

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 227**

51 Int. Cl.:

C07D 475/04 (2006.01)

C07F 3/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2007 E 07867329 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **02.09.2009 EP 2094715**

54 Título: **Dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) y utilizaciones terapéuticas del mismo**

30 Prioridad:

30.10.2006 US 863547 P

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

23.01.2013

73 Titular/es:

**SANRX PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
603 COLINA STREET
LA JOLLA CA 92037, US**

72 Inventor/es:

**MOHENO, PHILLIP y
PFLEIDERER, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 394 227 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

Dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) y utilizaciones terapéuticas del mismo.

5 **Antecedentes de la invención**

La patente US nº 6.358.935 divulga determinados complejos de pterina (que no son las de la presente invención).

10 **Sumario de la invención**

10 Una forma de realización proporciona dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) y utilizaciones terapéuticas basadas en el mismo. Otra forma de realización proporciona el compuesto dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) o polimorfo del mismo. Otra realización proporciona un procedimiento de síntesis de dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) que comprende: disolver pterina en una disolución acuosa de NaOH, añadir $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a la disolución con agitación a un pH de alrededor de 11, continuar la agitación durante el tiempo de 1 día, y recoger el precipitado como DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la producción de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la degradación de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la degradación de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la producción de neopterina que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la producción de neopterina que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Otras realizaciones son tal como se expone en las reivindicaciones.

También se describe un procedimiento de modulación de la producción de IFN- γ que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. También se describe un procedimiento de modulación de la producción de IFN- γ que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad de la enzima IDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad de la enzima IDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de oxidantes que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de oxidantes que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de radicales libres que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de radicales libres que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

40 Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κB que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κB que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la expresión de genes posteriores para una citocina, una quimiocina, molécula de adhesión, factor de crecimiento, enzima y/o inmunorreceptor que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la expresión de genes posteriores para una citocina, una quimiocina, molécula de adhesión, factor de crecimiento, enzima y/o inmunorreceptor que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de reducción de la actividad inflamatoria en un sujeto que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción de la actividad inflamatoria en un sujeto que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la expresión de la enzima IDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la expresión de la enzima IDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la respuesta de células T humanas que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la respuesta de células T humanas que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

60 Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la tolerancia inmunitaria alogénica que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la tolerancia inmunitaria alogénica que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la resistencia inmunitaria en tumores sólidos humanos que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la resistencia inmunitaria en tumores sólidos humanos que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad antiproliferativa que comprende

administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad antiproliferativa que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

Breve descripción de los dibujos

5 Figuras 1A y 1B (con EEM): se inocularon veintinueve ratones hembras desnudos atímicos (nu/nu), 3-4 semanas de edad, con 10 x 10⁶ células cancerosas MDA-MB-231 por vía subcutánea en el costado derecho de cada ratón. Cuando los tumores alcanzaron 3-5 mm de tamaño, se dividieron veinticinco de los ratones en cinco grupos de tratamiento de cinco ratones cada uno. Se asignaron cuatro ratones como controles. Posteriormente se excluyeron
10 cuatro ratones con tamaños de tumor alejados o sin tumor. Los grupos experimentales se trataron por sonda oral una vez al día con la disolución o suspensiones de prueba indicadas. No se trató al grupo control.

Figura 2: estructura del DCP determinada mediante difracción de rayos X de monocristal.

15 Figura 3: los ratones desnudos tratados con DCP no mostraron pérdida de peso significativa.

Figura 4: determinación de la dosis óptima en ratones desnudos.

20 Figura 5: comparación de DCP con otras formas de pterina cálcica después de 46 días de tratamiento.

Figura 6: comparación de DCP con otras formas de pterina cálcica después de 57 días de tratamiento.

25 Figura 7: valor de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con MDA-MB-231 después de 11 días de tratamiento.

Figura 8: valor de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con / MDA-MB-231 después de 36 días de tratamiento.

30 Figura 9: valor de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con MDA-MB-231 después de 47 días de tratamiento.

Descripción detallada de la invención

Glosario

35 Para facilitar más inmediatamente una comprensión de la invención y sus realizaciones, los significados de los términos utilizados en la presente memoria resultarán evidentes a partir del contexto de esta memoria descriptiva en vista de la utilización común de diversos términos y de las definiciones explícitas de otros términos proporcionadas en el siguiente glosario o en la descripción posterior.

40 Tal como se utiliza en la presente memoria, las expresiones “comprender”, “incluir” y “tal como” se utilizan en su sentido no limitativo, abierto.

45 La utilización del término “alrededor de” en la presente descripción significa “aproximadamente” y, de manera ilustrativa, la utilización del término “alrededor de” indica que valores ligeramente fuera de los valores citados también pueden ser eficaces y seguros, y dichas dosificaciones también quedan abarcadas por el alcance de las presentes reivindicaciones.

50 Los “aglutinantes” confieren cualidades cohesivas e incluyen, por ejemplo, ácido alginico y sales del mismo; derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa, metilcelulosa (por ejemplo, Methocel[®]), hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa (por ejemplo, KluCEL[®]), etilcelulosa (por ejemplo, Ethocel[®]) y celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel[®]); dextrosa microcristalina; amilosa; silicato de aluminio y magnesio; ácidos de polisacáridos; bentonitas; gelatina; copolímero de polivinilpirrolidona/acetato de vinilo; crospovidona; povidona; almidón; almidón pregelatinizado; tragacanto, dextrina, un azúcar, tal como sacarosa (por ejemplo, Dipac[®]), glucosa, dextrosa, melaza, manitol, sorbitol, xilitol (por ejemplo, Xylitab[®]) y lactosa; una goma sintética o natural tal como goma arábica, tragacanto, goma ghatti, mucílago de cáscaras de isapol, polivinilpirrolidona (por ejemplo, Polyvidone[®] CL, Kollidon[®] CL, Polyplasdone[®] XL-10), arabinogalactano de alerce, Veegum[®], polietilenglicol, ceras, alginato de sodio, y similares.

60 Los “materiales portadores” incluyen cualquier excipiente comúnmente utilizado en farmacia y deben seleccionarse basándose en la compatibilidad con el principio farmacéutico activo y las propiedades del perfil de liberación de forma farmacéutica deseada. Los materiales portadores a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, aglutinantes, agentes de suspensión, agentes de disgregación, agentes de carga, tensioactivos, solubilizantes, estabilizantes, lubricantes, agentes humectantes, diluyentes, y similares. Los “materiales portadores farmacéuticamente
65 compatibles” pueden comprender, por ejemplo, goma arábica, gelatina, dióxido de silicio coloidal, glicerofosfato de calcio, lactato de calcio, maltodextrina, glicerina, silicato de magnesio, caseinato de sodio, lecitina de soja, cloruro de

sodio, fosfato de tricalcio, fosfato de dipotasio, estearoil-lactilato de sodio, carragenanos, monoglicérido, diglicérido, almidón pregelatinizado, y similares. Véase, por ejemplo, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy, decimonovena ed.* (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., *Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker*, Nueva York, N.Y., 1980; y *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, séptima ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999).

La expresión “liberación controlada” incluye cualquier formulación de liberación no inmediata, incluyendo, pero sin limitarse a, formulaciones con recubrimiento entérico y formulaciones de liberación sostenida, liberación retardada y liberación pulsátil.

La expresión “liberación retardada” incluye cualquier formulación de liberación no inmediata, incluyendo, pero sin limitarse a, formulaciones recubiertas con película, formulaciones con recubrimiento entérico, formulaciones encapsuladas, formulaciones de liberación sostenida y formulaciones de liberación pulsátil.

Los “facilitadores de la difusión” y los “agentes de dispersión” incluyen materiales que controlan la difusión de un fluido acuoso a través de un recubrimiento. Los facilitadores de la difusión/agentes de dispersión a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, polímeros hidrófilos, electrolitos, Tween[®] 60 u 80, PEG, y similares. También pueden utilizarse combinaciones de uno o más facilitadores de la erosión con uno o más facilitadores de la difusión en la presente invención.

Los “diluyentes” incrementan el volumen de la composición para facilitar la compresión. Tales compuestos incluyen, por ejemplo, lactosa; almidón; manitol; sorbitol; dextrosa; celulosa microcristalina tal como Avicel[®]; fosfato de calcio dibásico; fosfato de dicalcio dihidratado; fosfato de tricalcio; fosfato de calcio; lactosa anhidra; lactosa secada por pulverización; almidón pregelatinizado; azúcar compresible, tal como Di-Pac[®] (Amstar); manitol; hidroxipropilmetilcelulosa; diluyentes a base de sacarosa; azúcar en polvo; sulfato de calcio monobásico monohidratado; sulfato de calcio dihidratado; lactato de calcio trihidratado; dextratos; sólidos de cereales hidrolizados; amilosa; celulosa en polvo; carbonato de calcio; glicina; caolín; manitol; cloruro de sodio; inositol; bentonita; y similares.

Los “agentes de carga” incluyen compuestos tales como lactosa, carbonato de calcio, fosfato de calcio, fosfato de calcio dibásico, sulfato de calcio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextrosa; dextratos; dextrano, almidones, almidón pregelatinizado, sacarosa, xilitol, lactitol, manitol, sorbitol, cloruro de sodio, polietilenglicol, y similares. Las expresiones “cantidad terapéuticamente eficaz” y “cantidad eficaz” en relación a la cantidad de principio farmacéutico activo significan, de acuerdo con consideraciones conocidas en la técnica, la cantidad de principio farmacéutico activo eficaz para provocar un efecto farmacológico o efecto terapéutico sin efectos secundarios adversos excesivos.

Un “recubrimiento entérico” es una sustancia que permanece sustancialmente intacta en el estómago pero se disuelve y libera al menos algo del fármaco una vez que alcanza el intestino delgado. Generalmente, el recubrimiento entérico comprende un material polimérico que evita la liberación en el entorno de pH bajo del estómago pero que se ioniza a un pH ligeramente superior, normalmente un pH de 4 ó 5, y por tanto se disuelve suficientemente en el intestino delgado para liberar gradualmente el agente activo en el mismo.

El término “liberación inmediata” pretende referirse a cualquier formulación en la que la totalidad o parte del principio farmacéutico activo está en disolución o bien antes de la administración o bien inmediatamente (es decir, en un plazo de alrededor de 30 minutos) después de la administración. Por ejemplo, con una formulación de “liberación inmediata”, la administración oral da como resultado la liberación inmediata del agente desde la composición al fluido gástrico. Para formulaciones de liberación retardada, lo contrario es generalmente cierto, la velocidad de liberación del fármaco desde la forma farmacéutica es la etapa limitante de la velocidad en la administración del fármaco a la zona objetivo.

Los “lubricantes” son compuestos que evitan, reducen o inhiben la adhesión o fricción de materiales. Los lubricantes a modo de ejemplo incluyen, por ejemplo, ácido esteárico; hidróxido de calcio; talco; estearil-fumarato de sodio; un hidrocarburo tal como aceite mineral, o aceite vegetal hidrogenado tal como aceite de soja hidrogenado (Sterotex[®]); ácidos grasos superiores y sus sales de metales alcalinos y metales alcalinotérreos, tales como aluminio, calcio, magnesio, zinc, ácido esteárico, estearatos de sodio, glicerol, talco, ceras, Stearowet[®], ácido bórico, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, leucina, un polietilenglicol o un metoxipolietilenglicol tal como Carbowax[™], oleato de sodio, behenato de glicerilo, polietilenglicol, lauril-sulfato de sodio o magnesio, sílice coloidal tal como Syloid[™], Carb-O-Sil[®], un almidón tal como almidón de maíz, aceite de silicona, un tensioactivo, y similares.

El término “farmacéuticamente aceptable” se utiliza como adjetivo en la presente memoria y significa que el sustantivo modificado es adecuado para su utilización en un producto farmacéutico.

Los “solubilizantes” incluyen compuestos tales como ácido cítrico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido málico, ácido tartárico, ácido maleico, ácido glutárico, bicarbonato de sodio, carbonato de sodio y similares.

Los “estabilizantes” incluyen compuestos tales como cualquier agente antioxidante, tampón, ácido, y similares.

Los “agentes de suspensión” o “agentes espesantes” incluyen compuestos tales como polivinilpirrolidona, por ejemplo, polivinilpirrolidona K12, polivinilpirrolidona K17, polivinilpirrolidona K25 o polivinilpirrolidona K30; polietilenglicol, por ejemplo, el polietilenglicol puede presentar un peso molecular de alrededor de 300 a alrededor de 6000, o de alrededor de 3350 a alrededor de 4000, o de alrededor de 7000 a alrededor de 5400; carboximetilcelulosa sódica; metilcelulosa; hidroxipropilmetilcelulosa; polisorbato 80; hidroxietilcelulosa; alginato de sodio; gomas, tales como, por ejemplo, goma tragacanto y goma arábica; goma guar; xantanos, incluyendo goma xantana; azúcares; compuestos celulósicos, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa; polisorbato 80; alginato de sodio; monolaurato de sorbitano polietoxilado; monolaurato de sorbitano polietoxilado; povidona y similares.

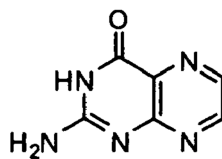
Los “tensioactivos” incluyen compuestos tales como lauril-sulfato de sodio, monooleato de sorbitano, monooleato de sorbitano polioxietileno, polisorbatos, polaxómeros, sales biliares, monoestearato de glicerilo, copolímeros de óxido de etileno y óxido de propileno, por ejemplo, Pluronic[®] (BASF); y similares.

Tal como se utilizan en la presente memoria, los términos “suspensión” y “disolución” son intercambiables entre sí y significan de manera general una disolución y/o suspensión del bencimidazol sustituido en un medio acuoso.

El término “liberación sostenida” se utiliza en su sentido convencional para referirse a una formulación de fármaco que proporciona liberación gradual de un fármaco a lo largo de un período de tiempo prolongado, y, a veces puede, aunque no necesariamente, dar como resultado niveles de un fármaco en sangre sustancialmente constantes a lo largo de un período de tiempo prolongado.

La expresión “tratar” o “tratamiento” tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cualquier tratamiento de un trastorno o enfermedad asociado con trastorno gastrointestinal, e incluye, pero no se limita a, evitar que se produzca el trastorno o enfermedad en un mamífero que puede estar predispuesto al trastorno o enfermedad, pero al que aún no se le ha diagnosticado el trastorno o enfermedad; inhibir el trastorno o enfermedad, por ejemplo, detener el desarrollo del trastorno o enfermedad; aliviar el trastorno o enfermedad, por ejemplo, provocar la regresión del trastorno o enfermedad; o aliviar el estado causado por la enfermedad o trastorno, por ejemplo, detener los síntomas de la enfermedad o trastorno.

La pterina ha sido un punto de interés en la comunidad de investigación biomédica durante algún tiempo. Se encontró que la xantopterina inhibe el crecimiento de sarcoma en ratones hace más de 60 años (Lewisohn *et al*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. (1944) 56, 144-145). También se mostró que la isoxantopterina inhibía el crecimiento tumoral (Kokolis *et al*, Z. Naturforsch. (1972) B27, 292-95). El National Cancer Institute sometió posteriormente a prueba xantopterina, isoxantopterina y pterina pero obtuvo resultados inconstantes (Drug Evaluation Branch, Developmental Therapeutics Program, Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute, Bethesda, MD 1957, 1958, 1959, 1960, 1964, 1969, 1971, 1972, 1973, 1974, 1975, 1977. NSC 41836.91557, 118090, 11540, 18696, 170929). En 1996, Moheno dio a conocer la fuerte eficacia antitumoral de una suspensión de xantopterina/isoxantopterina 2:1 (p/p) en ratones hembras C3H/HeOuj (documento US 5.534.514).



Pterina

Investigaciones adicionales de Moheno demostraron la importancia de seleccionar una cepa de ratón inmunocompetente para la evaluación de eficacia antitumoral de pterina y análogos relacionados (Moheno, Int. J. Pharm. (2004), 271, 293-300). En este estudio, se encontró que una suspensión de pterina cálcica en la razón molar de 1:4/calcio:pterina (conocida como CaPterin) poseía eficacia antitumoral significativa contra xenoinjertos de mama humana MDA-MB-231 en ratones desnudos, así como actividad altamente significativa contra tumores espontáneos de las glándulas mamarias en ratones C3H/HeN-MTV+, basándose en las normas del National Cancer Institute. Se dedujo la acción inmunomoduladora de CaPterin mediante comparación de la eficacia antitumoral de CaPterin en cuatro sistemas ratón/tumor diferentes: es decir, los dos citados anteriormente, así como ratones Balb/c con xenoinjertos de EMT6 y ratones SCID con xenoinjertos de MDA-MB-231. La comparación de los resultados obtenidos sometiendo a prueba CaPterin en ratones o bien desnudos o bien SCID (inmunodeficientes gravemente comprometidos) sometidos a implante con células cancerosas humanas MDA-MB-231 mostró una respuesta antitumoral significativa en los ratones desnudos y ninguna respuesta en los ratones SCID. Esta comparación sirve como argumento a favor de la participación inmunológica de células B en el mecanismo de la actividad antitumoral de CaPterin ya que los ratones desnudos poseen capacidad de células B mientras que los ratones SCID no. Esta comparación también indica que no hay toxicidad directa medible de células cancerosas a partir de CaPterin. Los

resultados que no muestran eficacia antitumoral de CaPterin contra células tumorales EMT6 implantadas en ratones Balb/c también sugieren un mecanismo antitumoral que implica células B, ya que se sabe que el factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), producido por las células EMT6, causa la apoptosis de células B. Estos resultados indican que el mecanismo antitumoral de CaPterin implica citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) mediada, por ejemplo, por linfocitos citolíticos naturales (NK), interleucina-2.

Se llevaron a cabo estudios adicionales de las propiedades inmunomoduladoras de CaPterin por Moheño y colaboradores (Winkler *et al*, Immunobiology (2006) 211, 779-84). Encontraron que CaPterin podía suprimir la actividad deIDO, la degradación de triptófano y la producción de neopterina en CMSP estimuladas con PHA y Con A de una forma dependiente de la dosis. En CMSP estimuladas con PHA y Con A, se aumenta la producción de IFN- γ y se induce la degradación de triptófano y la producción de neopterina. La degradación acelerada de triptófano y los altos niveles de expresión deIDO se han asociado con mal pronóstico en pacientes con cáncer.

En la presente memoria se proporciona dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP), que es adecuado como agente antitumoral. Se presentan datos de respuesta a la dosis antitumoral para dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) en dos dosificaciones.

Pueden administrarse cantidades terapéuticamente eficaces de dipterinilo cálcico pentahidratado como suspensión acuosa. Asimismo, se contempla administrar DCP como principio activo en la composición farmacéutica. Por consiguiente, en la presente memoria se proporcionan composiciones farmacéuticas, que incluyen cantidades terapéuticamente eficaces de dipterinilo cálcico pentahidratado y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. El/los portador(es), diluyente(s) o excipiente(s) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los otros componentes de la formulación y no ser perjudiciales para el receptor de la misma. Según otro aspecto de la invención también se proporciona un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica que incluye mezclar dipterinilo cálcico pentahidratado con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para su administración oral pueden presentarse como unidades separadas tales como cápsulas o comprimidos; en polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Por ejemplo, se preparan polvos mediante trituración del compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclado con un portador farmacéutico triturado de manera similar tal como un hidrato de carbono comestible, como, por ejemplo, almidón o manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

Se preparan cápsulas mediante preparación de una mezcla en polvo tal como se describió anteriormente, y mediante carga de cubiertas de gelatina formadas. Pueden añadirse deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla en polvo antes de la operación de carga. También puede añadirse un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desea o es necesario, también pueden incorporarse dentro de la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas sintéticas y naturales tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas farmacéuticas incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, mediante preparación de una mezcla en polvo, mediante granulación o precompresión, adición de un lubricante y disgregante y prensado en comprimidos. Una mezcla de polvo se prepara mezclando el compuesto, triturado adecuadamente, con un diluyente o base tal como se describió anteriormente, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinilpirrolidona, un retardante de disolución tal como parafina, un acelerador de resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla en polvo puede granularse mediante humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o disoluciones de materiales poliméricos o celulósicos y mediante presión a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, puede hacerse pasar la mezcla en polvo a través de la máquina de formación de comprimidos y el resultado son grumos formados de manera imperfecta rotos en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para evitar que se adhieran a las matrices de formación de comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. Entonces se comprime la mezcla lubricada para dar comprimidos. Los compuestos de la presente invención también pueden combinarse con un portador inerte fluido y comprimirse para dar comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o precompresión. Puede proporcionarse un recubrimiento de protección transparente u opaco que consiste en un recubrimiento sellante de goma laca, un recubrimiento de azúcar o material

polimérico y un recubrimiento brillante de cera. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para distinguir las diferentes dosificaciones unitarias.

5 Pueden prepararse fluidos orales tales como disolución, jarabes y elixires en forma de unidad de dosificación de modo que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del compuesto. Los jarabes pueden prepararse mediante disolución del compuesto en una disolución acuosa con sabor adecuado, mientras que los elixires se preparan a través de la utilización de un vehículo alcohólico no tóxico. Pueden formularse suspensiones mediante dispersión del compuesto en un vehículo no tóxico. También pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietilensorbitol, conservantes, aditivos aromatizantes tales como aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

10 Cuando sea apropiado, pueden microencapsularse formulaciones de unidades de dosificación para administración oral. La formulación también puede prepararse para prolongar o sostener la liberación como por ejemplo mediante recubrimiento o incrustación de material particulado en polímeros, cera o similares.

15 Una forma de realización proporciona dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) o un polimorfo del mismo. Otra realización es un procedimiento de síntesis de dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) que comprende disolver pterina en una disolución acuosa de NaOH, añadir $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a la disolución con agitación a un pH de alrededor de 11, continuar la agitación durante alrededor de 1 día y recoger el precipitado como DCP.

20 Se describe un procedimiento de modulación de la producción de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la degradación de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la degradación de triptófano que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

25 Se describe un procedimiento de modulación de la producción de neopterina que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de neopterina que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

30 Se describe un procedimiento de modulación de la producción de IFN- γ que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de IFN- γ que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

35 Se describe un procedimiento de modulación de la actividad de la enzimaIDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad de la enzimaIDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

40 Se describe un procedimiento de modulación de la producción de oxidantes que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de oxidantes que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

45 Se describe un procedimiento de modulación de la producción de radicales libres que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la producción de radicales libres que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

50 Se describe un procedimiento de modulación de la liberación factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κ B que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la liberación factor de transcripción pro-inflamatorio NF- κ B que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

55 Se describe un procedimiento de modulación de la expresión de genes posteriores para una citocina, una quimiocina, molécula de adhesión, factor de crecimiento, enzima y/o inmunorreceptor que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la expresión de genes posteriores para una citocina, una quimiocina, molécula de adhesión, factor de crecimiento, enzima y/o inmunorreceptor que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

60 Se describe un procedimiento de reducción de la actividad inflamatoria en un sujeto que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción de la actividad inflamatoria en un sujeto que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

65

Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la expresión de la enzimaIDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la expresión de la enzimaIDO que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

5 Se describe un procedimiento de modulación de la respuesta de células T humanas que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la respuesta de células T humanas que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

10 Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la tolerancia inmunitaria alogénica que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de reducción o supresión de la tolerancia inmunitaria alogénica que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

15 Se describe un procedimiento de modulación de la resistencia inmunitaria en tumores sólidos humanos que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la resistencia inmunitaria en tumores sólidos humanos que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

20 Se describe un procedimiento de modulación de la actividad antiproliferativa que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de DCP. Se describe un procedimiento de modulación de la actividad antiproliferativa que comprende administrar a un sujeto una cantidad eficaz de suspensión de DCP.

25 Se describe un procedimiento de tratamiento de una infección viral que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I): $M(\text{pterina})_x(\text{H}_2\text{O})_y$ en la que: M es un Ca^{2+} , X es 2; e y es 5.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Síntesis de dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP)

30 Se disolvió pterina pura (81,7 mg, 0,5 mmol) en H_2O (50 ml) y NaOH 0,1 N (6 ml) y se añadió $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (36,7 mg, 0,25 mmol) a la disolución transparente con agitación (pH 10,93). Se formó un precipitado amarillento en un plazo de unos pocos minutos. Se continuó la agitación durante 1 día y entonces se recogió el precipitado y se secó en un desecador de vacío para dar 75 mg. El análisis elemental concuerda con $(\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_5\text{O})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (PM 454,4).

Calculado	C: 31,74	H: 4,00	N: 30,85
Hallado	C: 31,22	H: 3,97	N: 29,83

35 La comparación de las extinciones de los espectros UV de pterina y $(\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_5\text{O})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tomados a pH 13 muestran lo siguiente:

Pterina	223 nm (8,700), 250 nm (21,380), 375 nm (8,510)
$(\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_5\text{O})_2\text{Ca} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	223 nm (14,450), 250 nm (39,810), 375 nm (13,490)

40 La estructura de DCP determinada mediante difracción de rayos X de monocristal se muestra en la figura 2.

Suspensiones de dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP):

45 Se preparó una suspensión de 1,1 mg/ml mezclando 44 mg de dipterinilo cálcico pentahidratado en 40 ml de H_2O destilada. Se preparó una suspensión de 3,3 mg/ml mezclando 132 mg de dipterinilo cálcico pentahidratado en 40 ml de H_2O destilada.

Ejemplo 2 - Pruebas *in vivo*

50 Inoculación y propagación de la línea celular: se suministraron las líneas celulares del tumor de mama humano MDA-MB-231 por SRI International (Menlo Park, CA) y se propagaron utilizando procedimientos convencionales de expansión celular *in vitro*. En resumen, se hicieron crecer células en medios L-15 de Gibco (n.º de cat. 11415-064) complementado con L-glutamina 2 mM y suero bovino fetal (FBS) al 10%. Se cultivaron las células en una incubadora con CO_2 al 5%, 37,50C y el 80% de humedad. Se recogieron las células con una disolución de tripsina al 0,25% (p/v)- EDTA al 0,03%(p/v). Se prepararon las células para inyección mediante procedimientos convencionales a concentraciones adecuadas. Se restringieron los animales temporalmente, pero no se anestesiaron, para la inoculación de las células tumorales. Se inyectaron por vía subcutánea a los animales las células tumorales en un volumen de 100-200 μl .

60 Cuidado de animales: se alojaron los animales 4 por jaula en jaulas microaislantes aprobadas. Los lechos de las jaulas y los artículos relacionados se trataron en autoclave antes de utilizarse. No se alojó ninguna otra especie en la(s) misma(s) sala(s) que los animales experimentales. Se ventilaron correctamente las salas (más de 10 cambios

de aire por hora) con aire nuevo al 100% (sin recirculación de aire). Se mantuvo un fotoperíodo de 12 horas de luz/12 horas de oscuridad, excepto cuando se encendieron las luces de la sala durante el ciclo de oscuridad para adaptarse a procedimientos de estudio. Se mantuvo la temperatura ambiental entre 16-22°C. Se llevó a cabo la limpieza de la jaula y la sala de animales según SOP (procedimientos normalizados de trabajo) de Perry Scientific.

5 Los animales tuvieron acceso a voluntad a comida para ratones de ProLab irradiada. Agua corriente municipal, clorada y tratada en autoclave, estaba disponible a voluntad para cada animal mediante botellas de agua. El tratamiento de los animales fue según SOP de Perry Scientific, que se adhiere a los reglamentos expuestos en el USDA Animal Welfare Act (9 CFR, partes 1, 2 y 3) y las condiciones especificadas en The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (ILAR publication, 1996, National Academy Press). El protocolo se aprobó por el Institutional Animal Care and Use Committee de Perry Scientific antes del inicio del estudio. La realización del estudio fue en general en cumplimiento con los reglamentos de las buenas prácticas de laboratorio de la FDA de los EE.UU. actualmente en vigencia (21 CFR, parte 58).

15 Se evaluó la eficacia antitumoral en ratones desnudos con xenoinjertos de tumor humano MDA-MB-231 por Perry Scientific (San Diego, CA). Se inyectaron a veintinueve ratones atímicos desnudos cada uno por vía subcutánea 10×10^6 células cancerosas MDA-MB-231 en el costado derecho. Cuando los tumores alcanzaron 3-5 mm de tamaño, se dividieron los ratones en cinco grupos de tratamiento de cinco cada uno y un grupo control de cuatro ratones. Se excluyeron cuatro de estos con tamaños de tumor alejados o sin tumor poco después de empezar el tratamiento: uno de cada uno del grupo de pterina cálcica (1:4 mol:mol), el grupo de pterina cálcica (1:2 mol:mol), el grupo de DCP (69 mg/kg/día) y uno del grupo control. Se trataron los grupos experimentales por sonda oral una vez al día con las suspensiones o disoluciones de prueba indicadas. No se trataron los grupos control. La dosificación diaria fue durante 7 días por semana. Se restringieron los animales pero no se anestesiaron para la dosificación oral. Se midieron los tumores dos veces por semana con calibrador y se midieron los pesos corporales dos veces por semana en el día de las mediciones de tumor. Se extrajo sangre de todos los animales mediante punción cardiaca en la terminación (después de 70 a 98 días de tratamiento) y se procesó a plasma de EDTA para su análisis.

25 Mediciones de la tasa de crecimiento tumoral: se siguió individualmente a cada animal para determinar el crecimiento tumoral mediante mediciones externas con calibre del tumor sobresaliente. Se midieron los tamaños de tumor primario utilizando calibres y se calculó un volumen tumoral aproximado utilizando la fórmula $\frac{1}{2}(a \times b^2)$, en la que b era el menor de dos diámetros perpendiculares.

30 Para cada grupo, se trazaron la media y el error estándar de la media (EEM) de la razón V/V_0 , el volumen tumoral relativo (RTV) como función del tiempo de tratamiento después de la inoculación. V_0 era el volumen tumoral en el día 0, cuando se inició el tratamiento. Se utilizaron análisis estadísticos de transcurso de tiempo basados en modelos de ANOVA de medidas repetidas (StatView SE + Graphics, v 1.03).

Resultados

40 La figura 1 muestra que pterina cálcica (forma 1:4 mol:mol), dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) a ambas dosificaciones sometidas a prueba y cloruro de calcio dihidratado inhiben significativamente el crecimiento de xenoinjerto de MDA-MB-231 en ratones desnudos. Estos hallazgos identifican a nueva forma eficaz de pterina cálcica, dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP). Los datos del tamaño del tumor para el grupo control en los días 4 y 7 se perdieron debido a un descuido técnico.

45 No se observó toxicidad, según se determina por cambios del peso corporal (véase la figura 3), entre cualquiera de los grupos de ratones en este experimento. La figura 1 muestra que el dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) a 23 mg/kg/día presenta una eficacia antitumoral significativamente mayor que el CaPterin original, pterina cálcica (1:4 mol:mol). Sin embargo, el DCP a 69 mg/kg/día presenta una eficacia equiparable. En conjunto, estos hallazgos implican que parece que hay una dosificación óptima de DCP para una actividad antitumoral máxima.

50 Conclusión: los resultados muestran que el dipterinilo cálcico pentahidratado oral inhibe los xenoinjertos de tumores MDA-MB-231 en ratones desnudos de manera significativamente mayor que la pterina cálcica [CaPterin] (1:4 mol:mol).

55 La determinación de la dosis óptima en ratones desnudos se muestra en la figura 4.

La comparación de DCP con otras formas de pterina cálcica se muestra en las figuras 5 y 6.

60 La comparación con otros agentes quimioterápicos comunes se muestra en las figuras 7, 8 y 9.

Los datos comparativos para las figuras 7, 8 y 9 se obtuvieron de las siguientes referencias:

Paclitaxel:

- Milacic V, Chen D, Ronconi L, Landis-Piwowar KR, Fregona D, Dou QP. A novel anticancer gold(III) dithiocarbamate compound inhibits the activity of a purified 20S proteasome and 26S proteasome in human breast cancer cell cultures and xenografts. *Cancer Res.* 1 de noviembre de 2006;66(21):10478-86.
- 5 LaMontagne KR, Butler J, Marshall DJ, Tullai J, Gechtman Z, Hall C, Meshaw A, Farrell FX. Recombinant epoetins do not stimulate tumor growth in erythropoietin receptor-positive breast carcinoma models. *Mol Cancer Ther.* Febrero de 2006;5 (2):347-55.
- 10 Emi M, Kim R, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. Targeted therapy against Bcl-2-related proteins in breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* 2005;7(6):R940-52. Epub 28 de setiembre de 2005.
- Jones LW, Eves ND, Courneya KS, Chiu BK, Baracos VE, Hanson J, Johnson L, Mackey JR. Effects of exercise training on antitumor efficacy of doxorubicin in MDA-MB-231 breast cancer xenografts. *Clin Cancer Res.* 15 de setiembre de 2005;11(18): 6695-8.
- 15 Yen WC, Lamph WW. The selective retinoid X receptor agonist bexarotene (LGD1069, Targretin) prevents and overcomes multidrug resistance in advanced breast carcinoma. *Mol Cancer Ther.* Mayo de 2005;4(5):824-34.
- 20 Han GZ, Liu ZJ, Shimoi K, Zhu BT. Synergism between the anticancer actions of 2-methoxyestradiol and microtubule-disrupting agents in human breast cancer. *Cancer Res.* 15 de enero de 2005;65(2):387-93.
- Liao Y, Zou YY, Xia WY, Hung MC. Enhanced paclitaxel cytotoxicity and prolonged animal survival rate by a nonviral-mediated systemic delivery of E1A gene in orthotopic xenograft human breast cancer. *Cancer Gene Ther.* Setiembre de 2004; 11(9):594-602.
- 25 Mewani RR, Tang W, Rahman A, Dritschilo A, Ahmad I, Kasid UN, Gokhale PC. Enhanced therapeutic effects of doxorubicin and paclitaxel in combination with liposome-entrapped ends-modified raf antisense oligonucleotide against human prostate, lung and breast tumor models. *Int J Oncol.* Mayo de 2004;24(5):1181-8.
- 30 FTI (inhibidor de la farnesil transferasa):
- Warnberg F, White D, Anderson E, Knox F, Clarke RB, Morris J, Bundred NJ. Effect of a farnesyl transferase inhibitor (R115777) on ductal carcinoma in situ of the breast in a human xenograft model and on breast and ovarian cancer cell growth in vitro and in vivo. *Breast cancer Res.* 2006;8(2):R21. Epub 12 de abril de 2006.
- 35 Doxorubicina:
- Emi M, Kim R, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. Targeted therapy against Bcl-2-related proteins in breast cancer cells. *Breast cancer Res.* 2005;7(6):R940-52. Epub 28 de setiembre de 2005.
- 40 Hoke EM, Maylock CA, Shacter E. Desferal inhibits breast tumor growth and does not interfere with the tumoricidal activity of doxorubicin. *Free Radic Biol Med.* 1 de agosto de 2005;39(3):403-11. Epub 12 de abril de 2005.
- 45 Yen WC, Lamph WW. The selective retinoid X receptor agonist bexarotene (LGD1069, Targretin) prevents and overcomes multidrug resistance in advanced breast carcinoma. *Mol Cancer Ther.* Mayo de 2005;4(5):824-34.
- Mewani RR, Tang W, Rahman A, Dritschilo A, Ahmad I, Kasid UN, Gokhale PC. Enhanced therapeutic effects of doxorubicin and paclitaxel in combination with liposome-entrapped ends-modified raf antisense oligonucleotide against human prostate, lung and breast tumor models. *Int J Oncol.* Mayo de 2004;24(5):1181-8.
- 50 Woessner R, An Z, Li X, Hoffman RM, Dix R, Bitonti A. Comparison of three approaches to doxorubicin therapy: free doxorubicin, liposomal doxorubicin, and beta-glucuronidase-activated prodrug (HMR 1826). *Anticancer Res.* Julio-agosto de 2000;20(4):2289-96.
- 55 Docetaxel:
- Emi M, Kim R, Tanabe K, Uchida Y, Toge T. Targeted therapy against Bcl-2-related proteins in breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* 2005;7(6):R940-52. Epub 28 de setiembre 2005.
- 60 Sweeney CJ, Mehrotra S, Sadaria MR, Kumar S, Shortle NH, Roman Y, Sheridan C, Campbell RA, Murry DJ, Badve S, Nakshatri H. The sesquiterpene lactone parthenolide in combination with docetaxel reduces metastasis and improves survival in a xenograft model of breast cancer. *Mol Cancer Ther.* Junio de 2005;4(6):1004-12.
- 65 Cisplatino:

Yen WC, Lamph WW. The selective retinoid X receptor agonist bexarotene (LGD1069, Targretin) prevents and overcomes multidrug resistance in advanced breast carcinoma. *Mol Cancer Ther.* Mayo de 2005;4(5):824-34.

Epirubicina:

5 Yamamoto D, Tanaka K, Nakai K, Baden T, Inoue K, Yamamoto C, Takemoto H, Kamato K, Hirata H, Morikawa S, Inubushi T, Hioki K. Synergistic effects induced by cycloprodigosin hydrochloride and epirubicin on human breast cancer cells. *Breast cancer Res Treat.* Marzo de 2002;72(1):1-10.

10 Ospemifeno:

Taras TL, Wurz GT, DeGregorio PM. In vitro and in vivo biologic effects of Ospemifene (FC-1271a) in breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* Junio de 2001;77(4-5):271-9.

15 Tamoxifeno:

Cameron DA, Ritchie AA, Langdon S, Anderson TJ, Miller WR. Tamoxifen induced apoptosis in ZR-75 breast cancer xenografts antedates tumour regression. *Breast cancer Res Treat.* Setiembre de 1997;45(2):99-107.

20 Jordan VC, Gottardis MM, Robinson SP, Friedl A. Immune-deficient animals to study "hormone-dependent" breast and de endometrio cancer. *J Steroid Biochem.* 1989;34(1-6):169-76.

Toremifeno:

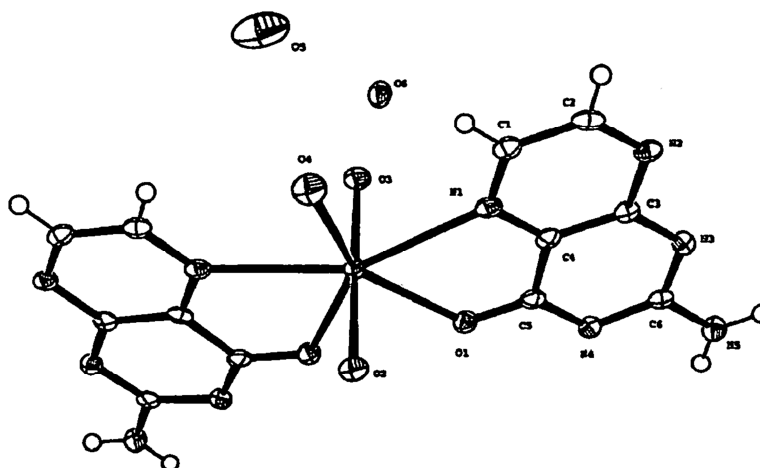
25 Robinson SP, Parker CJ, Jordan VC. Preclinical studies with toremifene as an antitumor agent. *Breast cancer Res Tratar.* Agosto de 1990;16 Suppl: S9-17. Review.

30 Robinson SP, Jordan VC. Antiestrogenic action of toremifene on hormone-dependent, -independent, and heterogeneous breast tumor growth in the athymic mouse. *Cancer Res.* 1 de abril de 1989;49(7):1758-62.

REIVINDICACIONES

1. Dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP).

5 2. DCP según la reivindicación 1, en forma del polimorfo que presenta la estructura:



3. Procedimiento de síntesis de dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP), que comprende:

10

disolver pterina en una disolución acuosa de NaOH,

añadir $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a la disolución con agitación a un pH de aproximadamente 11,

15

continuar la agitación durante 1 día aproximadamente, y

recoger el precipitado como DCP.

4. Composición farmacéutica, que comprende dipterinilo cálcico pentahidratado (DCP) y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

5. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en forma de una suspensión.

6. DCP o composición farmacéutica del mismo según las reivindicaciones 4 ó 5, para su utilización en terapia.

25

7. DCP o composición farmacéutica del mismo según las reivindicaciones 4 ó 5, para su utilización en el tratamiento de enfermedades antiproliferativas.

8. DCP o composición farmacéutica del mismo según las reivindicaciones 4 ó 5, para su utilización en la modulación de la resistencia inmunitaria en tumores sólidos humanos.

30

9. DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según la reivindicación 7, en el que la enfermedad antiproliferativa se selecciona de entre cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer del endometrio, cáncer de próstata, cáncer gástrico, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de páncreas, cáncer colorrectal, cánceres de pulmón de células no pequeñas, cánceres bucales y carcinoma cutáneo de células escamosas.

35

10. DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según la reivindicación 7, en el que la enfermedad antiproliferativa es cáncer de mama.

11. DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10, para su utilización en el tratamiento de un sujeto que se somete a una o más terapias adicionales.

40

12. DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según la reivindicación 11, en el que dicha una o más terapias adicionales comprenden una o más de entre cirugía, radioterapia, quimioterapia, quimioterapia de dosis alta con trasplante de células madre, terapia hormonal y terapia con anticuerpos monoclonales.

45

13. DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 12, a una dosis comprendida entre 600 mg/día y 4200 mg/día.

14.DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según la reivindicación 13, a una dosis comprendida entre 1200 mg/día y 3600 mg/día.

5 15.DCP o composición farmacéutica del mismo para su utilización según la reivindicación 13, a una dosis comprendida entre 1800 mg/día y 3000 mg/día.

Figura 1A

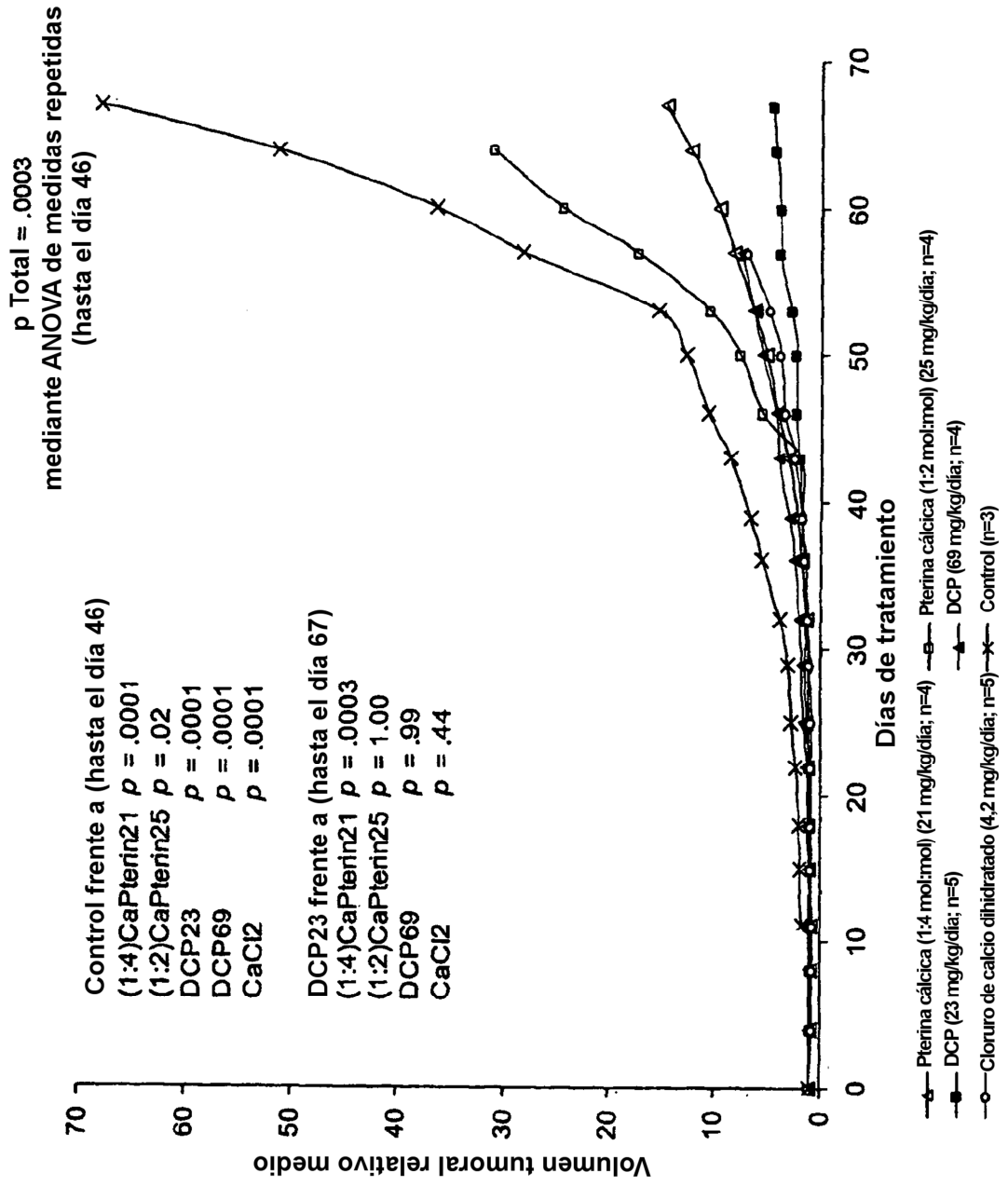
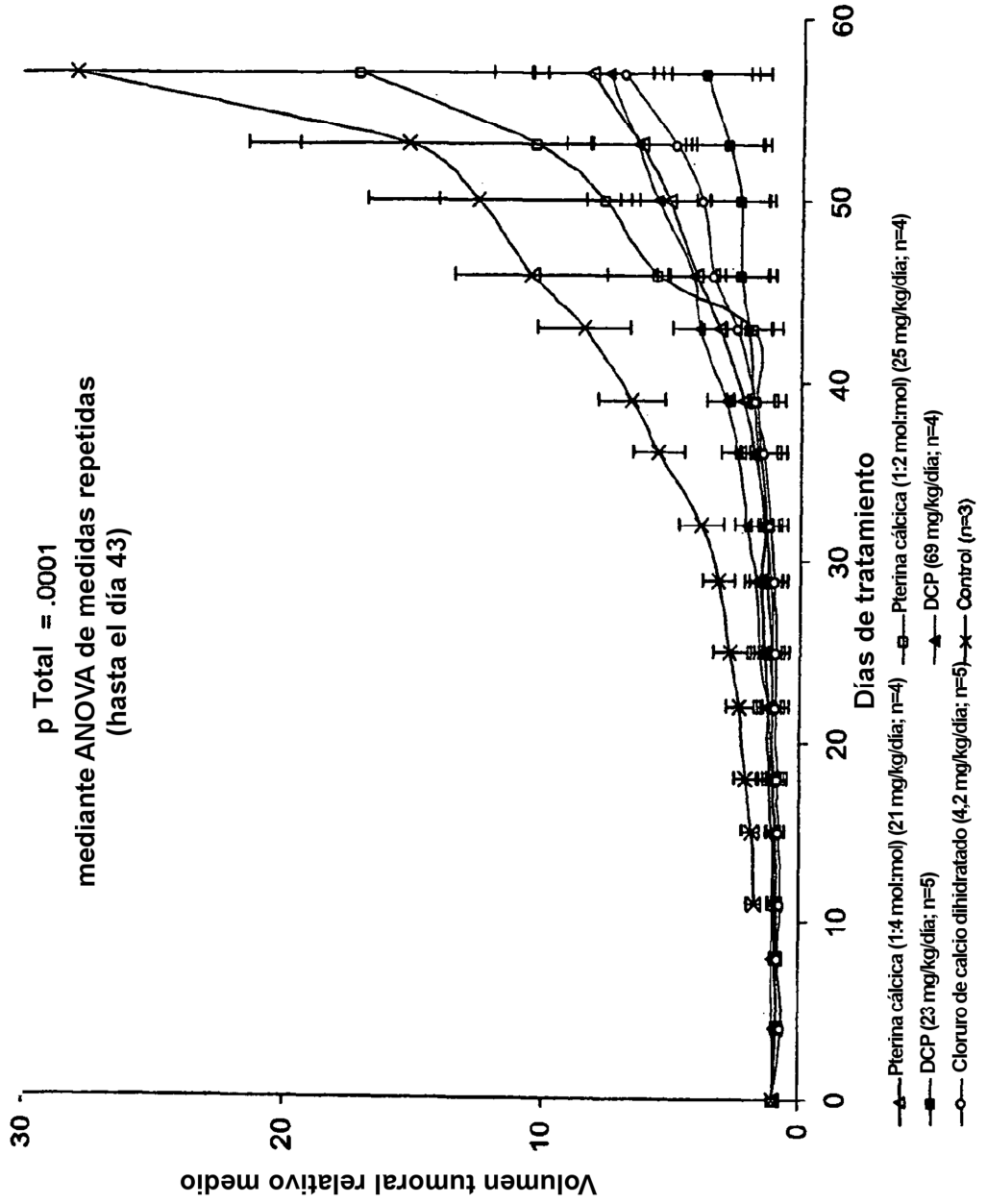


Figura 1B



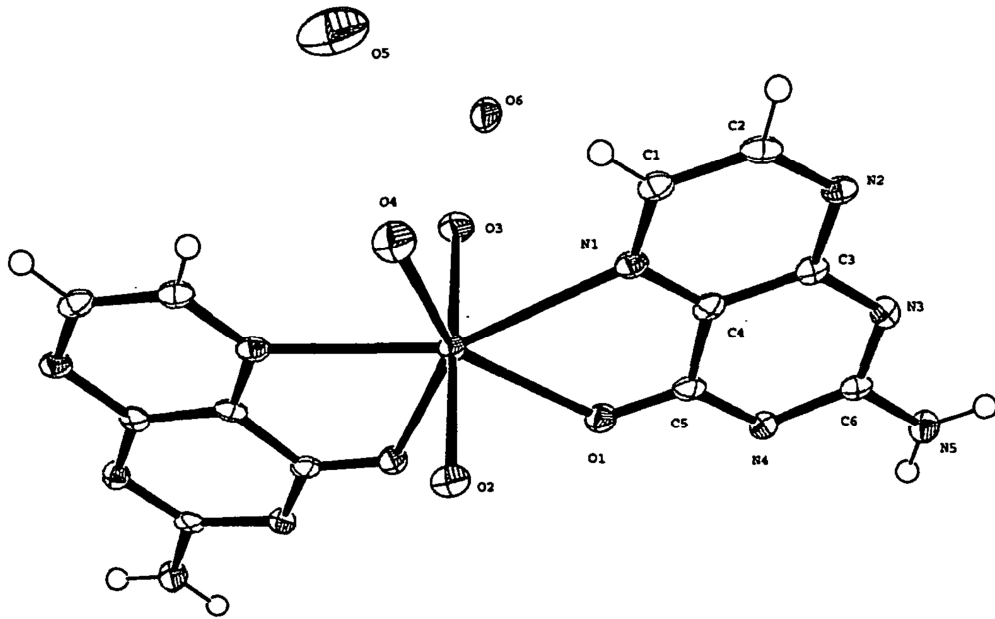


Figura 2. Estructura de DCP determinada mediante difracción de rayos X de monocristal

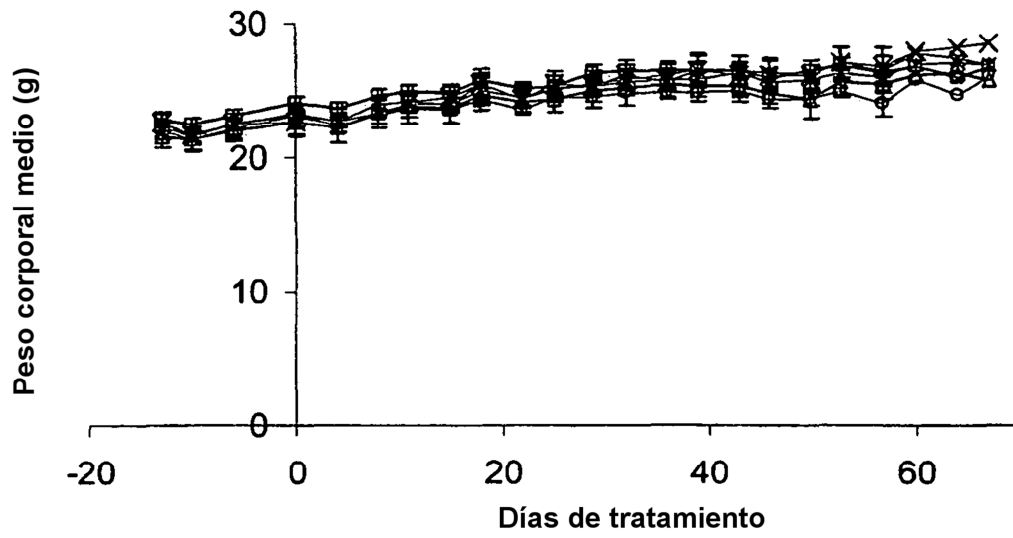


Figura 3. Los ratones desnudos tratados con DCP no mostraron pérdida de peso significativa

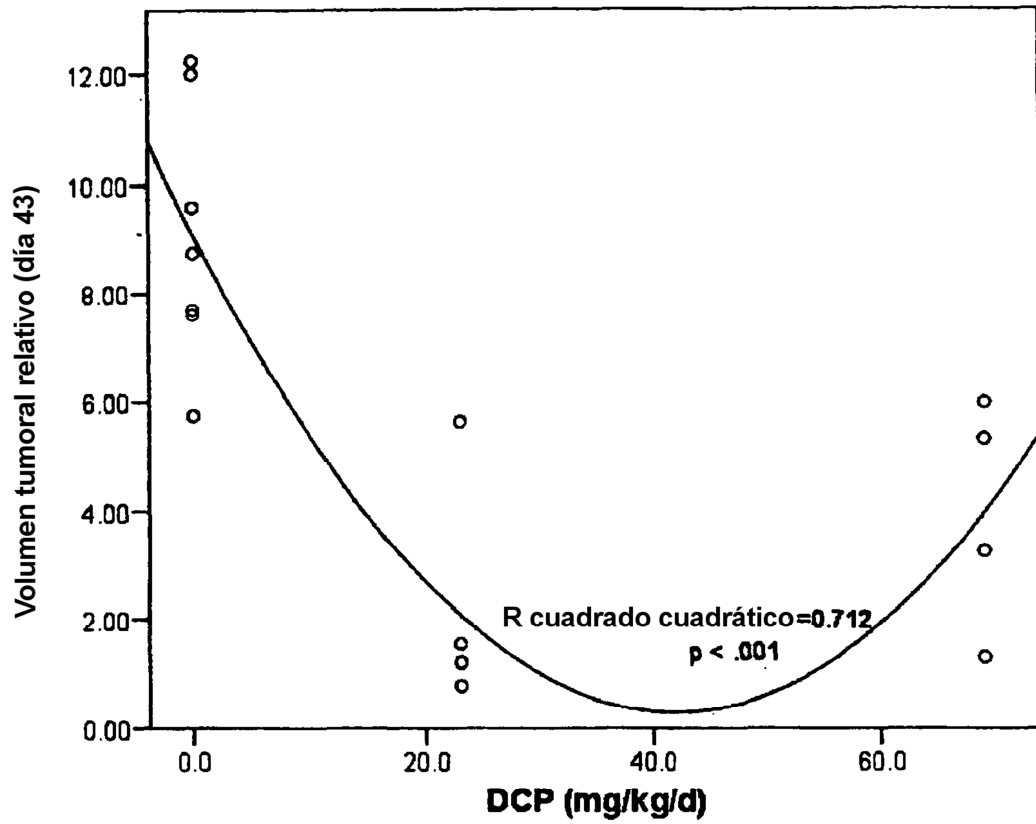


Figura 4. Determinación de la dosis óptima en ratones desnudos

Crecimiento tumoral en el día 46 de xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 en ratones desnudos

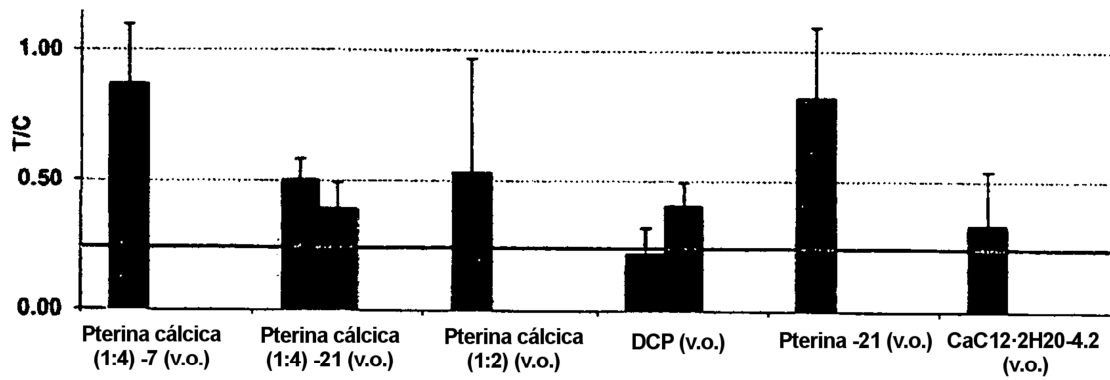


Figura 5. Comparación de DCP con otras formas de pterina cálcica después de 46 días de tratamiento

Crecimiento tumoral en el día 57 de xenoinjertos de cáncer de mama humano MDA-MB-231 en ratones desnudos

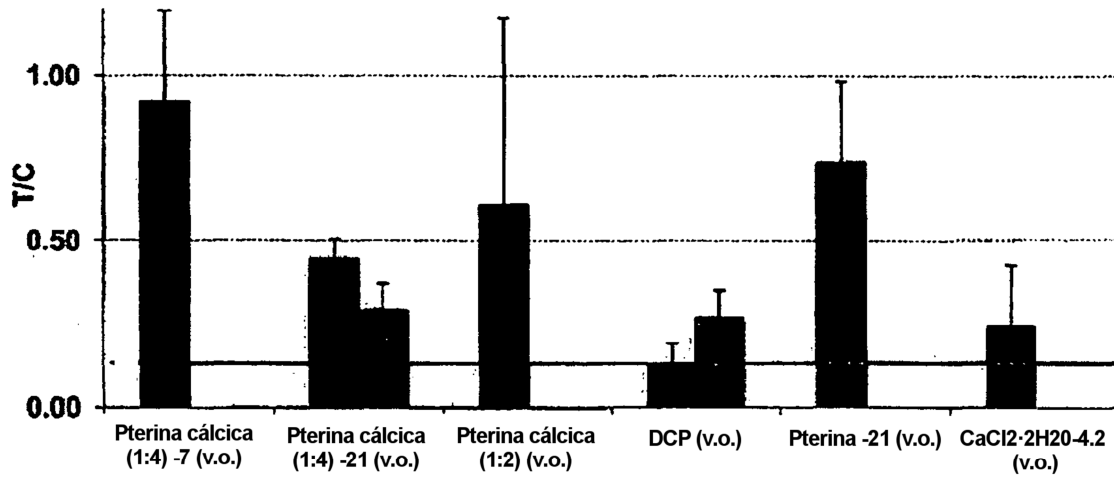


Figura 6. Comparación de DCP con otras formas de pterina cálcica después de 57 días de tratamiento

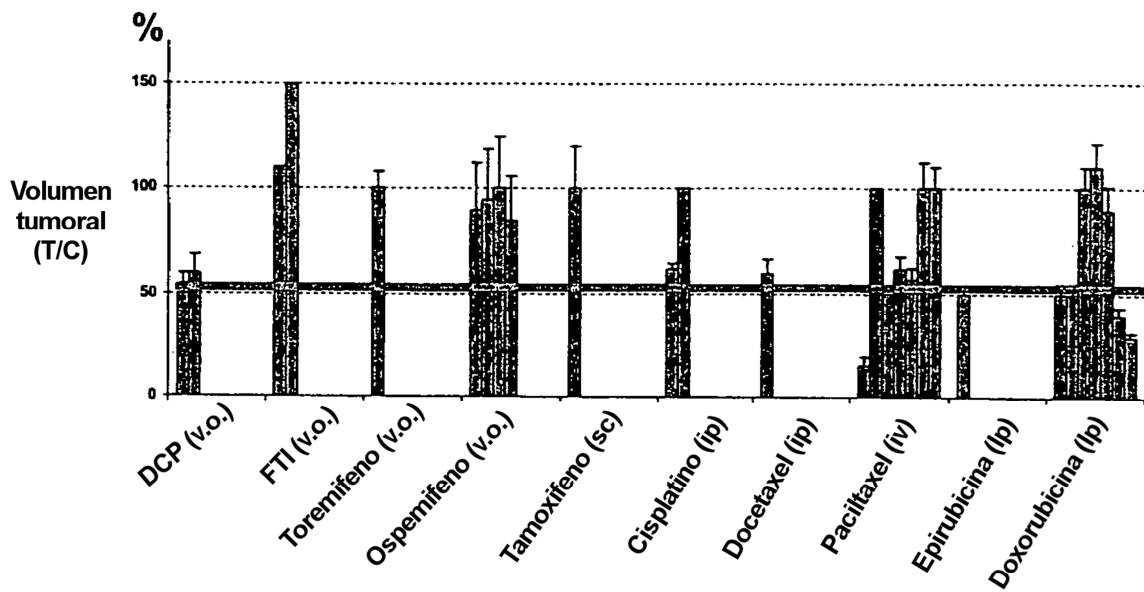


Figura 7. Valores de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con MDA-MB-231 después de 11 días de tratamiento.

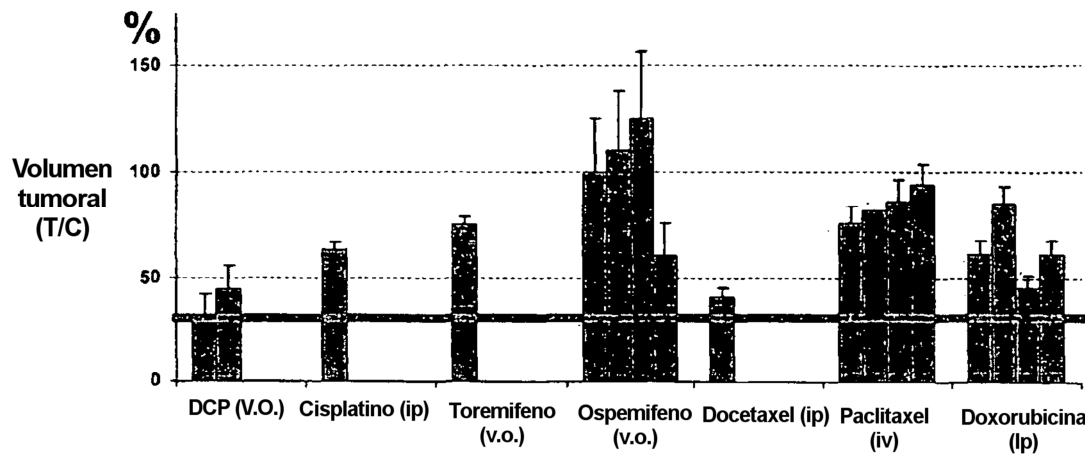


Figura 8. Valores de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con MDA-MB-231 después de 36 días de tratamiento

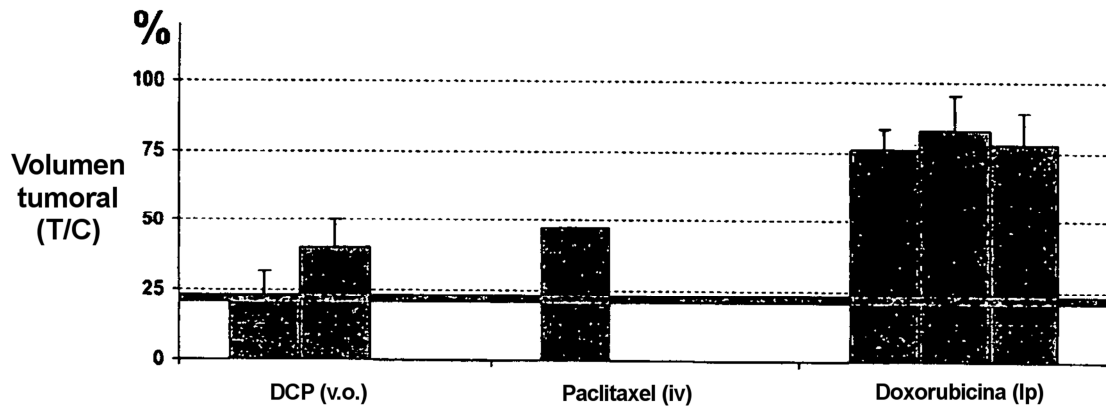


Figura 9. Valores de tratamiento/control (T/C) en ratones desnudos con MDA-MB-231 después de 47 días de tratamiento