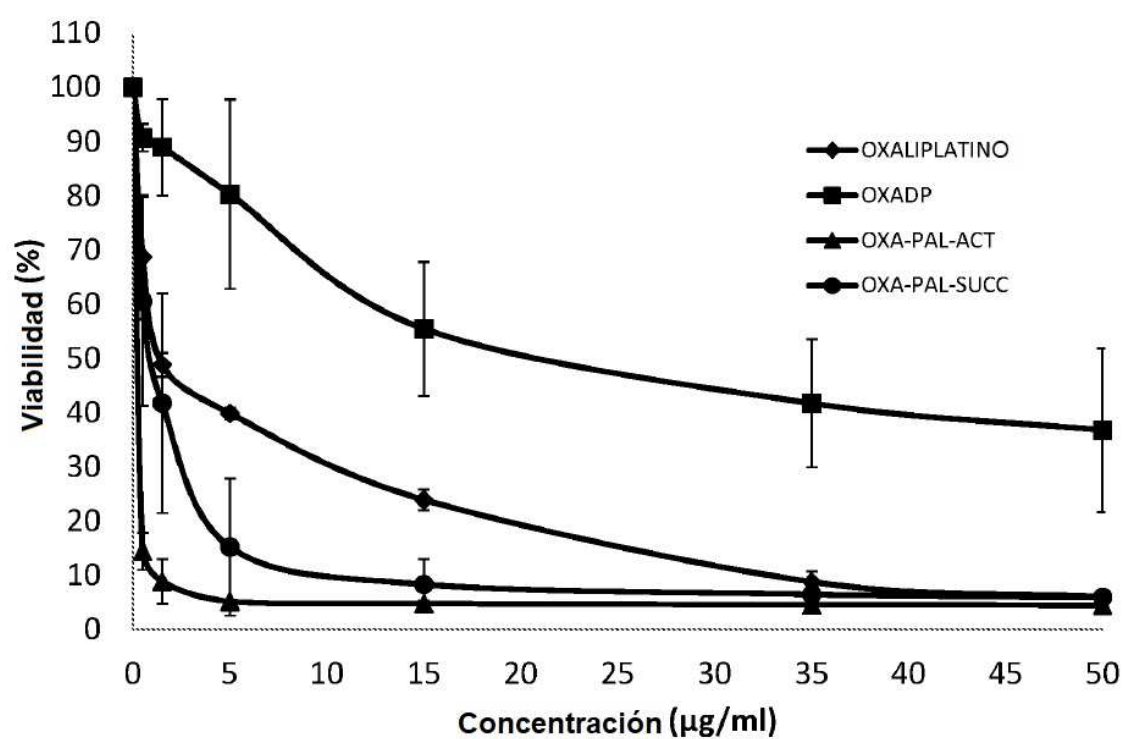
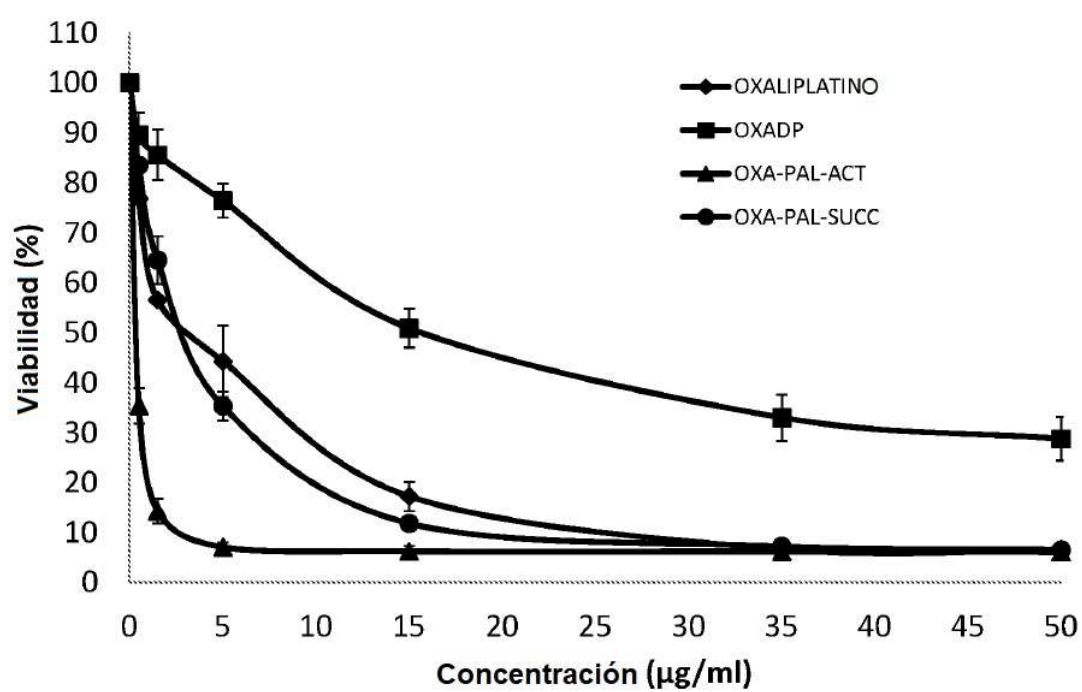
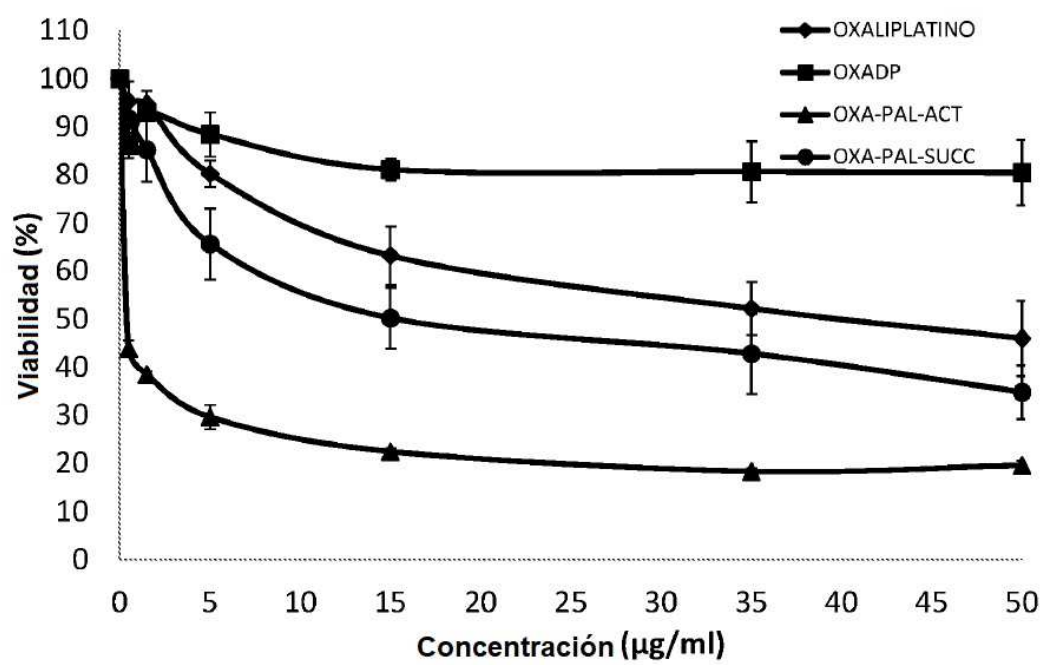


**Fig. 7B**

**Fig. 8A**

**Fig. 8B**

**Fig. 8C**

**Fig. 8D**

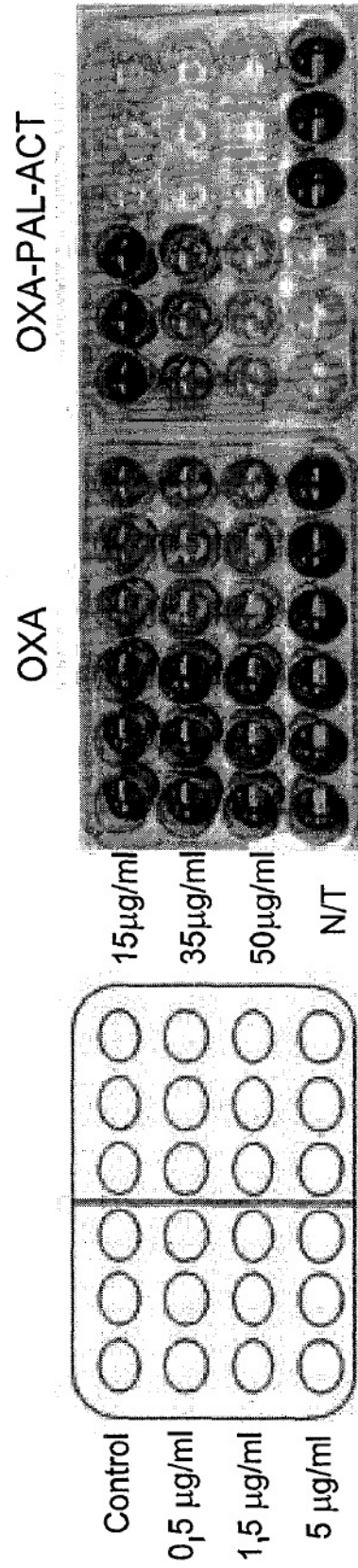
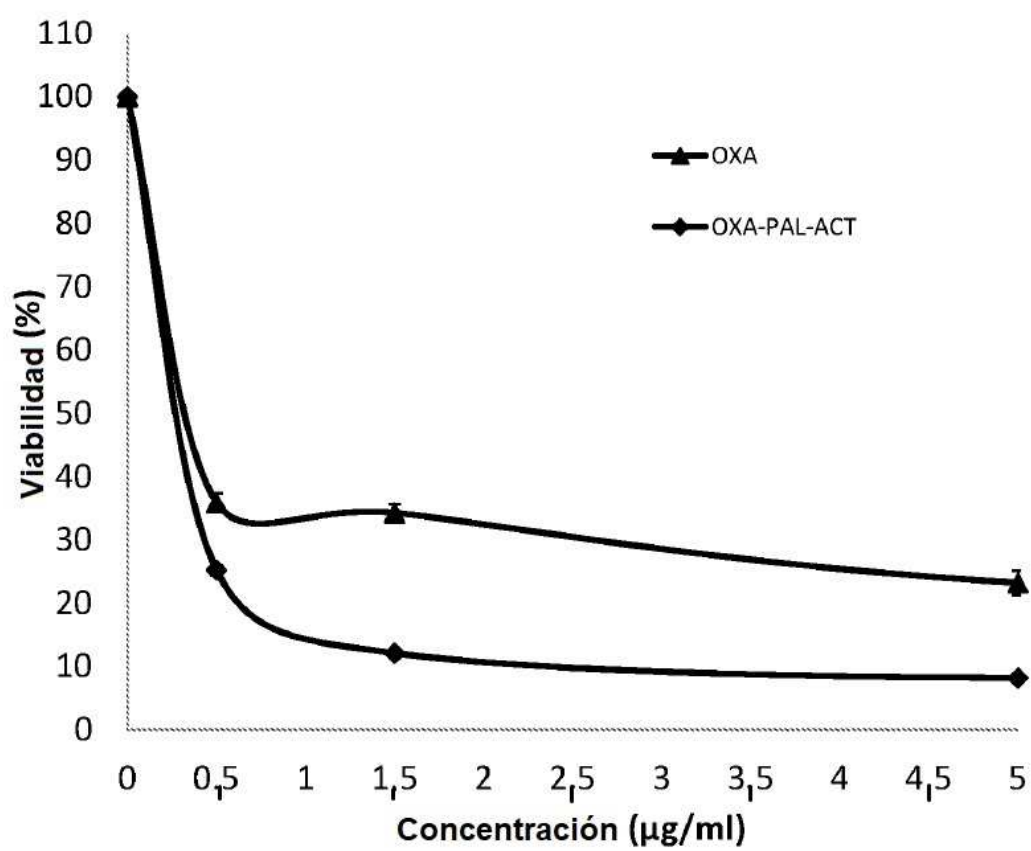


Fig. 9

**Fig. 10A**

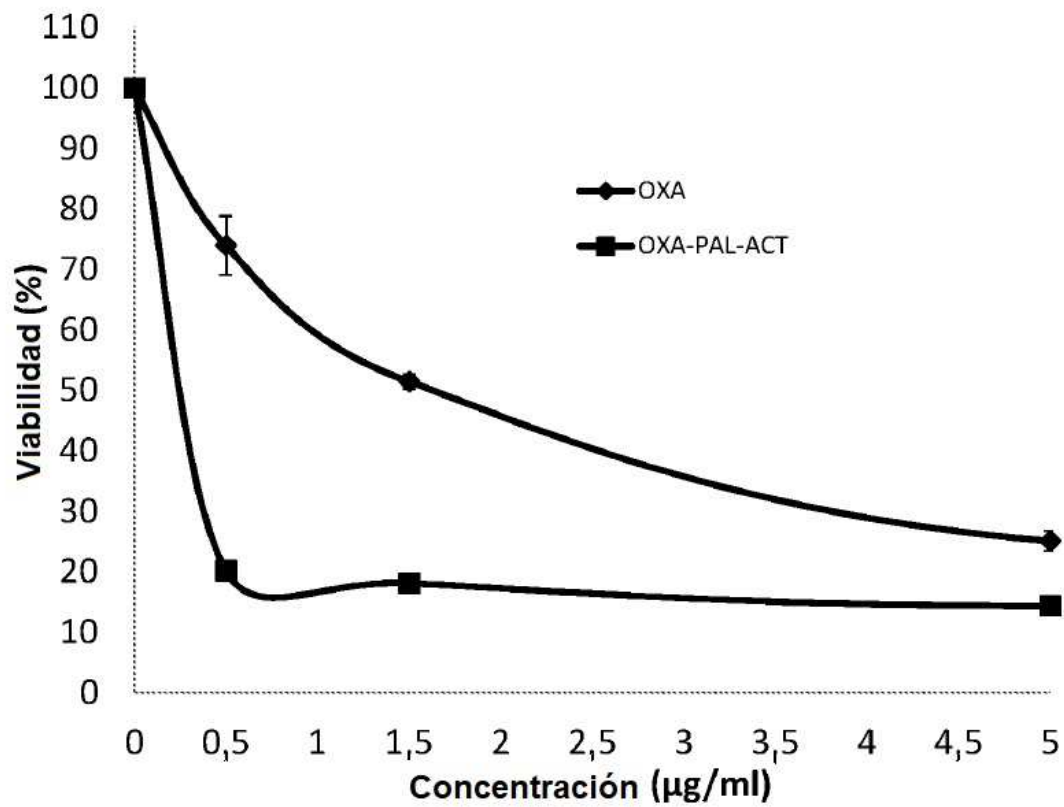


Fig. 10B

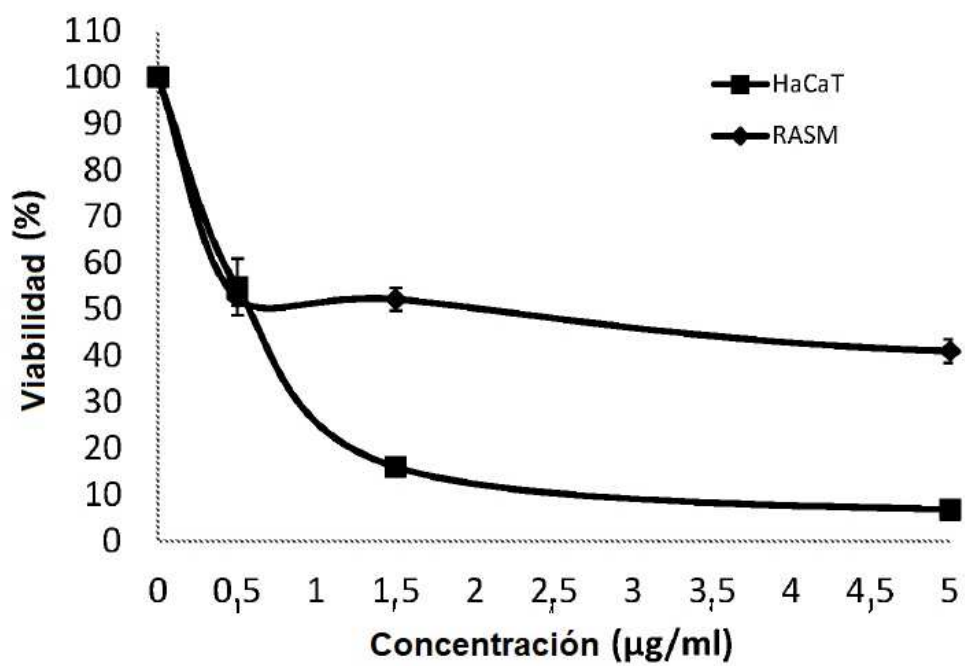


Fig. 11

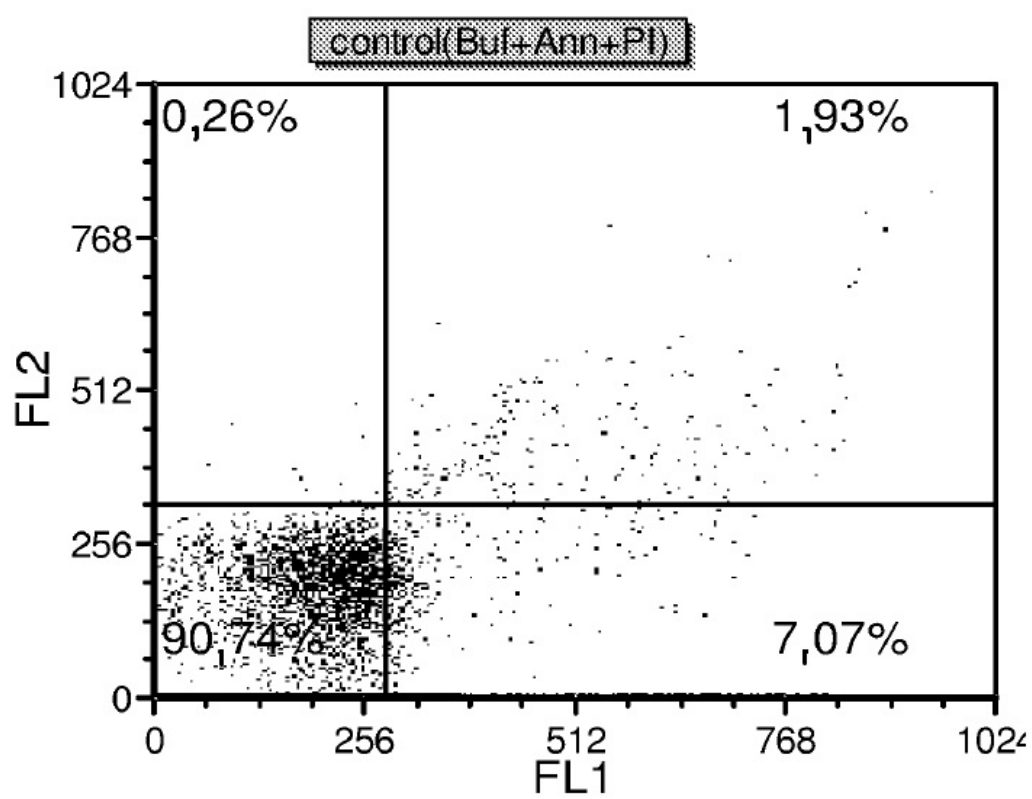


**Fig. 12A**

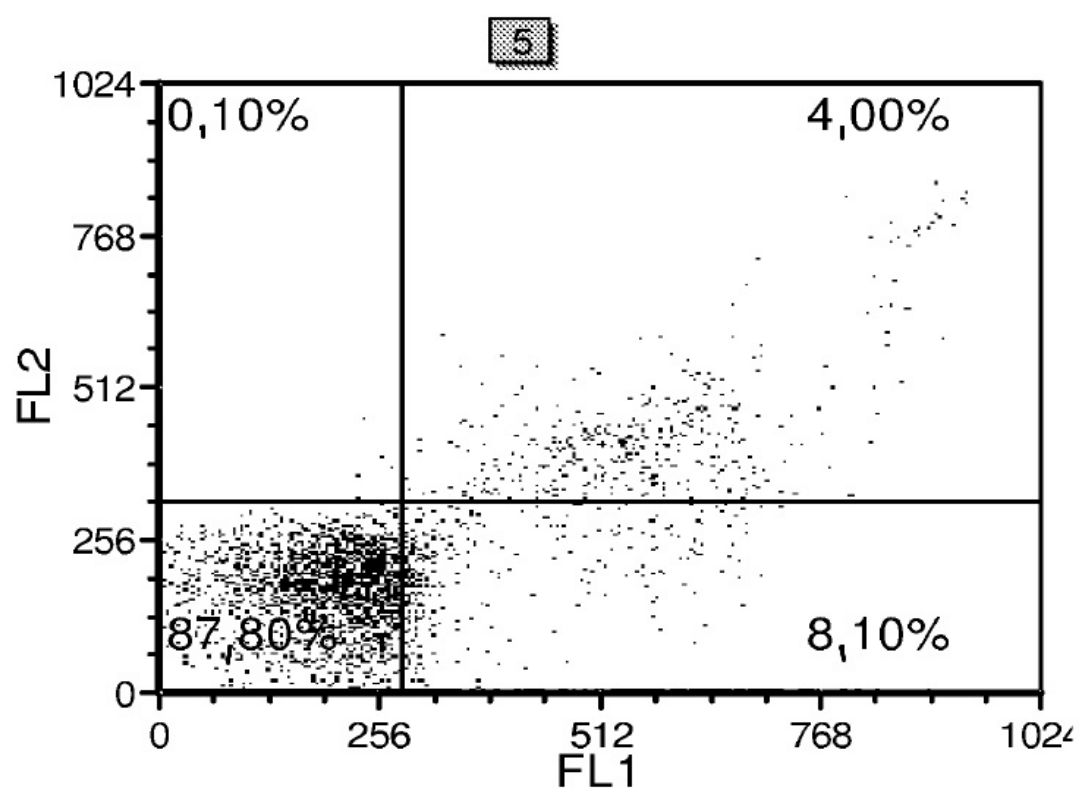


**Fig. 12B**

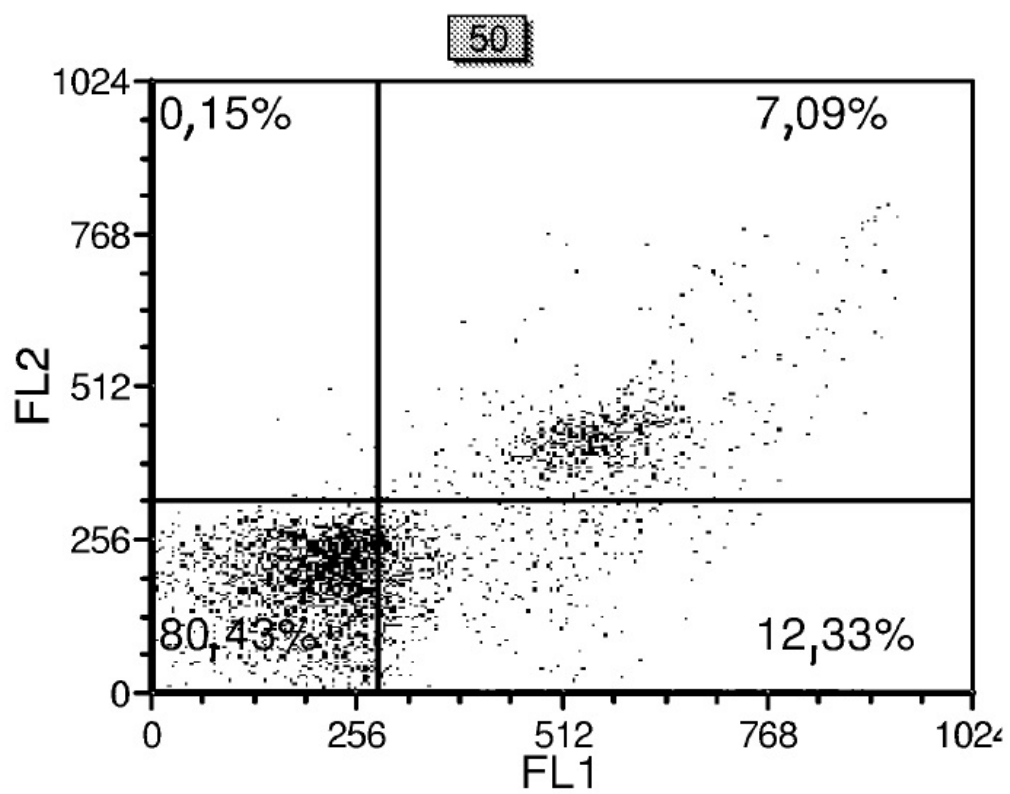


**Fig. 12C**

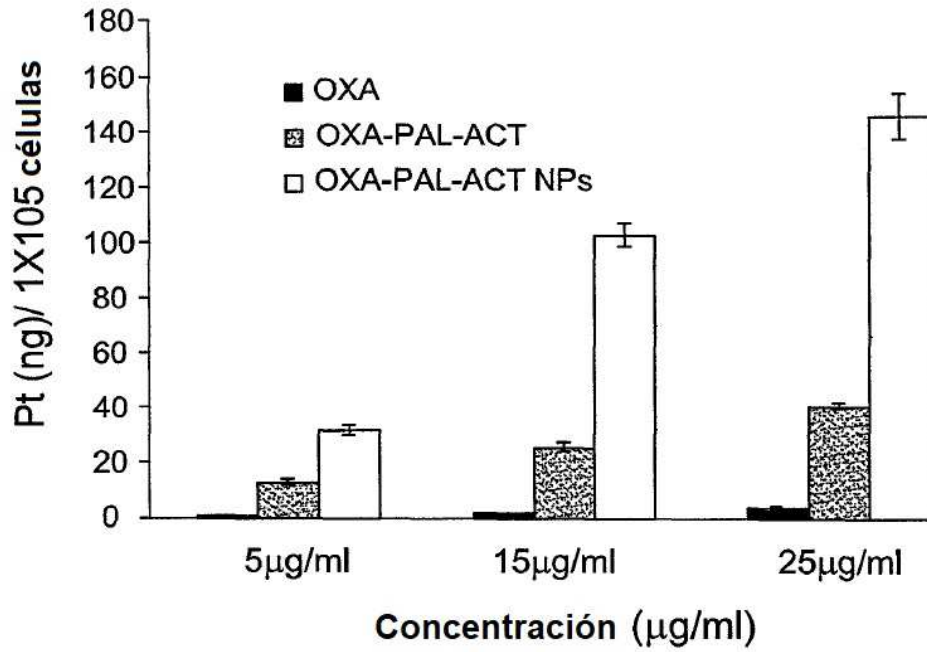


Fig. 13A

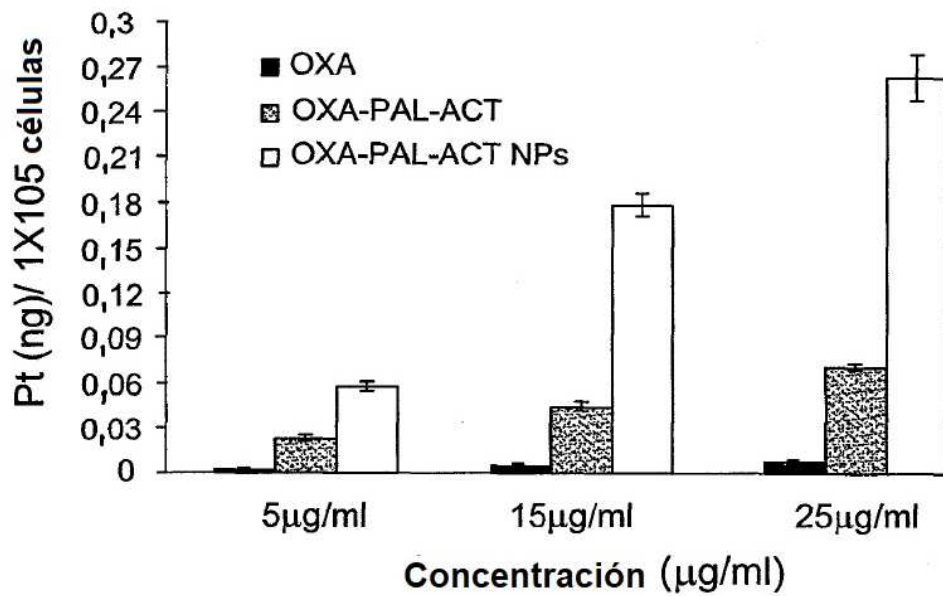


Fig. 13B

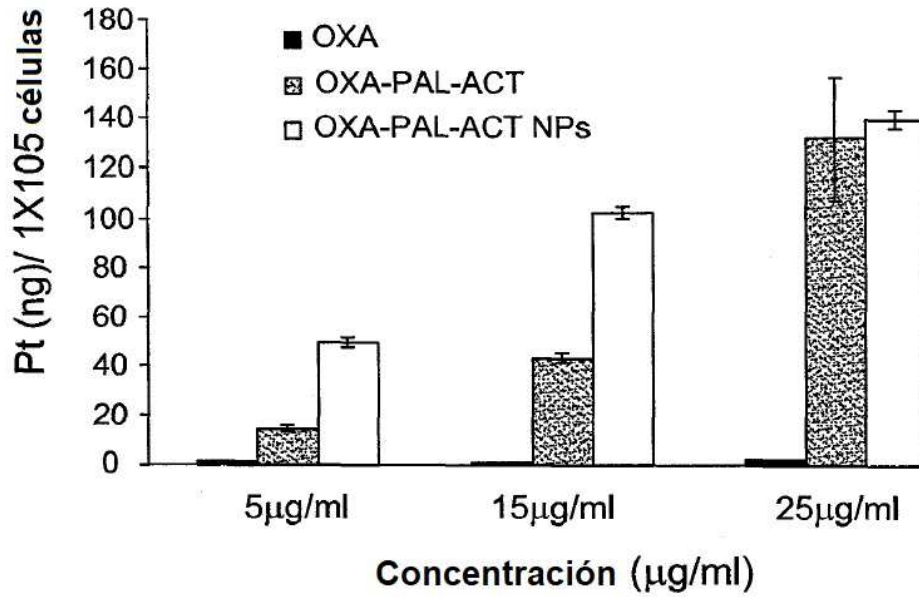


Fig. 14A

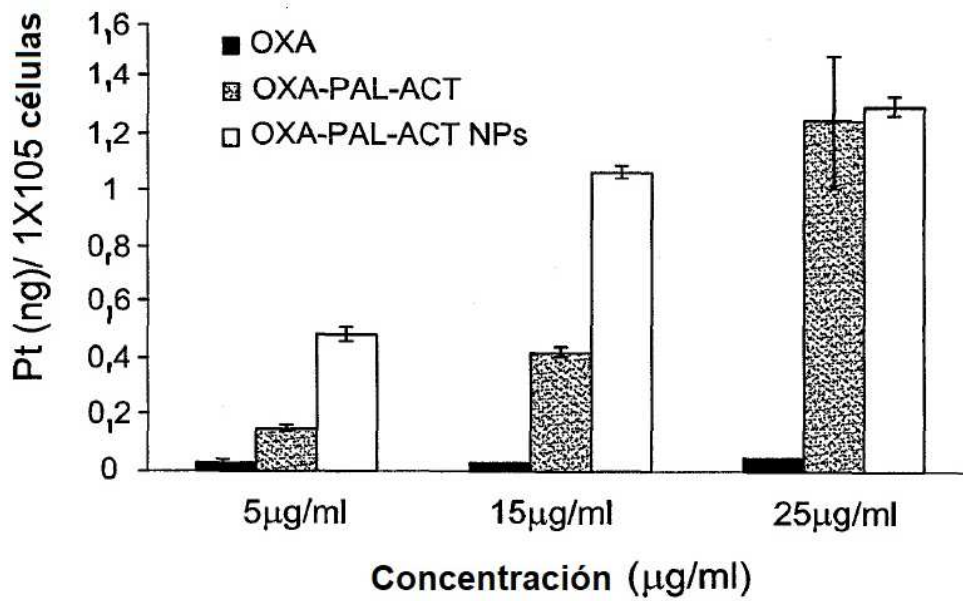
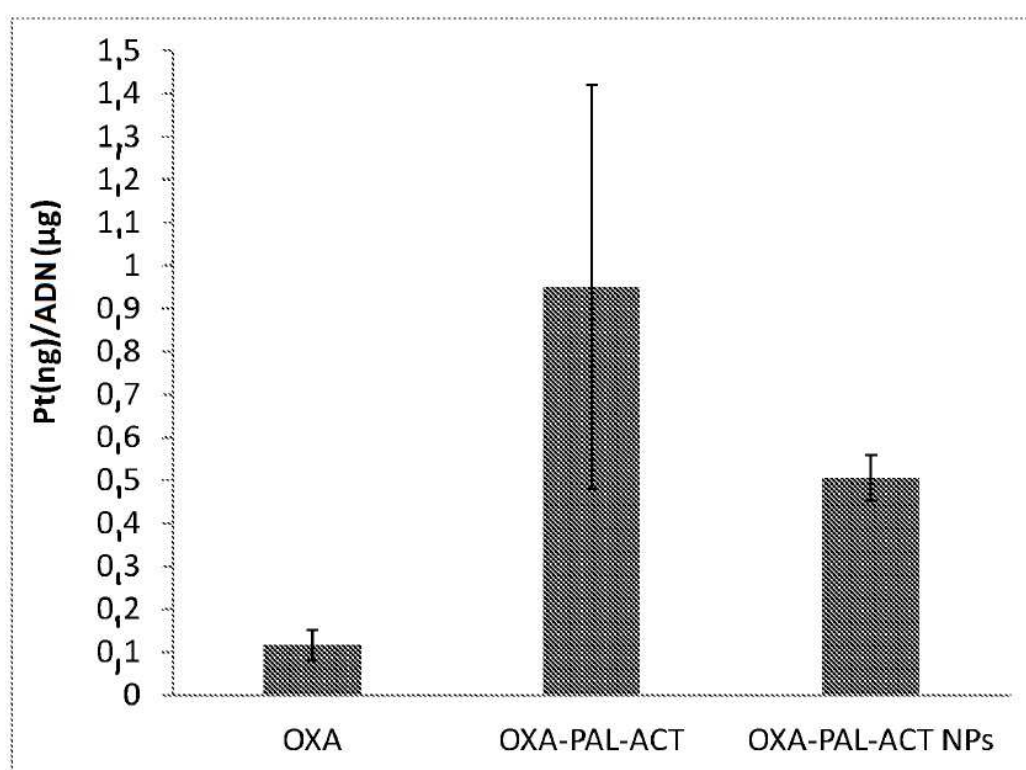
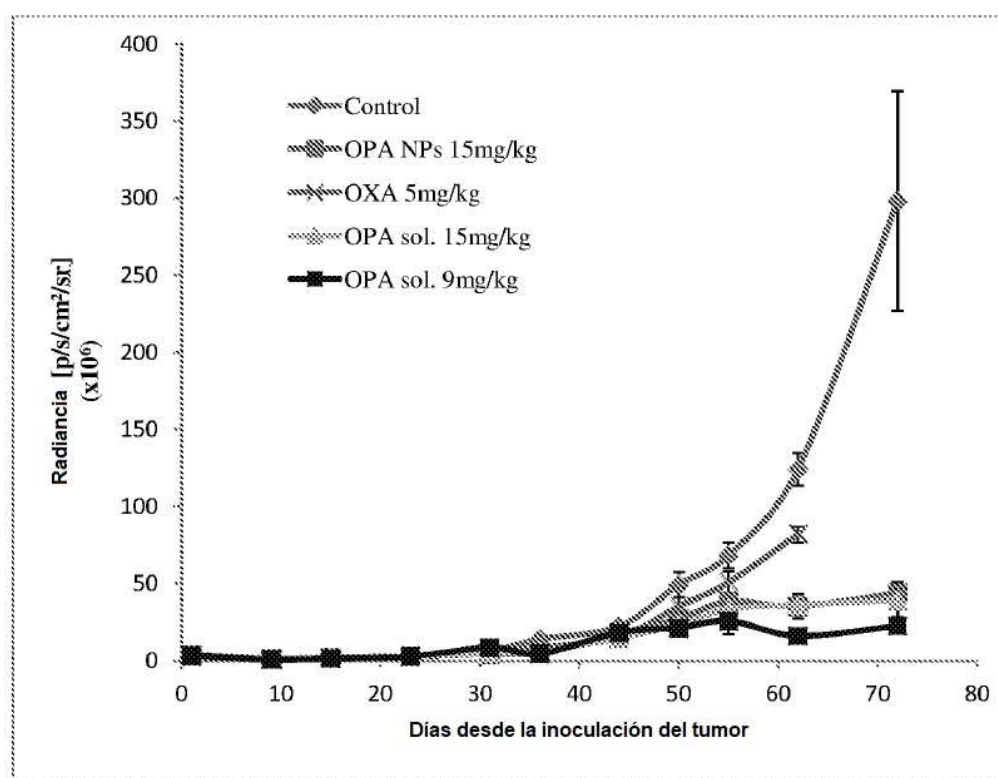


Fig. 14B

**Fig. 15**

**Fig. 16A**

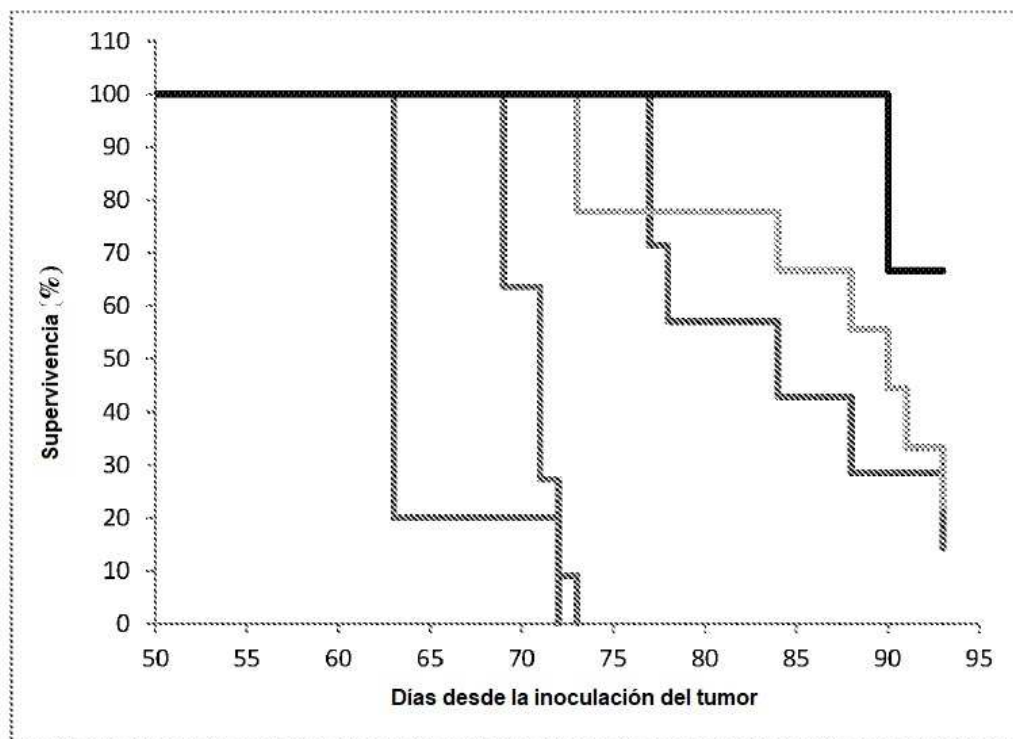


**Fig. 16B**

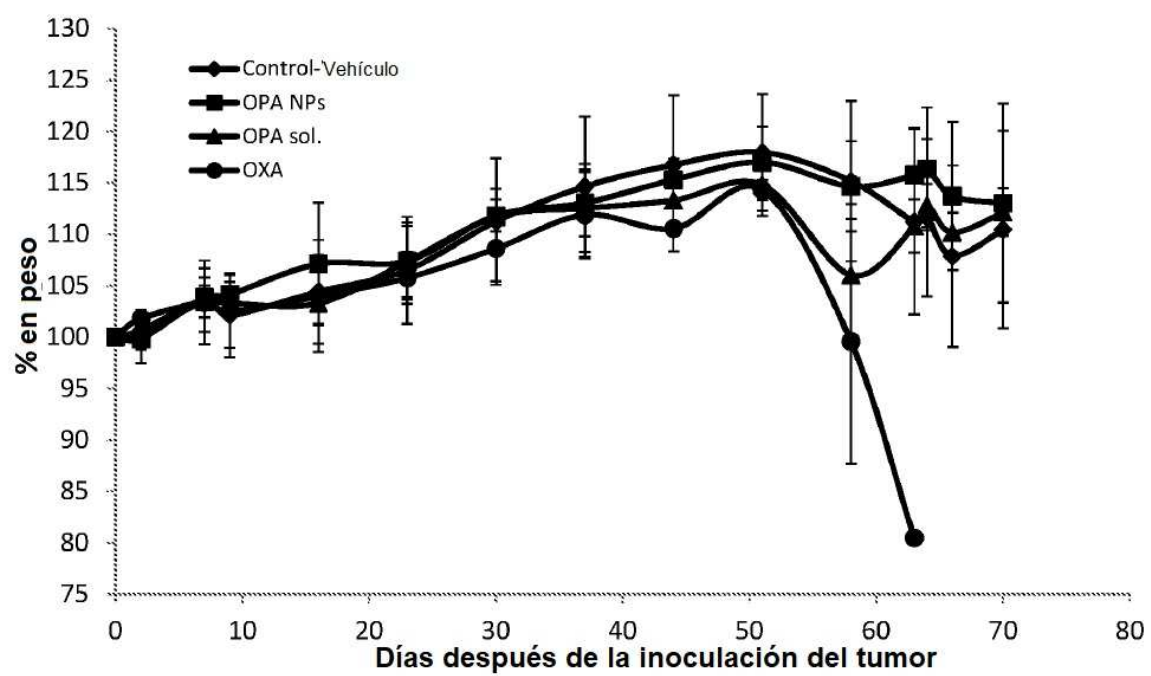


Fig. 17

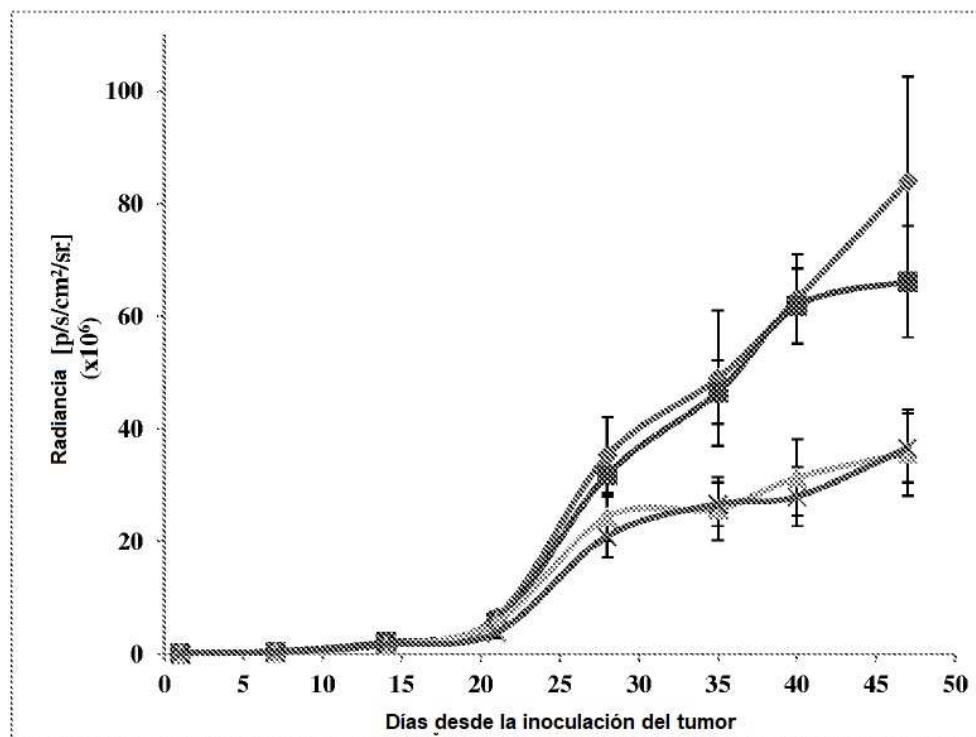


**Fig. 18A**

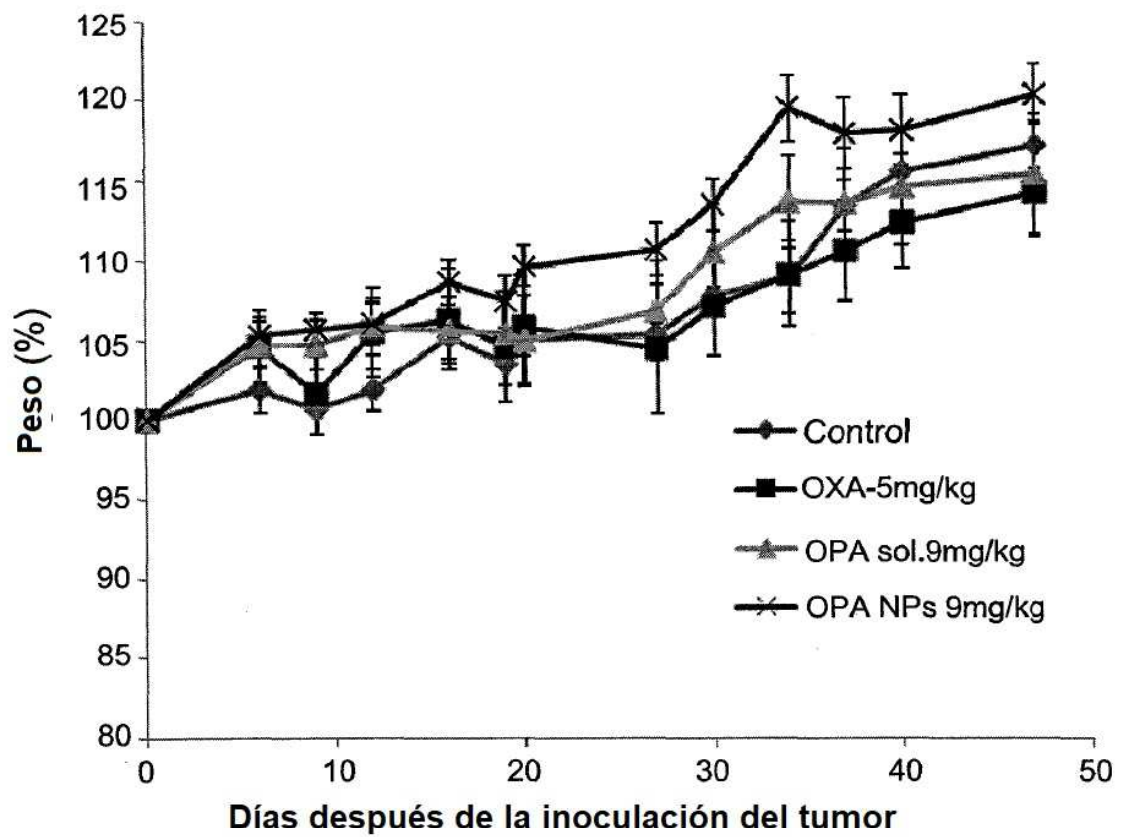


Fig. 18B

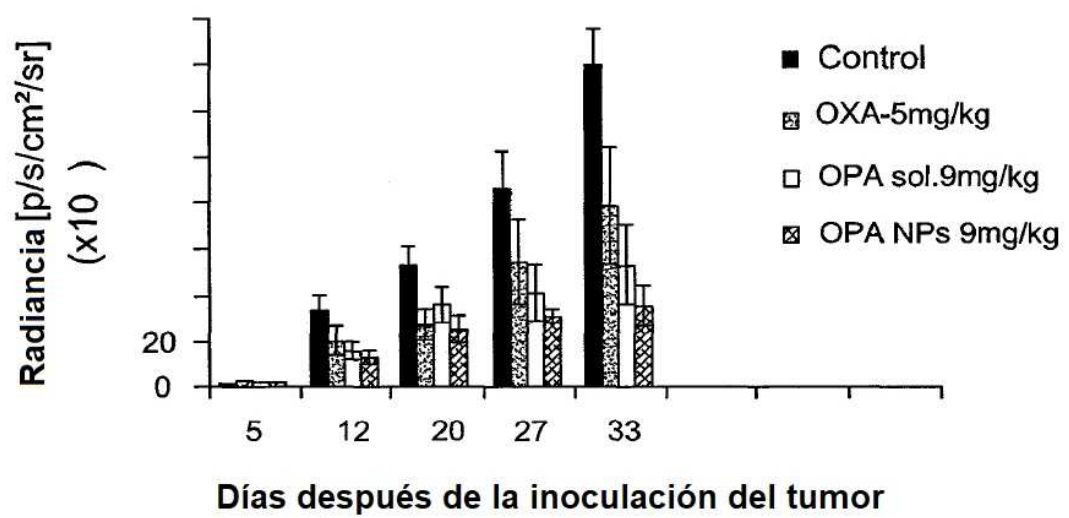


Fig. 19