



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 307 253**

51 Int. Cl.:
C07D 311/94 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **06010324 .9**
86 Fecha de presentación : **16.09.2002**
87 Número de publicación de la solicitud: **1686124**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.08.2006**

54 Título: **Análogos de la wortmannina y procedimientos de uso de los mismos.**

30 Prioridad: **14.09.2001 US 322139 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2008

73 Titular/es: **The Arizona Board of Regents on behalf
of the University of Arizona
888 N. Euclid Avenue, Room 204
P.O. Box 210158
Tucson, Arizona 85721-0158, US
University of Pittsburgh**

72 Inventor/es: **Wipf, Peter y
Powis, Garth**

74 Agente: **González Palmero, Fe**

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

Análogos de la wortmannina y procedimientos de uso de los mismos.

5 Antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a análogos de la wortmannina y tiene aplicación a procedimientos de uso de estos derivados para inhibir la actividad PI-3-quinasa y para tratar ciertos tumores malignos. La wortmannina es un potente inhibidor conocido de la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI-3-quinasa) y un agente anti-cancerígeno. La wortmannina es un compuesto de origen natural aislado a partir de caldos de cultivo del *Penicillium wortmannin* y tiene la estructura básica mostrada en la patente de EE.UU. N° 5.480.906.

Una de las desventajas de la wortmannina es su toxicidad para criaturas vivas. Incluso en dosis bajas, la wortmannina en forma pura a menudo es letal para animales de laboratorio.

Norman y col. (J. Med. Chem. (1996) 39: 1106-1111) investigaron ciertos análogos de la wortmannina por su capacidad para inhibir la actividad de la fosfatidilinositol-3-quinasa. No obstante, la sustitución de la posición C-21 del anillo furano no dio lugar a compuestos muy activos.

El documento GB-A-2302021 describe diversos análogos de la wortmannina basados en el trabajo descrito por Norman y col. (*supra*).

Haefliger y col. (Helvetica Chimica Acta (1975) 58: 1620 - 1628) describen la producción de otros análogos de la wortmannina pero no describen su actividad como inhibidores de la actividad fosfatidilinositol-3-quinasa.

25 Resumen de la invención

La invención proporciona nuevos análogos de la wortmannina así como procedimientos para inhibir el cáncer en un sujeto que comprende la administración a un sujeto de una dosis farmacéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado del grupo constituido por aquellos análogos de la wortmannina descritos en la Figura 1.

En otra forma de realización, la invención proporciona análogos de la wortmannina útiles en la inhibición de la restenosis en un sujeto. La invención está constituida por cánulas intraluminales u otros dispositivos tales como implantes bioprostéticos que pueden estar recubiertos con los análogos de la wortmannina. La presente invención también se refiere a procedimientos que comprenden la administración de análogos de la wortmannina a un sujeto en una dosis de compuesto farmacéuticamente eficaz. Los análogos de la wortmannina pueden ser los DJM2-167, como se muestra en la Figura 1.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 ilustra la estructura del análogo de la wortmannina DJM2-167 de acuerdo con la presente invención;

Fig. 2 ilustra la estructura de ciertas otras estructuras análogas de la wortmannina;

Fig. 3 ilustra la estructura de ciertas otras estructuras análogas de la wortmannina;

Fig. 4 ilustra el efecto de la wortmannina y sus análogos (véase Fig. 2) frente al cáncer de próstata PC-3 en humanos;

Fig. 5 ilustra el efecto de la wortmannina y sus análogos frente al cáncer de colon HT-29 en humanos;

Fig. 6 ilustra el efecto de los análogos de la wortmannina frente al tumor de ovarios OVCAR-3 en humanos;

Fig. 7 ilustra el efecto de la pérdida de peso por la wortmannina y sus análogos;

Fig. 8 ilustra la actividad antitumoral de la wortmannina;

Fig. 9 es un resumen de los datos para la wortmannina y sus análogos de la wortmannina mostrados en las Figs. 1 a 3;

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere al descubrimiento de que los análogos de la wortmannina son útiles en la inhibición del cáncer. La Figura 1 ilustra la estructura específica del análogo de la wortmannina DJM2-167 de acuerdo con la presente invención. La Figura 2 ilustra ciertos otros análogos de la wortmannina y la Figura 3 ilustra ciertos otros análogos de la wortmannina.

La producción biosintética de wortmannina es muy conocida en la materia y los análogos se sintetizan a partir de la wortmannina. La patente de EE.UU. N° 5.480.906, que se incorpora en su totalidad en el presente documento como referencia, describe esquemas sintéticos típicos. Normalmente, la wortmannina se produce mediante la fermentación

de uno cualquiera de una serie de microorganismos descritos previamente tales como *Talaromyces wortmannii* y *Penicillium wortmannii*, *Myrothecium roridum*, y *Fusarium*. Después de la fermentación, la wortmannina se extrae y se purifica mediante procedimientos conocidos. Preferentemente, la wortmannina se sintetiza a través de microorganismos y se aísla en forma sustancialmente pura a partir de un cultivo de fermentación (ese cultivo de fermentación se identifica como A24603.1).

El cultivo de la cepa en condiciones aeróbicas sumergidas en un medio de cultivo adecuado hasta que se produzca una cantidad recuperable de wortmannina produce wortmannina. La wortmannina se puede recuperar usando diversos procedimientos de aislamiento y purificación conocidos en la materia.

El medio usado para crecer el cultivo puede ser uno cualquiera de una serie de medios. No obstante, por la rentabilidad en la producción, el rendimiento óptimo y la facilidad de aislamiento del producto, las fuentes de carbono preferidas en fermentación a gran escala son glucosa y féculas solubles tales como fécula de maíz. También se puede usar maltosa, ribosa, xilosa, fructosa, galactosa, manosa, manitol, dextrina de patata, oleato de metilo, aceites tales como aceite de soja y similares.

Las fuentes de nitrógeno preferidas son caseína hidrolizada enzimáticamente y harina de semilla de algodón, aunque también se puede usar leche pepsinizada, harina de soja digerida, harina de pescado, aguas de maceración concentradas, extracto de levadura, caseína hidrolizada con ácidos, extracto de carne de vaca y similares.

Entre las sales inorgánicas nutrientes que se pueden incorporar al medio de cultivo están las sales solubles habituales capaces de generar iones de calcio, magnesio, sodio, amonio, cloruro, carbonato, sulfato, nitrato, cinc y similares. Los oligoelementos esenciales necesarios para el crecimiento y desarrollo del organismo también se deben incluir en el medio de cultivo. Esos oligoelementos normalmente se encuentran en forma de impurezas en otros sustituyentes del medio en cantidades suficientes para cumplir los requisitos de crecimiento del organismo.

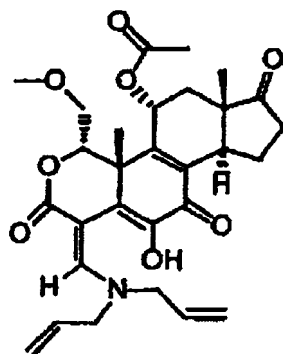
Para la producción de cantidades sustanciales de wortmannina, se prefiere la fermentación aeróbica sumergida en biorreactores agitados. Se pueden obtener pequeñas cantidades de wortmannina mediante cultivo en un matraz agitado. Debido al retraso de tiempo en la producción asociado normalmente a la inoculación en grandes biorreactores con la forma en espora del organismo, es preferible usar el inóculo vegetativo. El inóculo vegetativo se prepara inoculando un pequeño volumen de medio de cultivo con la forma en espora o fragmentos de micelio del organismo para obtener un cultivo fresco de crecimiento activo del organismo. El medio del inóculo vegetativo puede ser el mismo que aquél usado para fermentaciones más grandes, pero también pueden ser adecuados otros medios.

Después de su producción, la wortmannina se puede recuperar del medio de fermentación mediante procedimientos usados en la materia. La wortmannina producida durante la fermentación del organismo A24603.1, por ejemplo, se encuentra principalmente en el caldo.

Normalmente, la wortmannina se puede recuperar de la biomasa mediante una variedad de técnicas. Una técnica preferida supone la filtración de todo el caldo de fermentación con un filtro cerámico. El filtrado se eluye con un disolvente orgánico, tal como acetato de etilo, y se concentra. El concentrado se suspende en alcohol hasta que se produce la cristalización y la disolución se filtra, se lava y se seca. Para la confirmación, el material cristalino se disuelve en un disolvente orgánico y se somete a cromatografía en gel de sílice de fase inversa absorbente (C_8 o C_{18}). Las fracciones se eluyen en un tampón orgánico acuoso tal como acetonitrilo al 60%.

La wortmannina se puede manipular adicionalmente para llegar a los compuestos de la presente invención. Aunque las síntesis de análogos particulares de la wortmannina se ilustran a continuación, otros esquemas sintéticos habituales en la materia permitirán a alguien con conocimientos ordinarios en la materia sintetizar compuestos de acuerdo con la presente invención, y los esquemas sintéticos expuestos en el presente documento no se deben considerar, en ningún caso, limitantes.

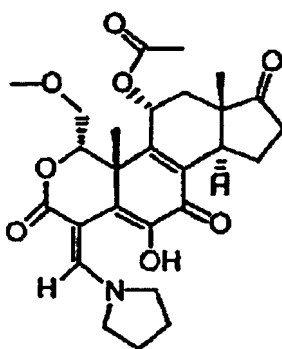
Éster de 4-dialilaminometilen-6-hidroxi-1- α -metoximetil-10 β ,13 β -dimetil-3,7,17-trioxo-1,3,4,7,10,11 β ,12,13,14 α ,15,16,17-dodecahidro-2-oxa-ciclopenta[α]fenantren-11-ilo del ácido acético (djm2-166)



ES 2 307 253 T3

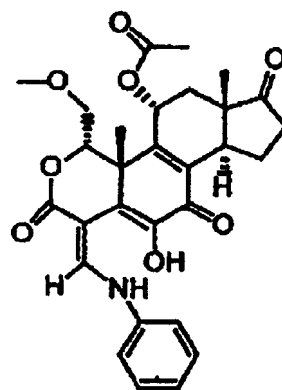
A una disolución de wortmannina (10,7 mg, 25,0 μ mol) en CH_2Cl_2 (125 μ l) se le añadió una disolución madre recién preparada de dialilamina 0,2 M (138 μ l, 27,5 μ mol) en CH_2Cl_2 . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente y la amina en exceso se retiraron sobre vacío y el producto se purificó por cromatografía en SiO_2 (hexanos/acetato de etilo, 1:9) para dar djm2-166 (9,0 mg, 17 μ mol, 68%) como un aceite naranja: $[\alpha]_D^{25} -630$ (c 0,0015, CH_2Cl_2 , 23°C); IR (KBr) 3391, 1743, 1695, 1685, 1622, 1569, 1222, 1111, 1100 cm^{-1} ; RMN ^1H δ 8,20 (s, 1 H), 6,81 (s, 1 H), 6,06 (dd, 1 H, J = 7,4, 4,8 Hz), 5,85 (sa, 1 H), 5,62 (a, 1 H), 5,44-5,04 (m, 4 H), 4,48 (dd, 1 H, J = 7,2, 1,9 Hz), 4,05-3,60 (m, 4 H), 3,26 (s, 3 H), 3,27-3,20 (m, 1 H), 3,16 (dd, 1 H, J = 10,9, 7,2 Hz), 3,00-2,90 (m, 2 H), 2,59 (dd, 1 H, J = 19,4, 8,6 Hz), 2,40 (dd, 1 H, J = 14,4, 7,7 Hz), 2,35-2,07 (m, 2 H), 2,07 (s, 3 H), 1,83 (dd, 1 H, J = 14,4, 4,7 Hz), 1,54 (s, 3 H), 0,86 (s, 3 H); RMN ^{13}C δ 217,0, 178,5, 169,6, 164,8, 156,3, 151,5, 139,0, 136,9, 132,2, 131,3, 127,7 (2 C), 119,2, 89,0, 81,9, 73,1, 67,6, 59,1, 50,9 (2 C), 48,9, 42,3, 42,2, 37,5, 36,0, 24,6, 22,2, 20,8, 16,1; MS (EI) m/z (intensidad relativa) 525 (M^+ , 11), 466 (17), 391 (15), 350 (14), 323 (13), 266 (17), 239 (17), 239 (17), 60 (100); HRMS (EI) calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{NO}_8$ 525, 2363. Hallado 525,2386.

Éster de 6-hidroxi-1 α -metoximetil-10 β ,13 β -dimetil-3,7,17-trioxo-4-pirrolidin-1-il-metilen-1,3,4,7,10,11 β ,12,13,14 α ,15,16,17-dodecahidro-2-oxa-ciclopenta[α]fenantren-11-ilo del ácido acético (djm2-167)



A una disolución de wortmannina (30,0 mg, 70,0 μ mol) en CH_2Cl_2 (200 μ l) se le añadió pirrolidina (7,0 μ l, 84 μ mol) en CH_2Cl_2 . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El disolvente y el tiol en exceso se retiraron sobre vacío y el producto se purificó por cromatografía en SiO_2 (hexanos/acetato de etilo 9:1, y a continuación 1:1) para dar djm2-167 (30,0 mg, 60,6 μ mol, 86%) como un aceite naranja: $[\alpha]_D^{25} -390$ (c 0,0073, CH_2Cl_2 , 23°C); IR (KBr) 3337, 1740, 1684, 1617, 1570, 1261, 1221, 1099, 1018 cm^{-1} ; RMN ^1H δ 8,29 (s, 1 H), 6,72 (s, 1 H), 6,07 (dd, 1 H, J = 6,9, 4,8 Hz), 4,47 (dd, 1 H, J = 7,0, 1,9 Hz), 3,80-3,70 (m, 2 H), 3,25 (s, 3 H), 3,25-3,14 (m, 2 H), 3,02-2,90 (m, 2 H), 2,69 (sa, 1 H), 2,58 (dd, 1 H, J = 19,1, 8,4 Hz), 2,39 (dd, 1 H, J = 14,6, 7,8 Hz), 2,32-2,08 (m, 2 H), 2,06 (s, 3 H), 1,99-1,95 (m, 5H), 1,84 (dd, 1 H, J = 14,5, 4,2 Hz), 1,56 (s, 3 H), 0,86 (s, 3 H); RMN ^{13}C δ 217,5, 178,9, 169,9, 164,9, 153,9, 151,3, 137,6, 137,1, 129,2, 89,4, 82,1, 73,3, 67,7, 59,3, 55,2, 49,2 (2 C), 42,6, 42,4, 37,8, 36,3, 25,6 (2 C), 24,5, 22,4, 21,0, 16,3; MS (EI) m/z (intensidad relativa) 499 (M^+ , 1), 439 (2), 365 (7), 167 (35), 149 (100); HRMS (EI) calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{33}\text{NO}_8$ 499,2206. Hallado 499,2191.

Éster de 4-[(bencilmetilamino)metilen]-6-hidroxi-1 α -metoximetil-10 β ,13 β -dimetil-3,7,17-trioxo-1,3,4,7,10,11 β ,12,13,14 α ,15,16,17-dodecahidro-2-oxa-ciclopenta[α]fenantren-11-ilo del ácido acético (djm2-181)



A una disolución de wortmannina (10,7 mg, 25,0 μ mol) en CH_2Cl_2 (125 μ l) se le añadió una disolución 0,2 M recién preparada de N-metilbencilamina (185 μ l, 37,0 μ mol) en CH_2Cl_2 . La mezcla de reacción se agitó a temperatura

ambiente durante 2 h. El disolvente se retiró sobre vacío y el producto se purificó por cromatografía en SiO₂ (hexanos/acetato de etilo, 1:9) para dar djm2-181 (13,3 mg, 24,2 μ mol, 97%) como un aceite naranja: $[\alpha]_D^{25}$ -835 (c 0,0014, CH₂Cl₂, 23°C); IR (neto) 1742, 1685, 1618, 1589, 1575, 1224 cm⁻¹; RMN ¹H δ 8,36 (sa, 1 H), 7,36-7,27 (m, 5H), 6,60 (sa, 1 H), 6,10-6,00 (m, 1 H), 4,68-4,63 (m, 1 H), 4,53-4,47 (m, 2 H), 3,25 (s, 3 H), 3,25-3,11 (m, 2 H), 2,99-2,84 (m, 2 H), 2,71 (a, 2 H), 2,55 (dd, 1 H, J = 19,5, 8,9 Hz), 2,38 (dd, 1 H, J = 14,4, 7,6 Hz), 2,32-2,05 (m, 2 H), 2,05 (s, 3 H), 1,85 (sa, 1 H), 1,80 (dd, 1 H, J = 14,5, 4,7 Hz), 1,52 (s, 3 H), 0,82 (s, 3 H); RMN ¹³C δ 217,3, 178,9, 169,9, 164,7, 158,3, 151,7, 138,8, 137,1, 134,9, 129,0 (3 C), 128,6, 128,1 (2 C), 88,7, 82,2, 73,4, 67,9, 64,3, 59,4, 49,1, 42,7, 42,5, 37,8 (2 C), 36,3, 25,2, 22,5, 21,1, 16,3; MS (EI) m/z (intensidad relativa) 549 (M⁺, 14), 489 (37), 415 (15), 120 (23), 91 (100); HRMS (EI) calculado para C₃₁H₃₅NO₈ 549,2363. Hallado 549,2340.

Para el tratamiento terapéutico de dolencias específicas, el análogo de la wortmannina DJM2-167 mostrado en la Figura 1 se puede administrar como tal, o se puede componer y formular en composiciones farmacéuticas en formas de dosificación unitarias para la administración por vía parenteral, transdérmica, rectal, nasal, local, intravenosa o, preferentemente, la administración por vía oral. Esas composiciones farmacéuticas se preparan de una forma muy conocida en la materia y comprenden el compuesto DJM2-167 análogo de la wortmannina de la Figura 1 asociado a un vehículo farmacéutico. El término “compuesto activo”, como se usa a lo largo de esta memoria descriptiva, se refiere a al menos un compuesto seleccionado entre compuestos de las fórmulas o a sus sales farmacéuticamente aceptables.

El término “cantidad eficaz” como se usa en el presente documento, significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que es capaz de inhibir, bloquear o revertir la activación, migración o proliferación de las células. La actividad contemplada por los presentes procedimientos incluye ambos tratamiento médico terapéutico y/o profiláctico, según sea apropiado. La dosis específica de un compuesto administrado según esta invención para obtener efectos terapéuticos y/o profilácticos, naturalmente, estará determinada por las circunstancias particulares que rodean al caso, incluyendo, por ejemplo, el compuesto administrado, la vía de administración y la dolencia tratada.

Los compuestos son eficaces en un amplio intervalo de dosificaciones y, por ejemplo, las dosificaciones diarias normalmente estarán dentro del intervalo de entre 0,001 y 10 mg/kg, más habitualmente en el intervalo de entre 0,01 y 1 mg/kg. No obstante, se entiende que la cantidad eficaz administrada será determinada por el médico en vista de las circunstancias relevantes incluyendo la dolencia a tratar, la elección del compuesto a administrar y la vía de administración elegida y, por tanto, no se pretende que los intervalos de dosificación anteriores limiten el alcance de la invención de ninguna manera.

El término “inhibición” incluye la administración de un compuesto de la presente invención para prevenir el comienzo de los síntomas, aliviar los síntomas o eliminar la enfermedad, dolencia o trastorno.

En esa composición, el compuesto activo es conocido como “principio activo”. En la preparación de las composiciones, el principio activo normalmente se mezclará con un vehículo, o se diluirá en un vehículo, o se encerrará dentro de un vehículo que puede estar en forma de cápsula, sobre, papel u otro contenedor. Cuando el vehículo sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido que actúa como vehículo, excipiente del medio para el principio activo. Así, la composición puede estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, caramelos, sobres, sellos, elixires, emulsiones, disoluciones, jarabes, suspensiones, cápsulas de gelatina duras y blandas, disoluciones inyectables estériles y polvos empaquetados estériles.

Algunos ejemplos de vehículos, excipientes, y diluyentes adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, féculas, goma arábica, alginatos de fosfato de calcio, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, tragacanto, gelatina, jarabe, metilcelulosa, metil- y propilhidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio, agua y aceite mineral. Adicionalmente las formulaciones pueden incluir agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes conservantes, agentes edulcorantes o agentes aromatizantes. Las composiciones se pueden formular para así proporcionar una liberación rápida, sostenida, o retardada del principio activo después de la administración al paciente empleando procedimientos muy conocidos en la materia.

Para la administración por vía oral, el compuesto se puede administrar con vehículos y diluyentes, moldeado en comprimidos o encerrado en cápsulas de gelatina. Alternativamente las mezclas se pueden disolver en líquidos tales como solución de glucosa acuosa al 10%, solución salina isotónica, agua estéril o similares y se puede administrar de forma intravenosa o mediante inyección.

Por “farmacéuticamente aceptable”, se quiere decir que el vehículo, diluyente o excipiente debe ser compatible con los otros principios de la formulación y no deletéreo para el receptor.

La administración local de cantidades inhibitorias de compuesto activo para el tratamiento del cáncer puede ser mediante una variedad de técnicas que administran el compuesto en o cerca del lugar proliferativo. No se pretende que los ejemplos de técnicas de administración local sean limitantes, sino que sean ilustrativos de las técnicas disponibles. Los ejemplos incluyen catéteres de administración local, vehículos específicos de sitio, implantes, inyección directa o aplicaciones directas. La administración local mediante un catéter permite la administración de un agente farmacéutico directamente en el lugar proliferativo.

La administración local mediante un implante describe la colocación quirúrgica de una matriz que contiene el agente farmacéutico en la lesión proliferativa. La matriz implantada libera el agente farmacéutico por difusión, reacción química o activadores disolventes.

Otro ejemplo es la administración de un agente farmacéutico mediante sellado polimérico endoluminal. Esta técnica usa un catéter para aplicar un implante polimérico a la superficie interior del lumen. El agente farmacéutico incorporado en el implante polimérico biodegradable se libera así en el sitio quirúrgico. Se describe en el documento PCT WO 90/01969 (Schindler, 23 Ago., 1989).

Un ejemplo final de administración local mediante un implante es por inyección directa de vesículas o microparticulados en el sitio proliferativo. Estos microparticulados pueden estar compuestos de sustancias tales como proteínas, lípidos, carbohidratos o polímeros sintéticos. Estos microparticulados tienen el agente farmacéutico incorporado a lo largo de las micropartículas o sobre las micropartículas en forma de recubrimiento. Los sistemas de administración que incorporan microparticulados se describen en Lange, Science 249: 1527-1533 (Septiembre, 1990) y Mathiowitz, y col., J. App. Poly. Sci., 26:809 (1981).

La administración local mediante vehículos específicos de sitio describe la unión del agente farmacéutico a un vehículo que dirigirá el fármaco a la lesión proliferativa. Los ejemplos de esta técnica de administración incluyen el uso de vehículos tales como un ligando de proteínas o un anticuerpo monoclonal.

La administración local mediante aplicación directa incluye el uso de aplicaciones tópicas. Un ejemplo de una administración local por aplicación directa es la aplicación del agente farmacéutico al tumor arterial o al área que queda después de la resección del tumor.

La formulación de análogos de la wortmannina es muy conocida en la materia como lo es el proceso de fermentación. En vez de entrar en detalles exhaustivos con respecto al esquema sintético o la formulación, la presente invención confía en el facultativo experto para usar aquellas técnicas sintéticas y de formulación habituales para sintetizar los compuestos de la invención:

La proliferación de células depende de la vía de señalización de la PI-3-quinasa - AKT - mTOR. Además, la señalización a través de la PI-3-quinasa y la AKT parece inhibir la apoptosis.

La siguiente Tabla 1 ilustra la actividad y toxicidad *in vivo* de la inhibición enzimática de los análogos de la wortmannina

(Tabla pasa a página siguiente)

| Compuesto | NSC | Dosis máx. tolerada ^c mg/kg ip qD x 4 | Inhibición de la PI-3 quinasa CI ₅₀ (nm) | Inhibición de la mTOR CI ₅₀ (µm) | Citotoxicidad NCl del plánetel de células CI ₅₀ (µm) | Citotoxicidad de linfocitos en relación a la Wortmannina ^b | Citotoxicidad hepática en relación a la Wortmannina ^b | Relación toxicidad hepática/toxicidad de linfocitos |
|-------------|--------|--|--|---|---|---|---|---|
| Wortmannina | 221019 | 2,5 | 0,3 | 0,1 | 8,9 | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| DJM2-166* | 722134 | 20 | 0,5 | >3 | 2,2 | 2,2 | 0,3 | 0,1 |
| DJM2-167 | 722135 | 20 ^f | 1,1 | >3 | 0,5 | 2,4 | 0,3 | 0,1 |
| DJM2-168* | 722136 | >20 | 0,1 | >3 | 11,9 | 0,6 | 0,1 | 0,2 |
| DJM2-170* | 722137 | 9 | 1,0 | >3 | 7,1 | 1,1 | 1,7 | 1,5 |
| DJM2-171* | 722138 | 6 | 0,1 | >3 | 10,2 | 0,7 | 1,1 | 1,6 |
| DJM2-177* | 722142 | 6 | 0,3 | 1,5 | 10,2 | 2,0 | 0,2 | 0,1 |
| DJM2-180* | 722139 | >30 | 10 | 2,0 | 8,1 | 0,5 | 0,3 | 0,6 |
| DJM2-181* | 722140 | >18 | 0,1 | >3 | 0,7 | 1,9 | 0,2 | 0,1 |
| DJM2-182* | 722141 | >18 | 0,4 | >3 | 1,0 | 0,8 | 0,1 | 0,1 |
| DJM2-186* | 722143 | >9 | ND | >3 | 27,7 | 0 | 0,4 | > |
| DJM2-189* | 722144 | >30 | 5 | >3 | 21,0 | 0 | 0,4 | > |
| DJM2-190* | 722145 | NE | 10 | >3 | 33,0 | 0,6 | NE | NE |

ND=no determinado, NE=no evaluable, fármaco insuficiente

^a ensayo MTT de 2 días, media de 60 líneas celulares

^b toxicidad de los linfocitos a la MTD o a la dosis más alta probada expresada en relación a la wortmannina

^c toxicidad hepática medida mediante el % de ALT y AST a la MTD a la dosis más alta probada expresada en relación a la wortmannina

^d toxicidad hepática medida en relación a la wortmannina/reducción en linfocitos sanguíneos en relación a la wortmannina

^e MTD = >10% de pérdida de peso corporal

^f valor estimado

* análogos comparativos

La capacidad de la wortmannina y sus análogos para inhibir la fosfatidilinositol-3-quinasa y la mTOR se expresa como la dosis que provoca una inhibición del 50% (CI₅₀). Citotoxicidad - Se midió la inhibición del crecimiento de células de cáncer de mama MCF-7 humanas durante 4 días usando el ensayo MTT expresado como la dosis que provoca una inhibición del 50% (CI₅₀). Toxicidad - A grupos de 3 ratones C57BL6 se les administró diariamente wortmannina a dosis de 1, 2 ó 3 mg/kg o los análogos a 1, 3, 9 ó 18 mg/kg donde había disponible compuesto suficiente mediante la vía intraperitoneal durante 4 días. Los animales fueron sacrificados 24 horas después de la última dosis y se determinó las cuentas sanguíneas diferenciales y la química del suero. Las mayores toxicidades observadas fueron la toxicidad hepática y la linfocitopenia con cuentas de glóbulos rojos reducidas y glucosa sérica incrementada a dosis superiores. Las toxicidades se midieron a la dosis máxima tolerada o a la dosis probada más alta. La toxicidad hepática se midió como incremento medio del porcentaje en la ALT y AST séricas expresadas en relación a la wortmannina como 1,0. La linfocitopenia se expresa como reducción del porcentaje en las cuentas de linfocitos en relación a la wortmannina como 1,0. Una baja toxicidad hepática y una elevada toxicidad de los linfocitos como sustituto para la inhibición del crecimiento de las células tumorales es la característica deseable. Destacan los compuestos preparados para la prueba antitumoral.

Basándose en las evidencias anteriores, parecería que un inhibidor de la PI-3-quinasa inhibiría el crecimiento y la supervivencia celular. Además, los inhibidores de la PI-3-quinasa también inhibirían la respuesta inflamatoria local, especialmente en el caso de un implante bioprostético, que podría ser un factor favorable para el injerto a largo plazo o de otro implante bioprostético. En principio, los derivados de la wortmannina podrían ser agentes ideales para inducir un bloqueo temporal de la vía de la PI-3-quinasa - AKT - mTOR.

Las Figuras 4-9 ilustran el efecto de la wortmannina y sus análogos (véase Figura 2) frente al cáncer de próstata PC-3 humano; frente al cáncer de colon HT-29 humano; frente al tumor de ovario OVCAR-3 humano; sobre la pérdida de peso; y la actividad antitumoral.

En otra forma de realización, la presente invención se puede utilizar para tratar la restenosis vascular. La restenosis vascular es una complicación importante a largo plazo después de la intervención quirúrgica de arterias bloqueadas mediante angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA), aterectomía, angioplastia con láser y cirugía de injerto de *bypass* arterial. En el 35% aproximadamente de los pacientes que padecen PTCA, se produce reoclusión en los tres a seis meses después del procedimiento. Las estrategias actuales para el tratamiento de la restenosis vascular incluyen la intervención mecánica mediante dispositivos tales como cánulas intraluminales o terapias farmacológicas que incluyen heparina, heparina de bajo peso molecular, coumarina, aspirina, aceite de pescado, antagonistas del calcio, esteroides, y prostaciclina.

La restenosis después de la angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA) ha demostrado ser una respuesta tisular caracterizada por una fase temprana y tardía. La fase temprana que se produce de horas a días después de la PTCA es debida a la trombosis con algunos vasoespasmos mientras que la fase tardía parece estar dominada por la proliferación excesiva y la migración de células del músculo liso. En esta enfermedad, la movilidad celular incrementada y la colonización por las células de músculo liso y los macrófagos contribuyen significativamente a la patogénesis de la enfermedad. La proliferación excesiva y la migración de las células de músculo liso vascular pueden ser el mecanismo primario para la reoclusión de las arterias coronarias después de la PTCA, aterectomía, angioplastia con láser y cirugía de injerto de *bypass* arterial.

En la patogénesis de la restenosis, la proliferación celular excesiva y la migración se producen como resultado de los factores de crecimiento producidos por los constituyentes celulares en la sangre y la pared del vaso arterial dañado que median en la proliferación de las células de músculo liso en la restenosis vascular. Los agentes que inhiben la proliferación y/o migración del músculo liso son útiles en el tratamiento y prevención de la restenosis. Además, los agentes que inhiben la respuesta inflamatoria del músculo liso son útiles en el tratamiento y la prevención de la restenosis. La presente invención proporciona el uso de wortmannina y ciertos análogos como inhibidores de la restenosis.

La invención comprende cánulas intraluminales y otros dispositivos tales como implantes bioprostéticos que pueden estar recubiertos con los análogos de la wortmannina. La presente invención también se refiere a procedimientos que comprenden la administración de análogos de la wortmannina a un sujeto en una dosis de compuesto farmacéuticamente eficaz. Los análogos de la wortmannina son los análogos de la wortmannina DJM2-167 descritos en la Figura 1. Se espera que los análogos de la wortmannina de la presente invención sean útiles en el tratamiento de la restenosis.

Como se ha indicado anteriormente, la administración local de cantidades inhibitorias del compuesto activo para el tratamiento de la restenosis puede ser mediante una variedad de técnicas que administran el compuesto en o cerca del sitio proliferativo. No está previsto que los ejemplos de técnicas de administración local sean limitantes, sino que sean ilustrativos de las técnicas disponibles. Los ejemplos incluyen catéteres de administración local, vehículos específicos de sitio, implantes, implantes recubiertos, inyección directa o aplicaciones directas. La administración local mediante un catéter permite la administración de un agente farmacéutico directamente en la lesión proliferativa. Los ejemplos de administración local usando un catéter de balón se describen en los documentos EP 383 492 A2 y patente de EE.UU. N° 4.636.195 (Wolinsky, 13 Ene., 1987).

La administración local mediante un implante describe la colocación quirúrgica de una matriz que contiene el agente farmacéutico en la lesión proliferativa. La matriz implantada libera el agente farmacéutico por difusión, reacción química o activadores disolventes.

Un ejemplo de administración local mediante un implante es el uso de una cánula intraluminal. Las cánulas intraluminales están diseñadas para prevenir mecánicamente el colapso y la reoclusión de las arterias coronarias. La incorporación de un agente farmacéutico en la cánula intraluminal libera el fármaco directamente en el sitio proliferativo. La administración local mediante esta técnica se describe en Kohn, Pharmaceutical Technology (Octubre, 1990).

Otro ejemplo es un sistema de administración en el que un polímero que contiene el agente farmacéutico se inyecta en la lesión en forma líquida. A continuación el polímero se cura para formar el implante *in situ*. Esta técnica se describe en el documento PCT WO 90/03768 (Donn, 19 Abr., 1990).

La administración local mediante vehículos específicos de sitio describe la unión del agente farmacéutico a un vehículo que dirigirá el fármaco hacia la lesión proliferativa. Los ejemplos de esta técnica de administración incluyen el uso de vehículos tales como un ligando de proteína o un anticuerpo monoclonal.

La administración local mediante aplicación directa incluye el uso de aplicaciones tópicas. Un ejemplo de una administración local mediante aplicación directa es la aplicación del agente farmacéutico directamente sobre el injerto de *bypass* arterial durante el procedimiento quirúrgico.

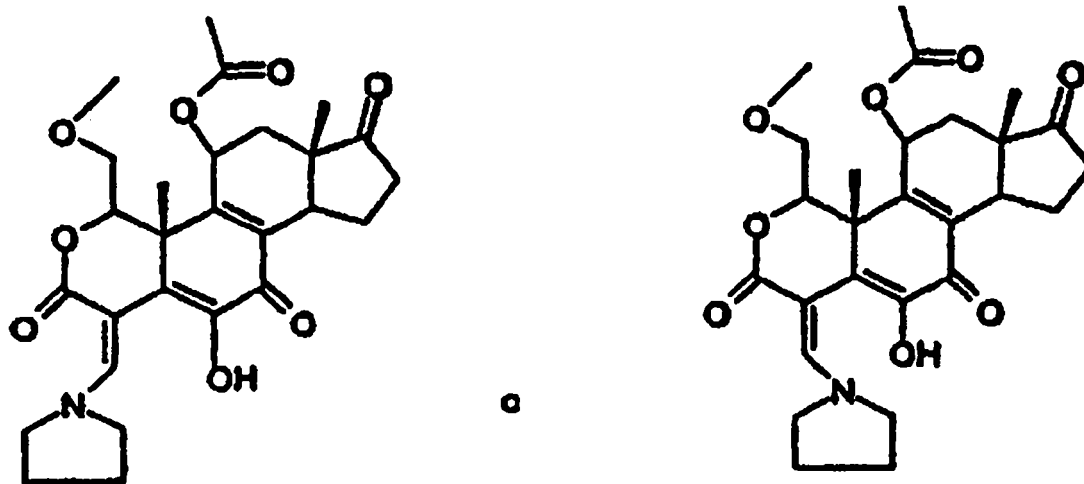
La restenosis es un problema clínico importante después de una intervención coronaria con el implante de una cánula intraluminal coronaria. En este escenario, el músculo liso que recubre la arteria coronaria afectada experimenta hiperplasia y proliferación, debido a una hipoxia transitoria o a una respuesta inflamatoria (o una combinación de estos factores) como resultado de la intervención. La proliferación de las células de músculo liso vascular depende estrechamente de la vía de señalización de la PI-3-quinasa - AKT - mTOR. Además, la señalización a través de la PI-3-quinasa - AKT parece inhibir la apoptosis de las células de músculo liso, que también incrementaría la masa de la capa de músculo liso en la arteria lesionada.

Basándose en las evidencias anteriores, parece que un inhibidor de la PI-3-quinasa inhibirá el crecimiento y la supervivencia de las células de músculo liso cuando se impregnan sobre el dispositivo de cánula intraluminal. Además, los inhibidores de la PI-3-quinasa también inhibirían la respuesta inflamatoria local al implante, que podría ser un factor favorable para el injerto de una cánula intraluminal o de otro implante bioprostético de larga duración. En principio, los derivados de la wortmannina podrían ser agentes ideales para inducir un bloqueo temporal de la vía de la PI-3-quinasa - AKT - mTOR en el microentorno local que rodea la cánula intraluminal implantada.

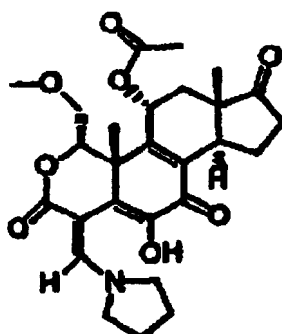
Se entiende que los ejemplos y formas de realización descritos en el presente documento son sólo con fines ilustrativos y que personas expertas en la materia sugerirán diversos cambios o modificaciones en vista de la misma.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



2. Un compuesto de fórmula:



3. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, para su uso en el tratamiento del cáncer.

4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, para su uso en la inhibición de la actividad PI-3-quinasa en mamíferos.

5. Una formulación farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2 y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Un implante bioprostético constituido de un cuerpo recubierto con un compuesto que inhibe una respuesta inflamatoria, teniendo dicho compuesto la fórmula general de la reivindicación 1 ó 2.

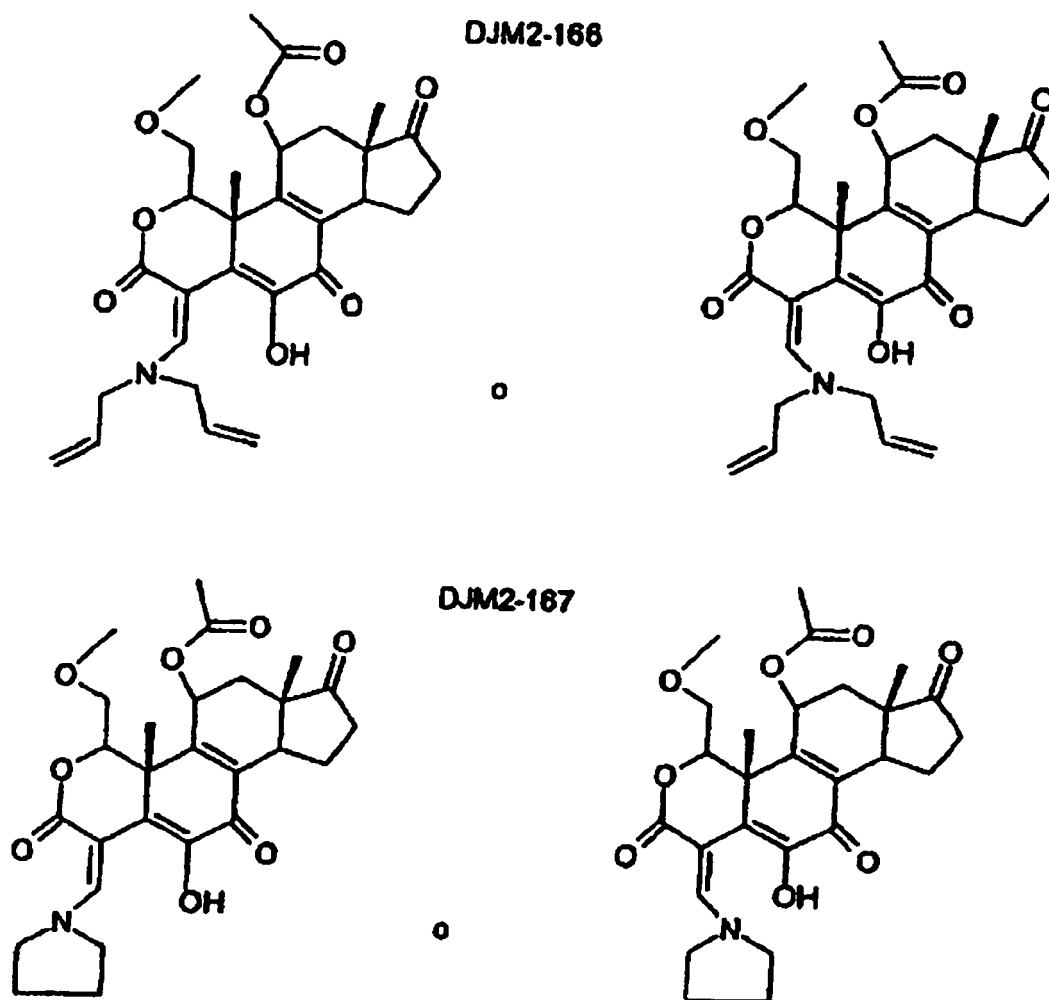


FIG. 1

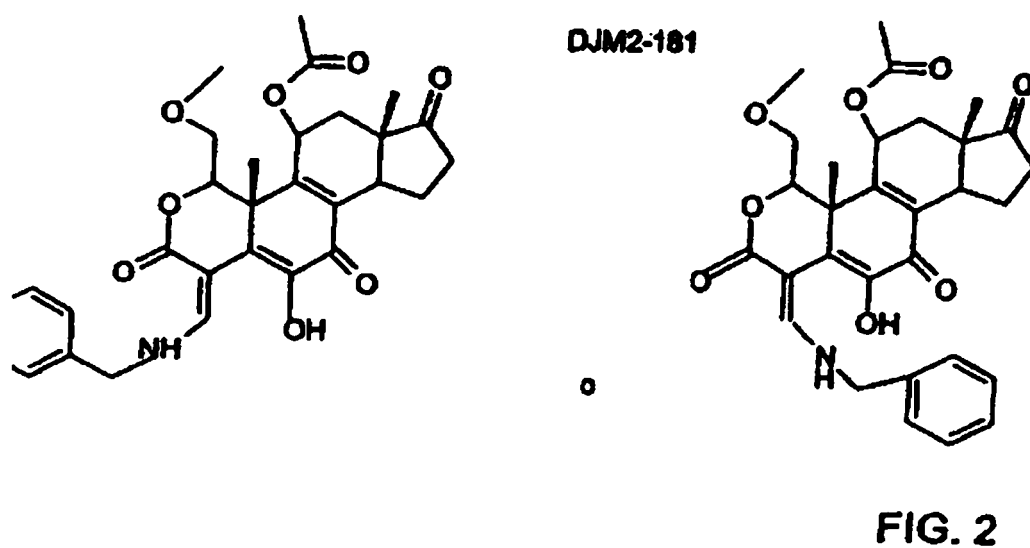
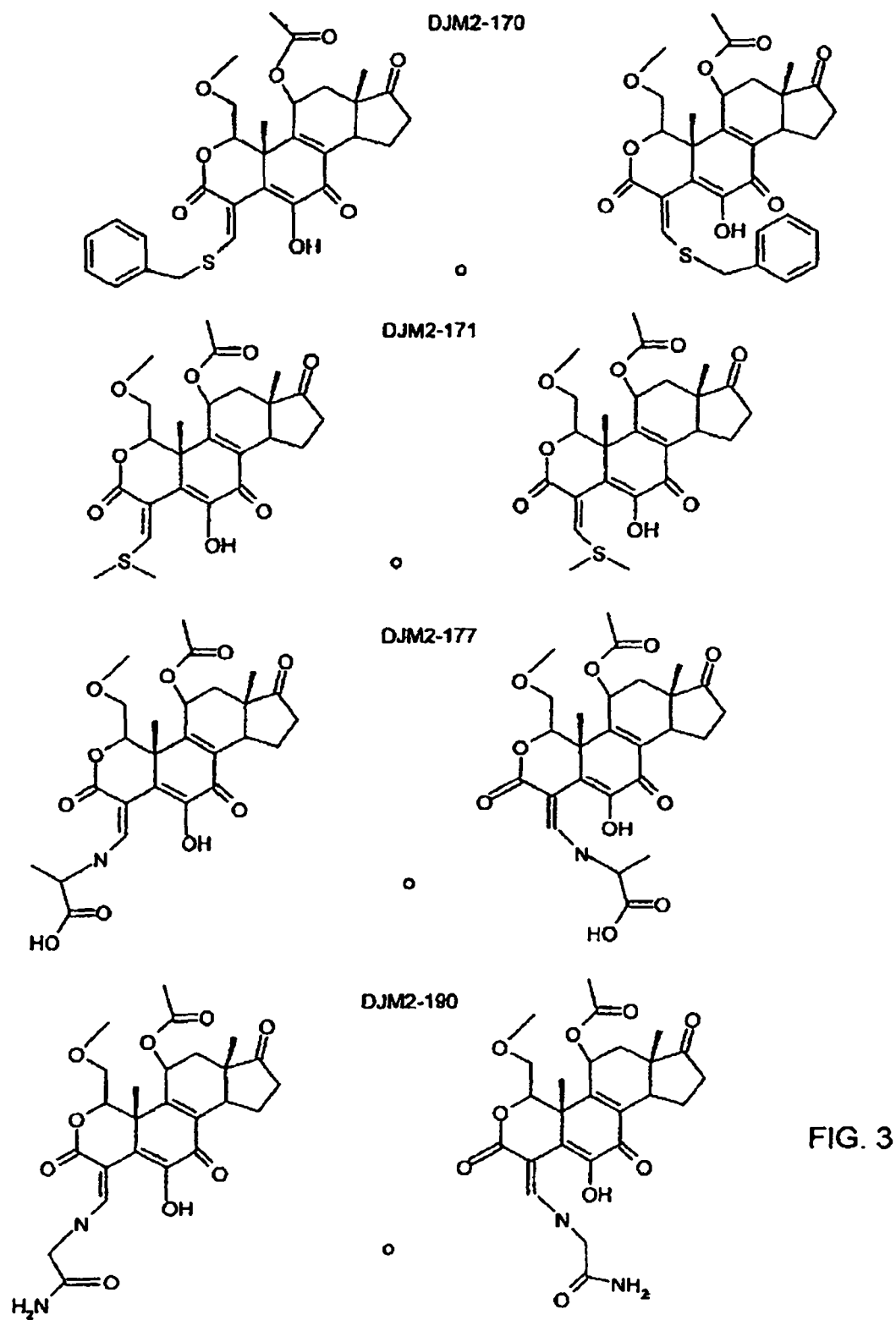


FIG. 2



Wortmannina y sus análogos frente al cáncer de próstata PC-3
en humanos (8 ratones por grupo)

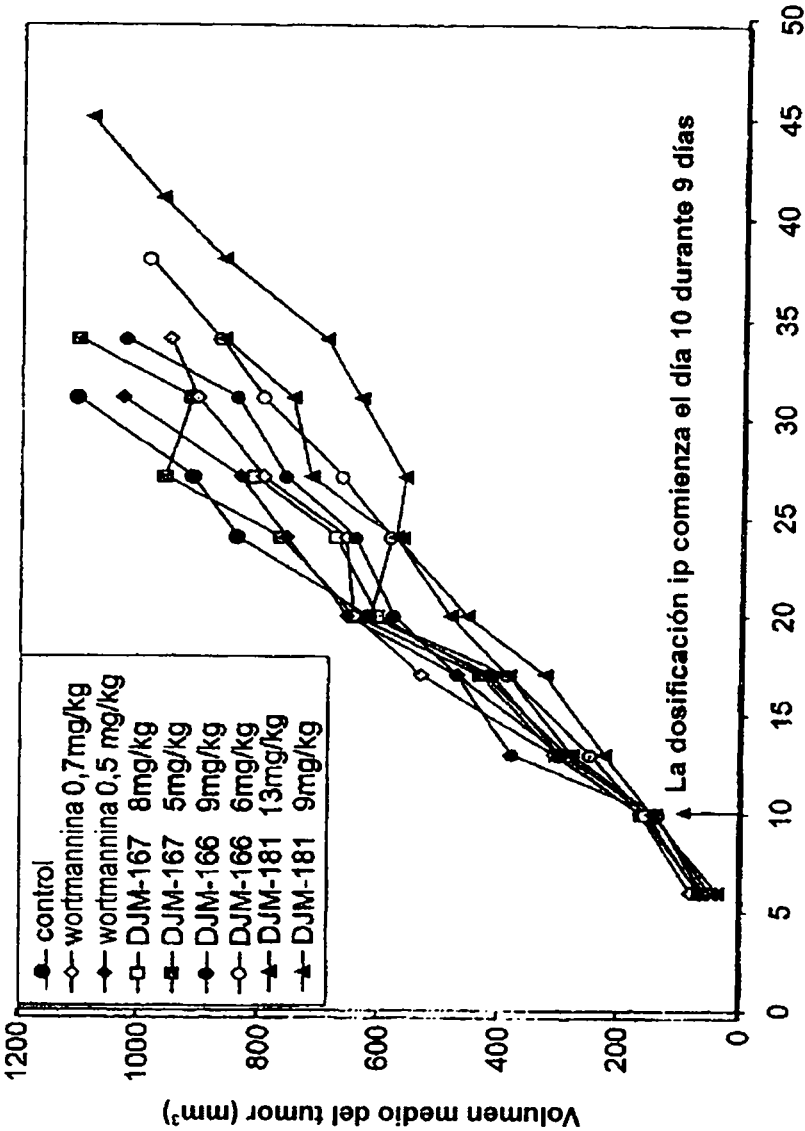
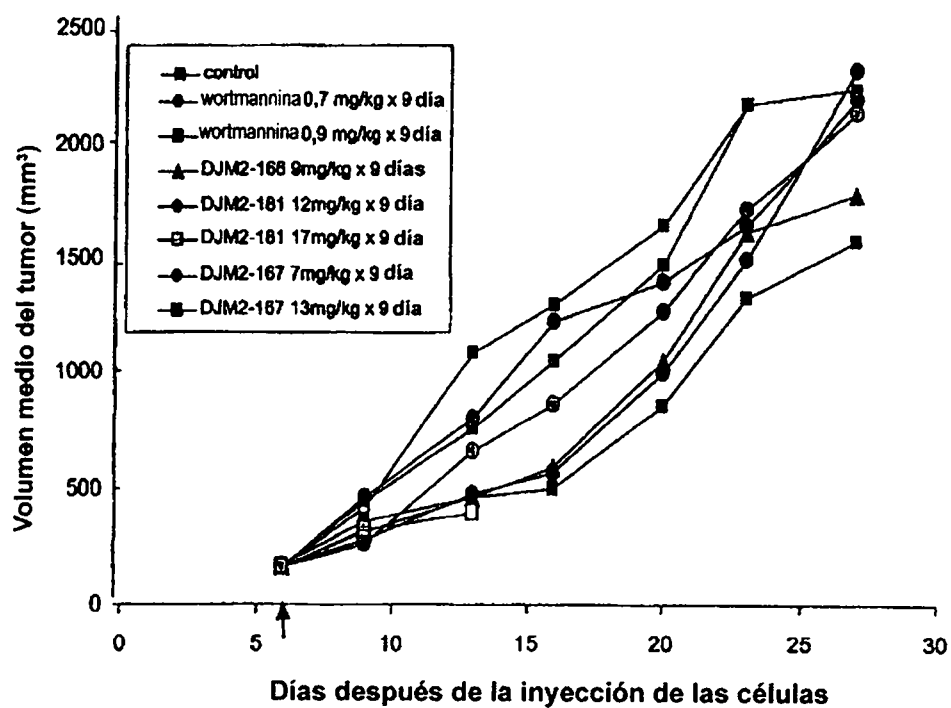


FIG. 4
Días después de la inyección de las células

**Wortmannina y sus análogos frente al cáncer de colon HT-29 en humanos
(8 ratones por grupo)**



↑ = Separados aleatoriamente el día 6
e inicio de la inyección del fármaco

FIG. 5

Wortmannina y sus análogos frente al tumor de ovarios OVCA-R-3 en humanos
(8 ratones por grupo)

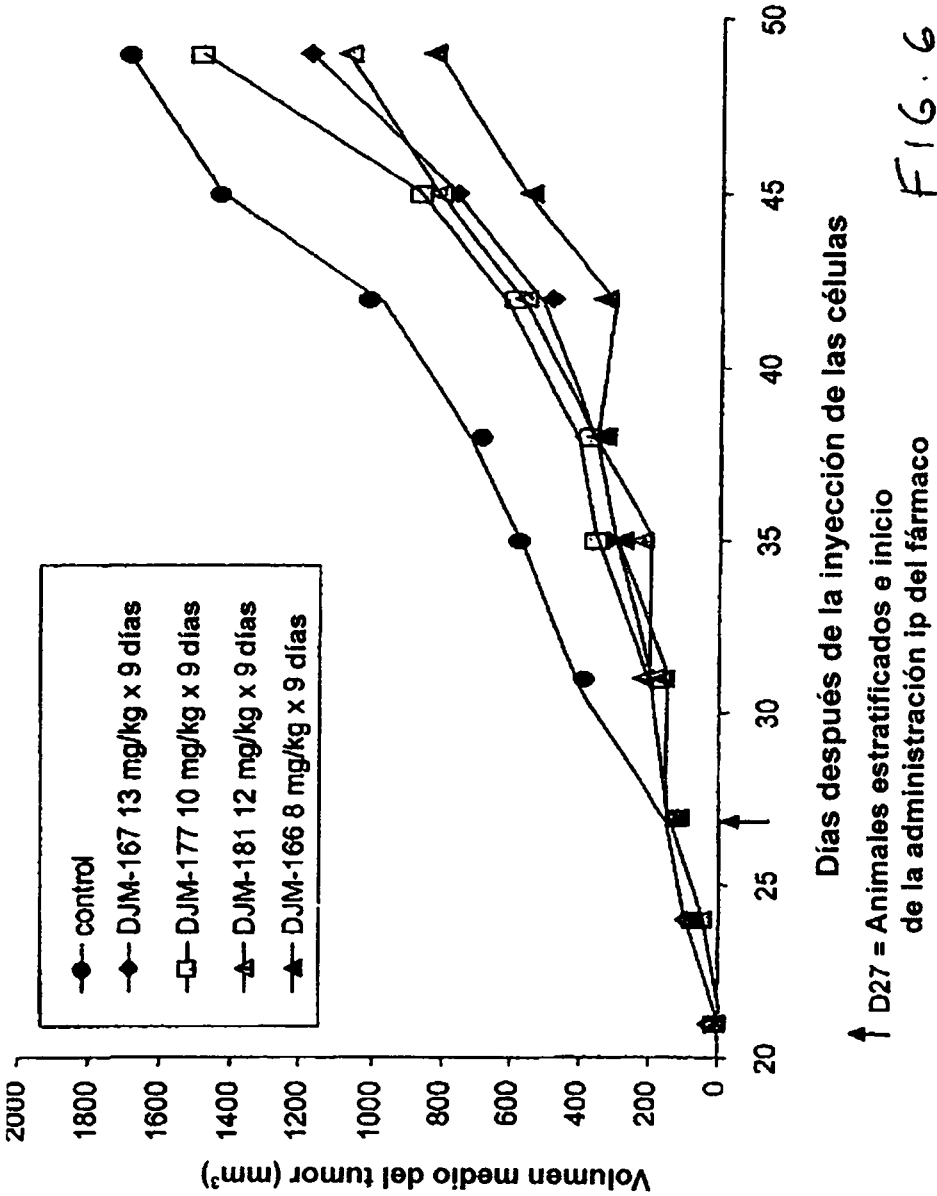
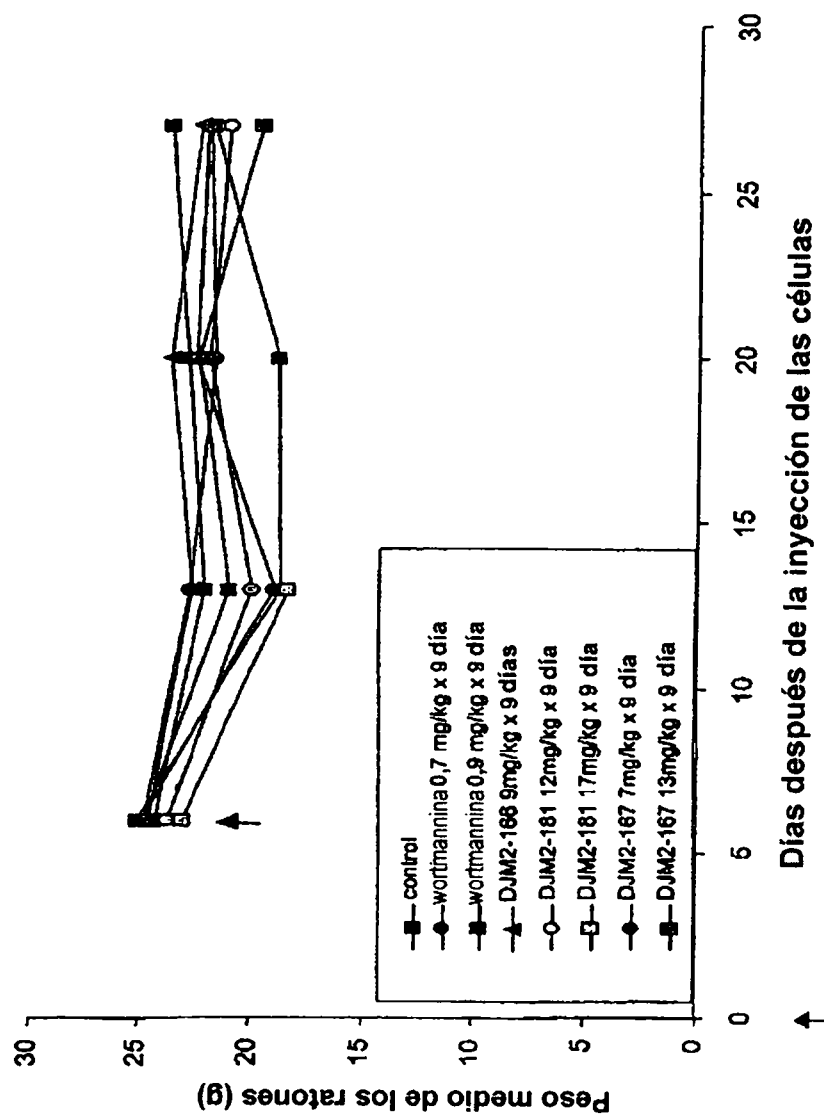


FIG. 6

Pérdida de peso por la wortmannina y sus análogos (8 ratones por grupo)



Animales separados aleatoriamente el día 6 e inicio de la inyección del fármaco

FIG. 7

Actividad antitumoral de la wortmannina

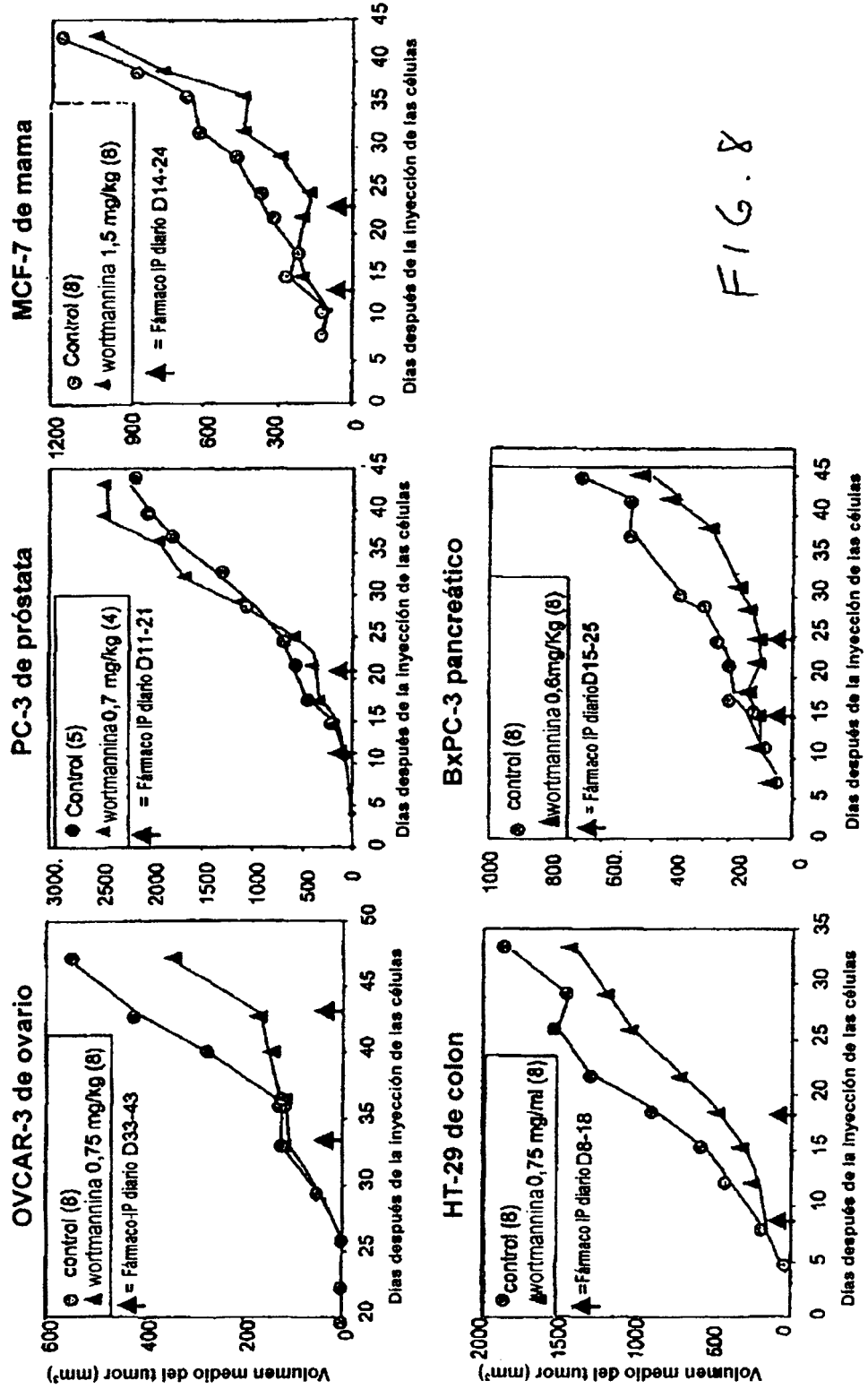


FIG. 8

