

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 088**

51 Int. Cl.:

**C07H 19/04** (2006.01)

**A61K 31/7052** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2010 PCT/US2010/030073**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.10.2010 WO10118006**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2010 E 10713754 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2417146**

54 Título: **Derivados de (2'-Desoxi-Ribofuranosil)-1,3,4,7-Tetrahidro-(1,3)Diazepin-2-ona para Tratamiento de Cáncer**

30 Prioridad:

**06.04.2009 US 167112 P**

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

**05.12.2016**

73 Titular/es:

**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)  
2-9, Kanda Tsukasa-machi, Chiyoda-ku  
Tokyo, 101-8535, JP**

72 Inventor/es:

**BELYAKOV, SERGEI;  
DUVALL, BRIDGET;  
FERRARIS, DANA;  
HAMILTON, GREGORY y  
VAAL, MARK**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 593 088 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Derivados de (2'-Desoxi-Ribofuranosil)-1,3,4,7-Tetrahidro-(1,3)Diazepin-2-ona para Tratamiento de Cáncer

## 5 Antecedentes de la Invención

El cáncer es la segunda causa más común de muerte en los EE.UU., sólo superado por las enfermedades del corazón, y es responsable de 1 de cada 4 muertes. Desde 1990, sólo en los EE.UU., casi cinco millones de vidas se han perdido por algún tipo de cáncer.

10

Por ejemplo, el cáncer de mama afecta anualmente a 186.000 mujeres en los EE.UU., y la tasa de mortalidad de esta enfermedad se ha mantenido sin cambios desde hace 50 años. La resección quirúrgica de la enfermedad a través de la mastectomía radical, mastectomía radical modificada, o lumpectomía sigue siendo el pilar del tratamiento para esta afección. Desafortunadamente, un alto porcentaje de aquellos tratados con lumpectomía solo desarrollarán una recurrencia de la enfermedad.

15

El cáncer de pulmón es la causa más común de muerte por cáncer en ambos sexos en los Estados Unidos. El cáncer de pulmón puede ser resultado de un tumor primario que se origina en el pulmón o un tumor secundario que se ha diseminado desde otro órgano, como el intestino o mama. El cáncer de pulmón primario se divide en tres tipos principales; cáncer de pulmón de células pequeñas; cáncer de pulmón de células no pequeñas; y mesotelioma. Existen tres tipos de cáncer de pulmón de células no pequeñas: carcinoma de células epidermoides, adenocarcinoma y carcinoma de células grandes. El mesotelioma es un tipo raro de cáncer que afecta el revestimiento del pulmón llamado pleura, y con frecuencia es provocado por la exposición a asbestos.

20

El cáncer de ovario representa aproximadamente el 3% de todos los cánceres entre mujeres y ocupa el segundo lugar entre los cánceres ginecológicos, después del cáncer del cuerpo uterino. El cáncer de ovario afecta a más de 20.000 mujeres en los Estados Unidos cada año y provoca unas 15.000 muertes al año. Si la enfermedad se diagnostica en la etapa localizada, la tasa de supervivencia a 5 años es superior al 90%; Sin embargo, sólo aproximadamente 19% de los casos se detecta en esta etapa.

25

30

La incidencia de cáncer de páncreas ha aumentado constantemente en los últimos veinte años en la mayoría de los países industrializados, que exhiben características de un problema epidemiológico en crecimiento.

La leucemia es un tipo de cáncer que afecta a las células de la sangre. Entre los regímenes de tratamiento prescritos actualmente para la leucemia está la irradiación corporal total y quimioterapia. Sin embargo, los dos regímenes de tratamiento, plantean un dilema clínico: ya que la leucemia es un cáncer de la sangre, todas las células en la sangre y todas las células que se presentan en la médula ósea se deben tratar con el fin de asegurar la destrucción de las células neoplásicas. La destrucción de todas estas células deja al paciente en un estado gravemente inmunodeprimido que podría ser fatal como la leucemia.

35

40

Algunos medicamentos contra el cáncer se metabolizan por las enzimas presentes en la naturaleza de un organismo tal como adenosina desaminasa (ADA, EC 3.5.4.4) y citidina desaminasa (CDA, también llamada citosina de nucleósido desaminasa, aminohidrolasa citidina, o EC 3.5.4.5). Estas enzimas funcionan para desaminar los nucleósidos de aminopurina natural y aminopirimidina, respectivamente, en uracilos y otros. Estas enzimas también convierten los fármacos contra el cáncer a base de nucleósidos activos en metabolitos inactivos. Por ejemplo, la arabinosiladenina del fármaco de nucleósido de purina (fludarabina, ara-A) se desamina por ADA; el compuesto resultante, con el grupo amino progenitor reemplazado con hidroxilo, se inactiva como un agente antitumoral en comparación con el compuesto progenitor. Del mismo modo, la arabinosilcitosina del fármaco antileucémico (también denominado citarabina, Ara-C (o AraC); 4-amino-1-(β-D-arabinofuranosil)-2(1H)-pirimidinona; arabinósido de citosina, o 1-(β-D-arabinofuranosil) citosina) se degrada metabólicamente por CDA en arabinosiluracilo inactivo.

45

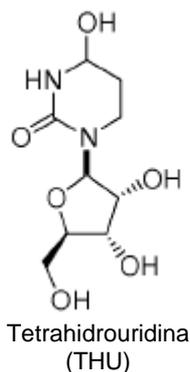
50

La CDA es un componente de la ruta de pirimidina de salvamento. Convierte la citidina y desoxicitidina a uridina y desoxiuridina, respectivamente, mediante desaminación hidrolítica (Arch. Biochem. Biophys. 1991, 290, 285-292; Métodos Enzymol. 1978, 51, 401-407; Biochem. J. 1967, 104, 7P). También desamina un número de análogos de citosina sintéticos que son fármacos útiles, tales como ara-C mencionados anteriormente (Cancer Chemother. Pharmacol. 1998, 42, 373-378; Cancer Res. 1989, 49, 3015-3019; Antiviral Chem. Chemother. 1990, 1, 255-262). La conversión de los compuestos de citosina a los derivados de uridina generalmente confiere pérdida de actividad terapéutica o adición de efectos secundarios. También se ha mostrado que los cánceres que adquieren resistencia a los fármacos análogos de citosina a menudo sobreexpresan CDA (Leuk. Res. 1990, 14, 751-754). Las células leucémicas que expresan un alto nivel de CDA pueden manifestar resistencia a los antimetabolitos de citosina y por lo tanto limitan la actividad antineoplásica de dichos productos terapéuticos (Biochem. Pharmacol. 1993, 45, 1857-1861).

55

60

La tetrahidrouridina (THU, o 1(β-D-Ribofuranosil)-4-hidroxitetrahidropirimidin-2(1H)-ona) se ha conocido como un inhibidor de citidina desaminasa durante un número de años.



5 Diversos informes han sugerido que la administración conjunta con THU aumenta la eficacia y actividad oral de los fármacos a base de citidina. Por ejemplo, se ha demostrado que la THU aumenta la actividad oral de del agente antileucémico 5-azacitidina (también denominado AzaC, 4-amino-1- (β-D-ribofuranosil)-1,3,5-triazin-2(1H)-ona; o 1-(β-D-ribofuranosil) -5-azacitosina) en ratones leucémicos L1210 (Cancer Chemotherapy Reports 1975, 59, 459-465).  
10 También se ha estudiado la combinación de THU más 5-azacitidina en un modelo de anemia de células falciformes de babuino (Am. J. Hematol. 1985, 18, 283-288), y en pacientes humanos con anemia de células falciformes en combinación con 5-azacitidina administrada por vía oral (Blood 1985, 66, 527-532).

También se ha mostrado que la THU mejora la eficacia oral de ara-C en ratones leucémicos L1210 (Cancer Research 1970, 30, 2166; Cancer Invest 1987, 5, (4), 293-9), y en ratones que llevan tumor (Cancer Treat. Rep. 1977, 61, 1355-1364).  
15 Se ha investigado la combinación de ara-C administrada por vía intravenosa con THU administrada por vía intravenosa en diversos estudios clínicos en humanos (Cancer Treat. Rep. 1977, 61, 1347-1353; Cancer Treat. Rep. 1979, 63, 1245-1249; Cancer Res. 1988, 48, 1337-1342). En particular, se han realizado estudios de combinación en pacientes con leucemia mieloide aguda (AML) y leucemia mieloide crónica (CML) (Leucemia 1991, 5, 991-998; Cancer Chemother. Pharmacol. 1993, 31, 481-484).

20 La gemcitabina (también denominada dFdC; 1-(4-amino-2-oxo-1H-pirimidin-1-il)-2-desoxi-2,2-difluoro-β-D-ribofuranosa; o 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidina; o 2',2'-difluoro-2'desoxicitidina), otro fármaco antineoplásico a base de citidina, también se ha estudiado en combinación con inhibidores de CDA (Biochem. Pharmacol. 1993, 45, 1857-1861). Se ha mostrado que la administración conjunta con THU altera la farmacocinética y biodisponibilidad de la gemcitabina en ratones (Abstr. 1556, 2007 AACR Annual Meeting, Abril 14-18, 2007, Los Angeles, CA; Clin. Cancer Res. 2008, 14, 3529-3535).  
25

La 5-fluoro-2'desoxicitidina (fluorocitidina, FdCyd) es otro fármaco contra el cáncer a base de citidina, que es un inhibidor de la metiltransferasa de ADN. Se ha estudiado la modulación de su metabolismo y farmacocinética por THU en ratones (Clin Cancer Res., 2006, 12, 7483-7491; Cancer Chemother. Pharm. 2008, 62, 363-368). El FdCyd en combinación con THU es actualmente objeto de un ensayo clínico en curso identificado por el ensayo clínico del Instituto Nacional del Cáncer No. NCT00378807.  
30

Los resultados de los estudios anteriormente mencionados sugieren que existe una utilidad terapéutica en la administración de inhibidores de la CDA junto con fármacos a base de citidina tales como gemcitabina, ara-C, 5-azacitidina y otros. Sin embargo, los primeros inhibidores de CDA tales como THU sufren de inconvenientes que incluyen la inestabilidad de ácido (J. Med. Chem. 1986, 29, 2351) y una escasa biodisponibilidad (J. Clin. Pharmacol. 1978, 18, 259).  
35

Por lo tanto, subsiste la necesidad continua de inhibidores de CDA nuevos, potentes y terapéuticamente útiles, y nuevas composiciones que sean útiles para el tratamiento de cáncer o enfermedad neoplásica.  
40

Los nucleósidos de diazepinona como inhibidores de citidina desaminasa se describen en Cristalli, G. et al., NUCLEOSIDES & NUCLEOTIDES 1996, 15(10), 1567-1580.

#### 45 Resumen de la invención

Subsiste la necesidad de nuevos tratamientos y terapias para el cáncer y trastornos asociados con cáncer. También subsiste la necesidad de compuestos útiles en el tratamiento o mejora de uno o más síntomas de cáncer. Adicionalmente, subsiste la necesidad de métodos para inhibir la actividad de la enzima citidina desaminasa.  
50

De esta manera, se proporcionan aquí compuestos de la fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, o VIII. También se proporcionan aquí composiciones farmacéuticas que comprenden (i) uno cualquiera de los compuestos de la fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, o VIII y (ii) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, se proporciona aquí un método para inhibir citidina desaminasa que comprende utilizar una cantidad efectiva de cualquier compuesto de las fórmulas I-VIII. En una realización de este método, el compuesto es de la fórmula VIII.

5 En otro aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y cualquier compuesto de las fórmulas I-VIII. En otro aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula I. En aún otro aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula VIII. En ciertas realizaciones de estas composiciones farmacéuticas, el sustrato de CDA  
10 diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor.

En otro aspecto, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer que comprende: administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina; y administrar a un sujeto una  
15 composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula I. En una realización de este método, el sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor.

En otra realización de este método, el cáncer puede ser un cáncer hematológico o un cáncer sólido. Los cánceres hematológicos pueden ser síndromes mielodisplásicos o leucemias. Las leucemias pueden ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. Los cánceres sólidos pueden ser cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, o cáncer de mama metastásico.  
20

En otro aspecto, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer que comprende: administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina; y administrar a un sujeto una  
25 composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula VIII. El sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina o citoclor. En una realización de este método, el cáncer puede ser un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser síndromes mielodisplásicos o leucemias. Las leucemias pueden ser leucemias mieloides agudas o leucemias mieloides crónicas. Los cánceres sólidos pueden ser cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células  
30 no pequeñas, o cáncer de mama metastásico.

En otro aspecto, la invención proporciona aquí el uso del compuesto de la fórmula I para la fabricación de un medicamento para tratamiento de cáncer en un sujeto que se trata con un sustrato de CDA diferente de decitabina. En  
35 aún otro aspecto, la invención proporciona aquí el uso de un compuesto de la fórmula VIII para la fabricación de un medicamento para tratamiento de cáncer en un sujeto que se trata con un sustrato de CDA diferente de decitabina. Para cualquiera de estos usos, el sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor. En una realización de estos usos, el cáncer puede ser cánceres hematológicos o cánceres sólidos. En aún otra realización de estos usos, los cánceres hematológicos pueden ser síndromes mielodisplásicos o leucemias. La leucemia puede ser leucemias mieloides agudas o leucemia mieloide crónica. Los cánceres sólidos pueden ser cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de  
40 células no pequeñas, o cáncer de mama metastásico.

En otro aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende gemcitabina y un compuesto de la fórmula I. En aún otro aspecto, se proporciona aquí una composición farmacéutica que comprende gemcitabina y un  
45 compuesto de la fórmula VIII.

En aún otro aspecto, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer que comprende: administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende gemcitabina; y administrar a un sujeto una composición farmacéutica que  
50 comprende un compuesto de la fórmula I. En otro aspecto, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer que comprende: administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende gemcitabina; y administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula VIII. En una realización de estos métodos, el cáncer puede ser un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser un síndrome mielodisplásico o una leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no  
55 pequeñas, o cáncer de mama metastásico.

En otro aspecto, se proporciona aquí el uso de un compuesto de la fórmula I para la fabricación de un medicamento para tratamiento de cáncer en un sujeto que se trata con una composición que comprende gemcitabina. En otro  
60 aspecto, se proporciona aquí el uso de un compuesto de la fórmula VIII para la fabricación de un medicamento para tratamiento de cáncer en un sujeto que se trata con una composición que comprende gemcitabina. En una realización de estos usos, el cáncer puede ser un cáncer hematológico o un cáncer sólido. Un cáncer hematológico puede ser un síndrome mielodisplásico o una leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda y leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no  
65 pequeñas, o cáncer de mama metastásico.

5 En otro aspecto, se proporciona aquí un método para inhibir la unión de CDA de a un sustrato de CDA diferente de decitabina, que comprende utilizar una cantidad efectiva de cualquier compuesto de las fórmulas I-VIII. En una realización de este método, el sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor. En otra realización de este método, el compuesto es de la fórmula VIII, y el sustrato de CDA diferente de decitabina es gemcitabina.

10 En una realización, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina. En otra realización, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII, (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina.

20 En una realización preferida, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina. En otra realización preferida, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII, (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA diferente de decitabina.

30 En otra realización, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En otra realización, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII, (ii) un sustrato de CDA, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina.

40 En otra realización preferida, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En otra realización preferida, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII, (ii) un sustrato de CDA, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un sustrato de CDA; con la condición de que el sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina.

55 En otra realización, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina. En otra realización, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII, (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina.

65 En otra realización preferida, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina. En otra realización preferida, la presente

5 invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII, (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina. En aún otra realización preferida, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina.

10 En otra realización, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En otra realización, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII, (ii) un profármaco de un sustrato de CDA, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina.

15 En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina.

20 En otra realización, la presente invención se dirige a combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En otra realización, la presente invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII, (ii) un profármaco de un sustrato de CDA, y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina. En aún otra realización, la presente invención se dirige a métodos para tratar el cáncer que comprende administrar a un sujeto composiciones farmacéuticas que comprenden combinaciones de (i) el compuesto dado por la fórmula VIII y (ii) un profármaco de un sustrato de CDA; con la condición de que el profármaco de un sustrato de CDA no es (a) decitabina, ni (b) un profármaco de decitabina.

#### Breve descripción de los dibujos

40 La figura 1 muestra una gráfica del % de pureza del área de HPLC total de ER-876400 (1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) tetrahidrofuran-2-il)-3,4-dihidro-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona) como una función del tiempo en fluido gástrico simulado a 37°C.

45 La figura 2 muestra una gráfica de purezas de % de área de HPLC totales de ER-876437 (1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil) tetrahidrofuran-2-il)-3,4-dihidro-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona) como una función del tiempo en fluido gástrico simulado a 37°C.

50 La figura 3 muestra el efecto de combinar gemcitabina (1 mg/kg) PO y ER-876437 (10 mg/kg) PO en el modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780.

La figura 4 muestra el espectro UV de gemcitabina y ER-876437.

55 La figura 5 muestra cromatogramas de HPLC de gemcitabina en la presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

La figura 6 muestra cromatogramas de HPLC de gemcitabina en la presencia de CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

60 La figura 7 muestra el efecto de ER-876437 sobre los niveles de gemcitabina en la presencia de CDA en el regulador de Tris-HCl a 37°C.

La figura 8 muestra el espectro UV de citaribina y ER-876437.

65 La figura 9 muestra cromatogramas de HPLC de citaribina en la presencia de CDA en el regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

La figura 10 muestra cromatogramas de HPLC de citaribina en la presencia de CDA y ER-876437 en el regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

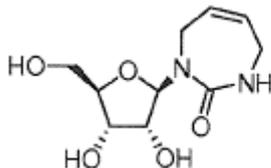
5 La figura 11 muestra el efecto de ER-876437 sobre los niveles de citarabina en la presencia de CDA en el regulador de Tris-HCl a 37°C.

La figura 12 muestra el efecto de ER-876437 sobre los niveles de citarabina en la presencia de CDA en el regulador de Tris-HCl a 37°C.

#### 10 Descripción Detallada de la invención

Las enzimas que desaminan los nucleósidos de aminopurina y aminopirimidina naturales también se pueden convertir en fármacos contra el cáncer activos en compuestos inactivos en el cuerpo humano. Por ejemplo, la enzima citidina desaminasa puede convertir rápidamente el grupo amino de ciertos fármacos en un grupo hidroxilo, haciendo estos compuestos inactivos. Cuando un inhibidor de citidina desaminasa se coadministra con un fármaco que se desamina de otra manera (y en consecuencia desactiva) por esta enzima, se logrará la actividad anti-tumor mejorada.

20 El inhibidor de citidina desaminasa (Z)-3,4-dihidro-1-((2R,3R,4S,5R)-tetrahydro-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) furan-2-il)-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona (también denominado aquí como "ER-876400"; 1-((2R,3R,4S,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-il)-3,4-dihidro-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona; 2H-1,3-Diazepin-2-ona, 1,3,4,7-tetrahydro-1-β-D-ribofuranosil-; o dado por registro químico no. 75421-11-3) se ha descrito en Liu, P.S. et al., J. Med. Chem. 24:662-666 (1981); y en la Patente Estadounidense No. 4,275,057. El ER-876400 se da por la fórmula IX:



IX.

25 (Aquí y en otras partes, donde existen discrepancias entre un nombre del compuesto y una estructura del compuesto, controlará la estructura química).

30 Se han descrito previamente otros inhibidores de citidina desaminasa en la solicitud internacional No. PCT/US2008/80163, presentada el 16 de octubre de 2008; en la solicitud de Patente Estadounidense No. 12/252,961, presentada el 16 de octubre de 2008; y en la solicitud de patente provisional Estadounidense No. 60/980,397, presentada el 16 de octubre de 2007.

35 Se proporciona aquí una nueva clase de inhibidores de citidina desaminasa ("CDA"). Como se describe aquí, estos compuestos tienen una semivida mejorada sobre otros compuestos conocidos. En una realización, los compuestos de la invención tienen una semivida mejorada en fluido gástrico simulado en comparación con ER-876400. Estos compuestos se pueden administrar en combinación con otro medicamento contra el cáncer (por ejemplo, un sustrato de CDA diferente de decitabina) para propósitos de tratar el cáncer (por ejemplo, síndrome mielodisplásico, leucemia, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, o cáncer de mama metastásico).

#### 40 Definiciones

45 Se utilizan las siguientes definiciones a través de esta especificación: Como se utiliza en la especificación y reivindicaciones, las formas singular "un", "una", y "el" incluyen referencias plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. De esta manera, por ejemplo, la referencia a una composición farmacéutica que comprende "un compuesto" puede abarcar dos o más compuestos.

50 "Alquilo" o "grupo alquilo" como se utiliza aquí, significa una cadena recta (es decir, no ramificada), cadena de hidrocarburo ramificada, o cíclica que está completamente saturada. Ejemplos incluyen sin limitación metilo, etilo, propilo, iso-propilo, butilo, iso-butilo, tert-butilo, n-pentilo y n-hexilo. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>1</sub> a C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>5</sub>. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub>. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>3</sub> a C<sub>5</sub>. En algunas realizaciones, la cadena de alquilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>3</sub>. En ciertas realizaciones, el término "alquilo" o "grupo alquilo" incluye un grupo cicloalquilo, también conocido como un carbociclo. Grupos alquilo C<sub>1-3</sub> de ejemplo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, y ciclopropilo.

5 “Alquenilo” o “grupo alquenilo”, como se utiliza aquí, se refiere a una cadena recta (es decir, no ramificada), cadena de hidrocarburo ramificada, o cíclica que tiene uno o más enlaces dobles. Ejemplos incluyen sin limitación etenilo, propenilo, isopropenilo, butenilo, isobutenilo, tert-butenilo, n-pentenilo y n-hexenilo. En algunas realizaciones, la cadena alquenilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, la cadena alquenilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>5</sub>. En algunas realizaciones, la cadena alquenilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub>. En algunas realizaciones, la cadena alquenilo es una cadena de carbono ramificada o no ramificada C<sub>3</sub> a C<sub>5</sub>. De acuerdo con otro aspecto, el término alquenilo se refiere a un hidrocarburo de cadena recta que tiene dos enlaces dobles, también denominados como “dieno”. En otras realizaciones, el término “alquenilo” o “grupo alquenilo” se refiere a un grupo cicloalquenilo.

10 “Éster de alquilo C<sub>1-6</sub>” se refiere a un éster de alquilo C<sub>1-6</sub> donde cada grupo alquilo C<sub>1-6</sub> es como se definió anteriormente. De acuerdo con lo anterior, un grupo éster de alquilo C<sub>1-6</sub> de un alcohol (-OH) tiene la fórmula -C(=O)O(alquilo C<sub>1-6</sub>), en el que el oxígeno terminal ocupa la posición del oxígeno alcohólico.

15 “Éster de alquenilo C<sub>2-6</sub>” se refiere a un éster de alquenilo C<sub>2-6</sub> donde cada grupo alquenilo C<sub>2-6</sub> es como se definió anteriormente. De acuerdo con lo anterior, un grupo de éster de alquenilo C<sub>2-6</sub> de un alcohol (-OH) tiene la fórmula -C(=O)O(alquenilo C<sub>2-6</sub>), en la que el oxígeno terminal ocupa la posición del oxígeno alcohólico.

20 A menos que se indique lo contrario, cuando se describe un grupo bivalente por su fórmula química, que incluye dos unidades estructurales de enlaces terminales indicados por “-”, se entenderá que la unión se lee de izquierda a derecha.

25 A menos que se represente la estereoquímica o de otra forma se establezca o se muestre, las estructuras representadas aquí también pretenden incluir todas las formas enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de enlace doble (Z) y (E), e isómeros conformacionales (Z) y (E). Por lo tanto, los isómeros estereoquímicos individuales así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del alcance de la invención. Cualesquier formas tautómeras de los compuestos de la invención están dentro del alcance de la invención.

30 Adicionalmente, a menos que se indique otra cosa, las estructuras representadas aquí también pretenden incluir compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras excepto para el reemplazo de hidrógeno por deuterio o tritio, o el reemplazo de un carbono por un carbono enriquecido <sup>13</sup>C o <sup>14</sup>C están dentro del alcance de esta invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

35 “Tratamiento”, “tratar” y “que trata” se refieren a invertir, aliviar, retrasar el inicio de, o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno como se describe aquí. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar después de que se han desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento se puede administrar en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar a un individuo susceptible antes del inicio de los síntomas (por ejemplo, a la luz de la historia de los síntomas o a la luz de factores de susceptibilidad genética u otros). El tratamiento también se puede continuar después de que desaparezcan los síntomas, por ejemplo, para mitigar o retrasar su recurrencia. “Tratar”, en referencia a una enfermedad, trastorno o afección también se refiere a: (i) ralentizar una enfermedad, trastorno o afección, por ejemplo, detener su desarrollo; o (ii) aliviar una enfermedad, trastorno o afección, por ejemplo, provocar la regresión de los síntomas clínicos, o (iii) ralentizar una enfermedad, trastorno o afección y aliviar una enfermedad, trastorno o afección.

“Prevención” en referencia a una enfermedad, trastorno o afección se refiere a la prevención de una enfermedad, trastorno o afección, por ejemplo, de que no se desarrollen los síntomas clínicos de enfermedad, trastorno o afección.

50 “Inhibe”, “inhibidor”, y “que inhibe” en referencia a cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII (o los inhibidores de CDA descritos aquí, que incluyen sin limitación alguna de sus sales, ésteres de alquilo o ésteres de alquenilo) se refiere a la reducción de la capacidad de los CDA para unir un sustrato de CDA, por lo tanto reduciendo la capacidad de los CDA para desaminar enzimáticamente un sustrato de CDA. Sin estar limitado por ninguna teoría, la capacidad de un compuesto para inhibir la CDA se puede deber a la capacidad del compuesto para unirse al sitio activo de una proteína particular de CDA reduciendo de ese modo la capacidad de esa proteína de CDA particular de unión de un sustrato de CDA. “Inhibir”, “inhibidor”, e “inhibición” en este contexto no se refiere a una prevención completa de todas las proteínas de CDA de unión de cualquier sustrato de CDA. Más bien, en este contexto, “inhibir”, “inhibidor”, e “inhibición” se refieren a la capacidad de los inhibidores de CDA para reducir la desaminación enzimática de sustratos de CDA mediante CDA. En un aspecto, los métodos de la presente invención comprenden poner en contacto una célula con una cantidad efectiva de un compuesto inhibidor de CDA, es decir, un compuesto de la invención, que inhibe de este modo la actividad de CDA.

60 “Paciente” o “sujeto”, como se utiliza aquí, significa un sujeto animal, preferiblemente un sujeto mamífero (por ejemplo, perro, gato, caballo, vaca, oveja, cabra, mono, etc.), y los sujetos humanos particulares (que incluyen sujetos hombres y

mujeres, y que incluye sujetos neonatos, infantiles, juveniles, adolescentes, adultos y geriátricos). "Sujeto" también se puede referir a una célula o tejido, *in vitro* o *in vivo*, de un animal o un humano.

Como se discute adicionalmente adelante, el término "sustrato de CDA" se refiere a cualquier compuesto que se puede desaminar mediante CDA. En una realización, el sustrato de CDA no es (i) decitabina, ni (ii) un profármaco de decitabina. El término "sustrato de CDA diferente de decitabina" como se utiliza aquí se refiere a un sustrato de CDA que no es (i) decitabina, ni (ii) un profármaco de decitabina. El término "profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina" como se utiliza aquí se refiere a un profármaco de un sustrato de CDA, en el que el sustrato de CDA no es (i) decitabina, ni (ii) un profármaco de decitabina. Un "profármaco de decitabina" es cualquier compuesto que se transforma *in vivo* en decitabina. Ejemplos no limitantes de sustratos de CDA diferentes de decitabina incluyen citidina, desoxicitidina, aza-C (5-azacitidina), gemcitabina, ara-C (1-β-D-arabinofuranosilcitosina), tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, citoclor, 5,6-dihidro-5-azacitidina, 6-azacitidina, y 1-metil-Ψ-isocitidina. Citidina y desoxicitidina sustratos de CDA diferentes de decitabina de origen natural. En una realización particular, el sustrato de CDA diferente de decitabina es gemcitabina.

Como se discute adicionalmente adelante, se puede determinar que un compuesto es un sustrato de CDA a través de por lo menos uno de los siguientes: (i) demostración de cinéticas relevantes de desaminación mediante CDA ( $K_m$ ), y (ii) cambios en su exposición en un sujeto cuando se administra con uno cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII. Un compuesto no necesita ser evaluado positivamente por ambas de estas evaluaciones para ser determinado que es un sustrato de CDA.

Se puede determinar que un compuesto es un sustrato de CDA mediante evaluación de sus cinéticas de desaminación mediante CDA ( $K_m$ ) utilizando ensayos conocidos. Véase, por ejemplo, Bouffard, D. Y. et al., *Biochem. Pharm.* 45(9):1857-1861 (1993); Momparler, R. L. et al., *Biochem. Pharm.* 32(7):1327-1328 (1983); Cacciamani, T. et al., *Arch. Biochem. Biophys.* 290(2): 285-292 (1991); Wentworth, D.F. and Wolfenden, R., *Biochemistry* 14(23): 5099-5105 (1975); and Vincenzetti, S. et al., *Prot. Expression and Purification* 8:247-253 (1996). El valor  $K_m$  para citidina se reportó previamente como  $12 \pm 0.9 \mu\text{M}$ ; el valor  $K_m$  para desoxicitidina se reportó previamente como  $19 \pm 4 \mu\text{M}$ . Chabot et al., *Biochem. Pharm.* 32(7):1327-8 (1983). Adicionalmente, también se reportaron previamente los valores  $K_m$  para ara-C ( $87 \pm 10 \mu\text{M}$ ), gemcitabina ( $95.7 \pm 8.4 \mu\text{M}$ ), y 5-azacitidina ( $216 \pm 51 \mu\text{M}$ ). Id. y Bouffard, D.Y. et al., *Biochem. Pharm.* 45(9):1857-1861 (1993). El valor  $K_m$  para citidina para CDA de hígado humano también se ha reportado como  $9.2 \mu\text{M}$ . Wentworth, D.F. and Wolfenden, R., *Biochemistry* 14(23): 5099-5105 (1975). Esta publicación también identifica el valor  $K_m$  para 5-azacitidina ( $58 \mu\text{M}$ ) y para 6-azacitidina ( $4200 \mu\text{M}$ ). Id.

Por lo tanto, los sustratos de CDA incluyen aquellos compuestos que tienen un valor  $K_m$  de por lo menos más de  $10 \mu\text{M}$  y hasta  $4500 \mu\text{M}$ . El  $K_m$  del sustrato de CDA puede caer dentro del rango de  $10 \mu\text{M}$  a  $500 \mu\text{M}$ , de  $10 \mu\text{M}$  a  $400 \mu\text{M}$ , de  $10 \mu\text{M}$  a  $300 \mu\text{M}$ , de  $10 \mu\text{M}$  a  $200 \mu\text{M}$ , de  $10 \mu\text{M}$  a  $175 \mu\text{M}$ , de  $10 \mu\text{M}$  a  $150 \mu\text{M}$ , o de  $200 \mu\text{M}$  a  $300 \mu\text{M}$ . Alternativamente, el valor  $K_m$  es por lo menos mayor de  $50 \mu\text{M}$  y no mayor de  $500 \mu\text{M}$ . El  $K_m$  del sustrato de CDA puede caer dentro del rango de  $50 \mu\text{M}$  a  $500 \mu\text{M}$ , de  $50 \mu\text{M}$  a  $400 \mu\text{M}$ , de  $50 \mu\text{M}$  a  $300 \mu\text{M}$ , de  $50 \mu\text{M}$  a  $200 \mu\text{M}$ , de  $50 \mu\text{M}$  a  $175 \mu\text{M}$ , o de  $50 \mu\text{M}$  a  $150 \mu\text{M}$ .

También se puede determinar que un compuesto es un sustrato de CDA mediante evaluación de determinados parámetros farmacológicos, cuando se administra a un sujeto simultáneamente o secuencialmente con uno cualquiera de los inhibidores de CDA dados por fórmulas I-VIII. Por ejemplo, la exposición de un compuesto en un sujeto puede aumentar cuando se administra simultáneamente o secuencialmente con uno de los inhibidores de CDA dados por las fórmulas I-VIII. Dicha evaluación mediría (i) la exposición del compuesto cuando se administra solo a un sujeto en comparación con (ii) la exposición del mismo compuesto cuando se administra a un sujeto junto con uno cualquiera de los inhibidores de CDA dados por las fórmulas I-VIII. Cuando se encuentra que la administración simultánea o secuencial de uno cualquiera de los inhibidores de CDA dados por las fórmulas I-VIII aumentará la exposición del compuesto, entonces el compuesto es un sustrato de CDA.

La exposición de un compuesto se puede seguir mediante la toma de una muestra biológica del sujeto (por ejemplo, sangre u orina) y la evaluación de la muestra biológica utilizando técnicas de análisis (por ejemplo, cromatografía radial líquida de alta presión o alto rendimiento, u otros medios analíticos). Las mediciones analíticas se pueden utilizar para determinar el perfil de tiempo de concentración del compuesto y calcular la exposición del compuesto utilizando técnicas bien conocidas. Véase, por ejemplo, Gibaldi, M. and Perrier, D., *Pharmacokinetics*, 2d ed., Marcel Dekker, New York, 1982. Normalmente, la desaparición del compuesto es seguida como una función del tiempo.

Se pueden realizar experimentos de exposición para propósitos de determinar si una sustancia es un sustrato de CDA independientemente de la forma de la sustancia (por ejemplo, sales, polimorfos, o profármacos). De esta manera, por ejemplo, un compuesto se puede administrar a un sujeto como un profármaco, por ejemplo, en una forma protegida metabolizable esterificada u otra. Luego de administración al sujeto, el profármaco puede ser, por ejemplo, des-esterificado liberando de este modo el fármaco activo *in vivo*. Si este fármaco activo es un sustrato de CDA se puede determinar al realizar las mediciones analíticas descritas anteriormente con respecto al fármaco activo. Alternativamente, si el profármaco en sí mismo es un sustrato de CDA se puede determinar al realizar las mediciones analíticas descritas en los dos párrafos precedentes con respecto al profármaco.

Un sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser un fármaco utilizado para tratamiento de un cáncer; o, un fármaco utilizado para tratamiento de cualquier otra enfermedad o dolencia.

5 Como se utiliza aquí, un “profármaco” es una composición que se somete a una modificación *in vivo* cuando se administra a un sujeto, en el que el producto de la modificación *in vivo* es un compuesto terapéuticamente efectivo. Los profármacos de los compuestos se pueden preparar mediante, por ejemplo, la preparación de un compuesto dado como un éster. La forma esterificada del compuesto se puede administrar a un sujeto y se puede desesterificar *in vivo* liberando de este modo un compuesto terapéuticamente efectivo. Alternativamente, algunos compuestos se pueden preparar como profármacos al agregar polipéptidos cortos (por ejemplo, 1-6 aminoácidos) al compuesto. Dichos profármacos cuando se administran a un sujeto se pueden dividir (por ejemplo, mediante tripsina u otras peptidasas) liberando de este modo un compuesto terapéuticamente efectivo. La formación de profármacos no está limitada por los ejemplos específicos descritos aquí. Se conocen otras formas de preparación de compuestos terapéuticamente efectivos como profármacos. Ejemplos de profármacos de sustratos de CDA diferentes de decitabina incluyen, sin limitación, elaidato de gemcitabina (también denominado éster de 2'-desoxi-2',2'-difluorocitidin-5'-ilo de ácido 9(E)-Octadecenoico; 2'-desoxi-2',2'-difluoro-5'-O-[9 (E) -octadecenoil] citidina; CP-4126, o Registro CAS No. 210829-30-4); sal de meglumina de éster de gemcitabina de ácido azelaico (también denominado sal de meglumina de 1-[5-O-(9-Carboxinonanoil) -β-D-arabinofuranosil]citosina); otras sales de éster de gemcitabina de ácido azelaico; y 1-[4-(2-Propilpentanamido)-2-oxo-1H-pirimidin-1-il]-2-desoxi-2,2-difluoro-β-D-ribofuranosa (también denominada LY-2334737).

20 Por el término “combinación” se entiende ya sea una combinación fija en una forma de dosificación unitaria, o un equipo de partes para la administración combinada donde un compuesto de la presente invención y un socio de combinación se pueden administrar de forma independiente, al mismo tiempo, o por separado dentro de intervalos de tiempo que permiten especialmente que los socios de combinación muestren un efecto cooperativo, por ejemplo, aditivo o sinérgico, o cualquier combinación de los mismos.

25 “Farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellas propiedades o sustancias que son aceptables para el paciente desde un punto de vista farmacológico o toxicológico, o para el químico farmacéutico fabricante desde un punto de vista físico o químico respecto a la composición, formulación, estabilidad, aceptación del paciente, biodisponibilidad y compatibilidad con otros ingredientes.

30 “Excipiente farmacéuticamente aceptable” puede significar cualquier sustancia, no es en sí misma un agente terapéutico, utilizado como un portador, diluyente, aglutinante, o vehículo para suministro de un agente terapéutico a un sujeto, o agregado a una composición farmacéutica para mejorar su manejo o propiedades de almacenamiento o para permitir o facilitar la formación de un compuesto o composición en una forma de dosificación unitaria para administración. Los excipientes farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo, en Remington Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa (por ejemplo, 20a Ed., 2000), y Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association, Washington, DC, (por ejemplo, 1ra, 2da y 3ra Eds., 1986, 1994 y 2000, respectivamente). Los excipientes pueden proporcionar una variedad de funciones y se pueden describir como agentes humectantes, agentes reguladores, agentes de suspensión, agentes lubricantes, emulsionantes, desintegrantes, absorbentes, conservantes, surfactantes, colorantes, saborizantes, y edulcorantes. Ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, sin limitación: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa, acetato de celulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, e hidroxipropilcelulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes reguladores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones con pH regulado; (21) poliésteres, policarbonatos o polianhídridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

55 “Portador farmacéuticamente aceptable” como se utiliza aquí, se refiere a un portador o vehículo no tóxico que no destruye la actividad farmacológica del compuesto con el que se formula. Los portadores o vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden utilizar en las composiciones de esta invención incluyen, pero no se limitan a, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero, tales como albúmina de suero humano, sustancias reguladoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos saturados de vegetales, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, fosfato de hidrógeno de sodio, fosfato hidrógeno de potasio, cloruro de sodio, sales de zinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, ciclodextrinas, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, polietilenglicol y lanolina.

60 “Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de ácido o base de un compuesto de la invención, cuya sal posee actividad farmacológica deseada y no es ni biológicamente ni de otra manera indeseable. La sal se puede formar

5 con ácidos que incluyen sin limitación, acetato adipato, alginato, aspartato, benzoato, benzenosulfonato, butirato de bisulfato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietano-sulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Ejemplos de una sal de base incluyen, sin limitación sales de de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y de potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas tales como sales de dicitohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos tales como arginina y lisina. En algunas realizaciones, los grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden cuaternizar con agentes que incluyen haluros de alquilo inferior tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo como de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo; haluros de cadena larga tales como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y estearilo; y haluros de aralquilo tales como bromuros de fenetilo.

15 “Animal” se refiere a un organismo vivo que tiene sensación y facultad de movimientos voluntarios, y que requiere para su existencia oxígeno y alimentos orgánicos.

“Mamífero” se refiere a un animal vertebrado de sangre caliente con pelo o piel. Ejemplos incluyen, sin limitación de miembros de las especies humana, equina, porcina, bovina, murina, canina o felina.

20 “Cáncer” se refiere a un crecimiento anormal de células que tienden a proliferarse de forma incontrolada y, en algunos casos, a metástasis (diseminación). Tipos específicos de cáncer incluyen sin limitación los cánceres identificados en la Publicación No. US 2006/0014949 y los siguientes:

25 - cardiaco: sarcoma (por ejemplo, tal como angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma y similares), rabdomioma y teratoma;

- de pulmón: carcinoma broncogénico (por ejemplo, tal como células epidermoides, células pequeñas no diferenciadas, células grandes no diferenciadas, adenocarcinoma y similares), alveolar (por ejemplo, tal como bronquiolar) carcinoma, sarcoma, linfoma, cáncer de células no pequeñas de pulmón y mesotelioma;

30 - gastrointestinal: esófago (por ejemplo, tal como carcinoma de células epidermoides, adenocarcinoma, leiomioma, linfoma y similares), estómago (por ejemplo, tales como carcinoma, linfoma, leiomioma y similares), páncreas (por ejemplo, tal como adenocarcinoma ductal, insulinooma, tumores carcinoides, vipoma y similares), intestino delgado (por ejemplo, tales como adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, y similares), intestino grueso (por ejemplo, tales como adenocarcinoma, y similares);

35 - Tracto genitourinario: riñón (por ejemplo, tales como adenocarcinoma, linfoma, leucemia, y similares), vejiga y uretra (por ejemplo, tales como carcinoma de células epidermoides, carcinoma de células de transición, adenocarcinoma y similares), próstata (por ejemplo, tal como adenocarcinoma, sarcoma), testículos (por ejemplo, tales como seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, y similares);

40 - Hígado: hepatoma (por ejemplo, carcinoma hepatocelular y similares), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma y;

45 - Hueso: sarcoma osteogénico (por ejemplo, tales como osteosarcoma y similares), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (por ejemplo, tal como el sarcoma retículo celular), mieloma múltiple, cordoma tumor de células gigantes maligno (por ejemplo, tal como exostosis cartilaginosa), condroblastoma, y tumores de células gigantes;

50 - Sistema nervioso: cráneo, meninges (por ejemplo, tal como meningiosarcoma, gliomatosis y similares), cerebro (por ejemplo, tales como astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [Pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, retinoblastoma, tumores congénitos y similares), médula espinal (por ejemplo, tales como sarcoma y similares);

55 - cáncer de mama;

60 - ginecológico: útero (por ejemplo, tales como carcinoma endometrial y similares), cuello uterino (por ejemplo, tales como carcinoma cervical, y similares), ovarios (por ejemplo, tales como carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado], tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno, y similares), vulva (por ejemplo, tales como carcinoma de células epidermoides, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma y similares), vagina (por ejemplo, tales como carcinoma de células claras, carcinoma de células epidermoides, sarcoma botrioides (rabdomiosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma) y similares);

- hematológico: sangre (por ejemplo, tales como leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico y similares), enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin;

5 - Piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células epidermoides, sarcoma de Kaposi, y similares; y

- glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

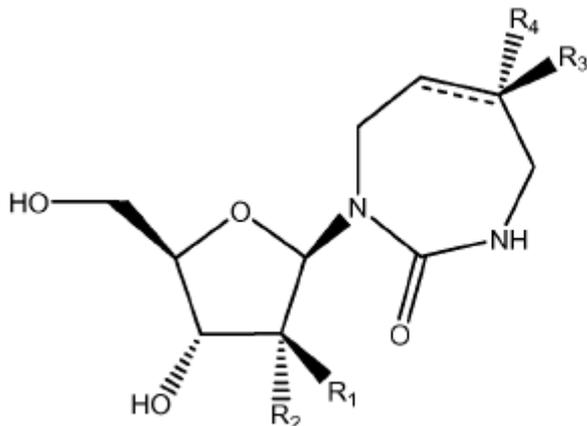
10 En cómo se utiliza aquí, "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad suficiente para provocar la respuesta biológica deseada. Una cantidad terapéuticamente efectiva de gemcitabina, por ejemplo, es una cantidad suficiente para tratar una enfermedad o trastorno como se describe aquí. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto dado por las fórmulas I-VIII es una cantidad suficiente para aumentar la exposición in vivo de un sustrato de CDA diferente de decitabina.

15 A lo largo de la especificación, cuando existen discrepancias entre el compuesto llamado y la estructura mostrada, la estructura deberá controlar. En caso de cualquier sinónimo de nombre (por ejemplo, abreviaturas, nombres IUPAC, genéricos u otros nombres químicos, o números de registro) proporcionados para cualquier compuesto particular en realidad se relacionan con diferentes compuestos, luego la especificación se interpretará para referirse a estos compuestos en la alternativa.

Compuestos de la invención

25 La presente invención proporciona compuestos que inhiben la actividad de CDA. En otra realización, estos compuestos se pueden administrar en combinación con otro medicamento contra el cáncer (por ejemplo, un sustrato de CDA diferente de decitabina, un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina, o un precursor de un sustrato de CDA diferente de decitabina) para propósitos para tratar el cáncer (por ejemplo, síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, leucemia mieloide crónica, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de ovario y cáncer de mama).

30 La presente invención se dirige a compuestos de la fórmula I:



I

en la que:

35 uno de  $R_1$  y  $R_2$  es F, y el otro se selecciona de H y F;

uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;

40 donde ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente y  $R_3$  es plano cuando ----- es un enlace covalente;

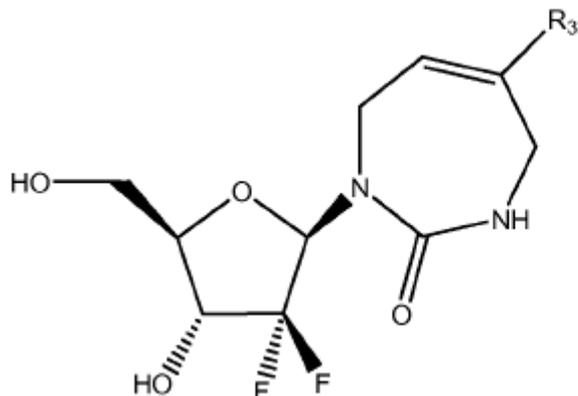
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alqueno  $C_{2-6}$  del mismo.

45 Como se utiliza a lo largo de la especificación, la expresión " $R_3$  es plano" significa que  $R_3$  reside en el mismo plano que el plano que contiene el carbono al que se adhiere  $R_3$ , así como los dos átomos de carbono inmediatamente adyacentes al carbono al que se adhiere  $R_3$ .

En una realización de la fórmula I,  $R_1$  y  $R_2$  son cada uno F.

50

En otra realización, la fórmula I se representa por un compuesto de la fórmula II:



II

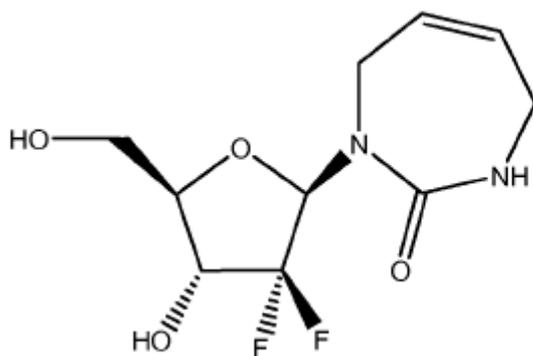
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

5

En otro aspecto, la presente invención se dirige a ER-876437 (o, 2H-1,3-Diazepin-2-ona,1,3,4,7-tetrahidro- 1-β-(D-2-desoxi-2,2-difluororibofuranosil)-; o 1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran- 2-il)-3,4-dihidro-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona, mostrado como la fórmula VIII). Aquí y en otras partes, donde existen discrepancias entre un nombre químico del compuesto y su representación estructural, controlará la representación estructural. Donde existen discrepancias entre la representación estructural y los datos de RMN <sup>1</sup>H, controlarán los datos de RMN <sup>1</sup>H.

10

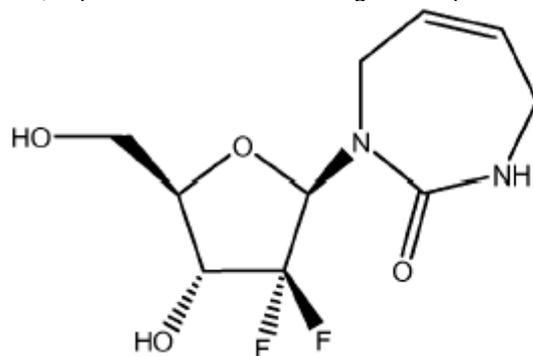
En otro aspecto, la presente invención se dirige a compuestos de la fórmula VIII:



VIII

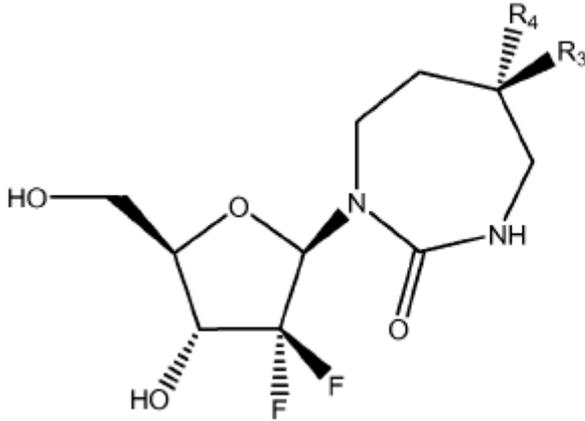
15 o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a compuestos de la fórmula VIII:



VIII.

20 En otra realización, la fórmula I se representa por un compuesto de la fórmula III:

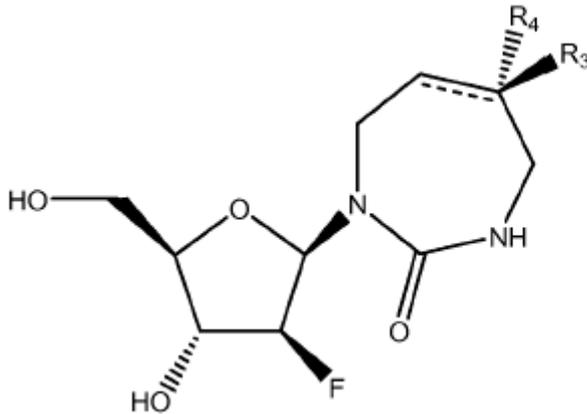


III

en la que:

- 5 uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;  
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo.

En otra realización, la fórmula I se representa por un compuesto de la fórmula IV:

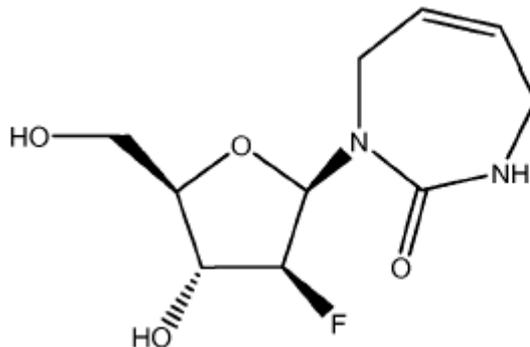


IV

10

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo.

En una realización, la fórmula IV se representa por un compuesto de la fórmula V:

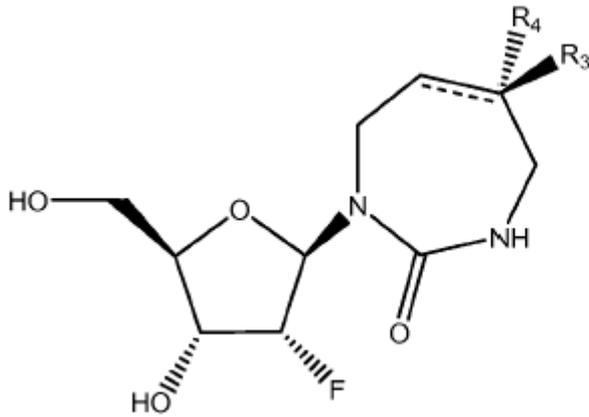


V

15

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo.

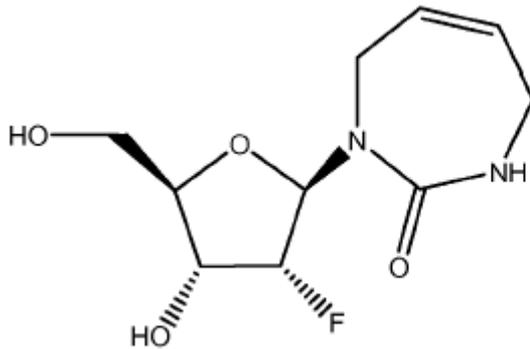
En otra realización, la fórmula I se representa por un compuesto de la fórmula VI:



VI

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

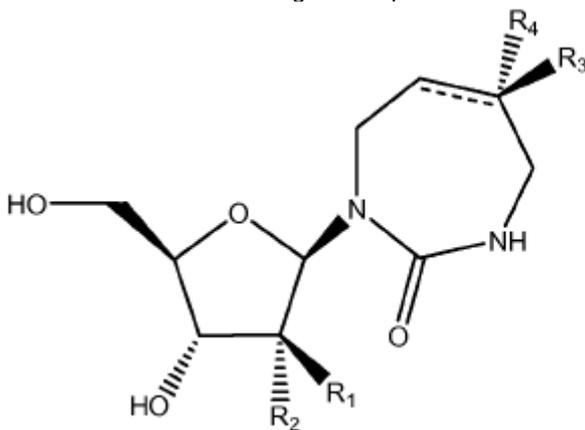
5 En una realización, la fórmula VI se representa por un compuesto de la fórmula VII:



VII

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

10 La presente invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula I:



I

en la que:

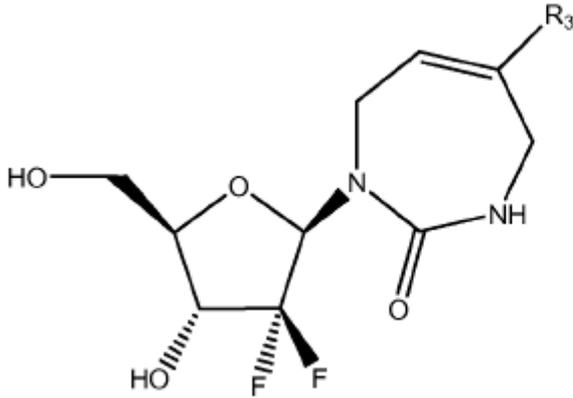
15 uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es F, y el otro se selecciona de H y F;

uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es H, y el otro se selecciona de H y OH;

20 donde ----- es un enlace covalente o está ausente, y R<sub>4</sub> está ausente y R<sub>3</sub> es plano cuando ----- es un enlace covalente;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la presente invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula II:



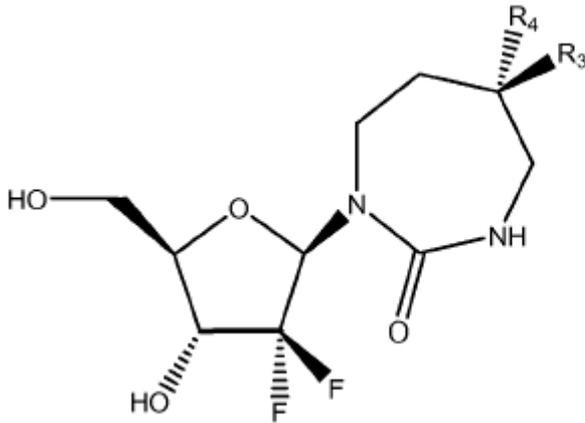
II

5

en la que  $R_3$  se selecciona de H y OH; o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

10

En otra realización, la presente invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula III:



III

en la que:

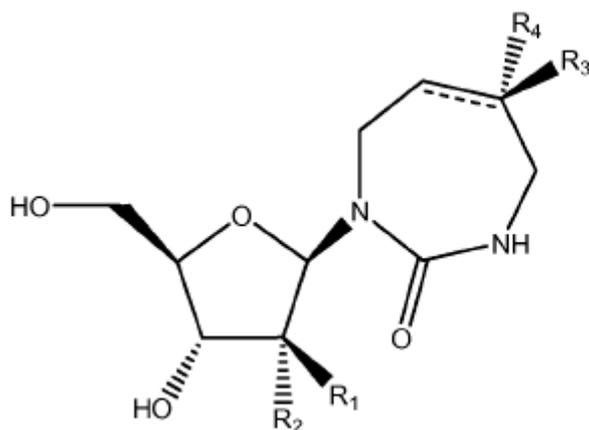
15

uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo; y un portador farmacéuticamente aceptable.

20

En otra realización, la presente invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula I:



I

en la que:

5 uno de  $R_1$  y  $R_2$  es F, y el otro se selecciona de H y F;

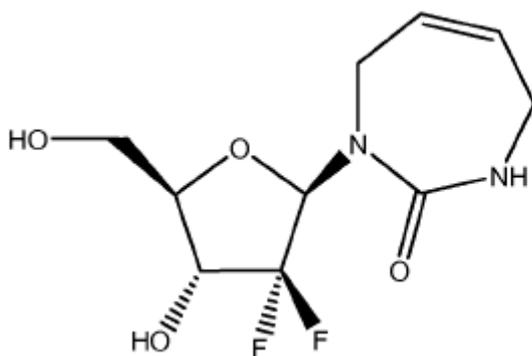
uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;

10 donde ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo.

15 En una realización de la composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula I, dicho sustrato de CDA diferente de decitabina se selecciona del grupo que consiste de 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, y citoclor. En otra realización, la composición farmacéutica comprende un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula I, dicho profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina se selecciona del grupo que consiste de un profármaco de 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor.

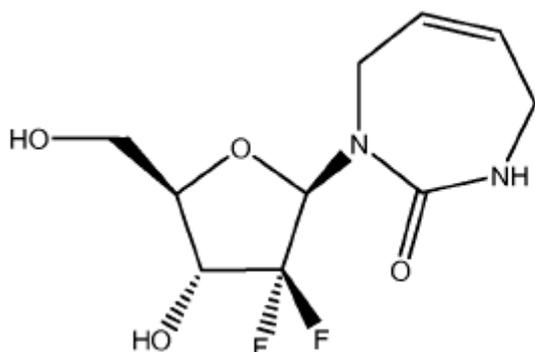
20 En otra realización, la presente invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula VIII:



VIII

25 o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo.

En otra realización, la presente invención también se dirige a una composición farmacéutica que comprende un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula VIII:



VIII

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

5 En una realización de la composición farmacéutica que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula VIII, dicho sustrato de CDA diferente de decitabina se selecciona del grupo que consiste de 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, y citoclor. En otra realización de la composición farmacéutica que comprende un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de la fórmula VIII, dicho profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina se selecciona del grupo que consiste de un profármaco de 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, y citoclor.

En otra realización de la invención, una composición farmacéutica puede comprender (a) un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII y también (b) un sustrato de CDA diferente de decitabina. El sustrato de CDA diferente de decitabina puede ser 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina, o citoclor. En una realización particular, la composición farmacéutica comprende (a) un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII y también (b) gemcitabina.

Otra realización de la invención se dirige a métodos para administrar las composiciones farmacéuticas como se describe aquí. Por lo tanto, la presente invención se dirige a un método para tratar un sujeto para cáncer que comprende administrar al sujeto un sustrato de CDA diferente de decitabina; y administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII. El sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto dado puede ser cualquiera de las fórmulas I-VIII y se puede administrar al sujeto secuencialmente o simultáneamente. Una administración secuencial incluye (a) primero administrar el sustrato de CDA diferente de decitabina seguido por (b) administrar la composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII. Una administración secuencial alternativa incluye (a) primero administrar la composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII seguida por (b) administrar el sustrato de CDA diferente de decitabina. Una administración simultánea incluye administrar el sustrato de CDA diferente de decitabina y la composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII al mismo tiempo; o en sustancialmente el mismo tiempo.

Cuando la administración involucra la administración separada (por ejemplo, administración secuencia) del primer compuesto (por ejemplo, un compuesto de la Fórmula I) y un segundo compuesto (por ejemplo, un sustrato de CDA diferente de decitabina), como se describe aquí, los compuestos se administran lo suficientemente cercanos en tiempo para tener el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, el periodo de tiempo entre cada administración, que puede resultar en el efecto terapéutico deseado, puede variar de minutos a horas a días y se puede determinar con base en las propiedades de cada compuesto tales como potencia, solubilidad, biodisponibilidad, semivida de plasma y perfil cinético. Por ejemplo, los compuestos se pueden administrar en cualquier orden dentro de 24 a 72 horas de cada otro o dentro de cualquier tiempo menor de 24 horas de cada otro. Alternativamente, los compuestos se pueden administrar en cualquier orden dentro de una semana de cada otro.

Cuando el sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se administran secuencialmente, se formulan de forma separada y se pueden proporcionar en cualquier orden. Cuando el sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se administran simultáneamente, sin embargo, se pueden ya sea formular de forma separada o combinar en la misma formulación. Cuando se combinan en la misma formulación, el sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se puede formular con el fin de ser liberado en el sujeto al mismo tiempo o en diferentes tiempos. El perfil de liberación de una formulación que comprende ambos el sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII incluye lo siguiente:

50 A) liberación y biodisponibilidad del sustrato de CDA diferente de decitabina seguido por liberación y biodisponibilidad del compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII;

B) liberación y biodisponibilidad del compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII seguido por liberación y biodisponibilidad del sustrato de CDA diferente de decitabina;

5 C) liberación y biodisponibilidad del compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII al mismo tiempo que (o sustancialmente al mismo tiempo que) la liberación y biodisponibilidad del sustrato de CDA diferente de decitabina.

De esta manera, se proporciona aquí un método para tratar cáncer, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una composición que comprende un sustrato de CDA diferente de decitabina y un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII.

10

Cuando el sustrato de CDA diferente de decitabina es gemcitabina, el cáncer que se va a tratar puede ser cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, tumor de mama, tumor de cerebro, tumor de próstata, tumor de pulmón, carcinoma de nasofaringe metastásico o recurrente, tumores sólidos metastásicos, adenocarcinoma de próstata, tumores del tracto urinario, tumores renales, carcinoma de células renales, carcinoma de células transicionales, cáncer de uretra, tumor de cabeza y cuello, tumor de cabeza y cuello no reseccable, carcinoma de células epidermoides de cabeza y cuello, mesotelioma pleural o peritoneal maligno, cáncer cervical, tumor de útero, tumor testicular, tumor de células germinales, tumor de células granulosas del ovario, tumor del tracto genital, leucemia, linfoma de células T de adulto, linfoma de células B, enfermedad de Hodgkin, enfermedad linfoproliferativa, linfoma de células del manto, leucemia mieloide y linfoma humana, linfoma no Hodgkin, cánceres hematológicos, linfoma cutáneo de células T, leucemia mielógena aguda, leucemia linfoblástica aguda, neoplasma hematológico, leucemia linfocítica crónica, sarcoma, leiomiomasarcoma, sarcoma de tejidos blandos, sarcoma de Kaposi sarcoma, osteosarcoma del hueso, tumor del sistema hepatobiliar, carcinoma de hígado, colangiocarcinoma, tumor de vesícula biliar, adenocarcinoma pancreático ductal, tumor peritoneal, tumor de intestino, tumor de estómago, carcinoma endometrioide, tumor del sistema nervioso central, cáncer de pulmón de células pequeñas, meduloblastoma, neuroblastoma o glioma.

25

En una realización particular, cuando el sustrato de CDA diferente de decitabina es gemcitabina, el cáncer que se va a tratar es cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer de mama metastásico, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de vejiga, carcinoma de células transicionales, cáncer del tracto biliar, cáncer urotelial, carcinoma de vesícula biliar, cáncer de trompa de Falopio, cáncer peritoneal primario, carcinoma de células epidermoides de cabeza y cuello, carcinoma hepatocelular, tumor de hígado, carcinoma de pulmón, tumor de cuello uterino o cáncer de colon.

30

En aún otra realización, cuando el sustrato de CDA diferente de decitabina es gemcitabina, el cáncer que se va a tratar es cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de vejiga, cáncer de mama, o cáncer de esófago. De esta manera, se proporciona aquí un método para tratar cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de vejiga, cáncer de mama, o cáncer de esófago en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula VIII y gemcitabina.

35

En otra realización, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende gemcitabina y ER-876437. En aún otra realización, se proporciona aquí un método para tratar el cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende gemcitabina y ER-876437, en la que el cáncer se selecciona del grupo que consiste de cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer pancreático, cáncer de ovario y cáncer de mama.

40

En otra realización, se proporciona aquí un método para tratar psoriasis vulgaris, viruela, cirrosis hepática, tromboembolismo, meningitis, enfermedad de glándula salival, enfermedad uretral, enfermedad linfoproliferativa, o neutropenia en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende gemcitabina y ER-876437.

45

En otra realización, la invención se dirige a combinaciones de uno cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII con un profármaco de un sustrato de CDA diferente de decitabina. Dichas combinaciones se pueden formular o administrar en todas las maneras como se describe aquí para combinaciones que comprenden el sustrato de CDA diferente de decitabina.

50

En otra realización de la invención, el sustrato de CDA diferente de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se pueden administrar secuencialmente (en cualquier orden) o simultáneamente con otros agentes farmacéuticos administrados normalmente a los sujetos que se tratan por cáncer. Dichos otros agentes farmacéuticos incluyen, sin limitación antieméticos, agentes que aumentan el apetito, otros agentes citotóxicos o quimioterapéuticos, y agentes que alivian el dolor. El sustrato CDA diferentes de decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se puede formular juntos con o por separado a partir de dichos otros agentes farmacéuticos.

60

Una combinación con dichos otros agentes farmacéuticos puede resultar en un aumento sinérgico en la actividad contra el cáncer, o dicho aumento puede ser aditivo. Las composiciones descritas aquí incluyen normalmente dosis más bajas de cada compuesto en una composición, evitando de este modo las interacciones adversas entre compuestos o efectos secundarios nocivos, tales como los que han sido reportados para compuestos similares. Adicionalmente, las

65

cantidades normales de cada compuesto cuando se da en combinación podrían proporcionar una mayor eficacia en sujetos que son insensibles o mínimamente sensibles a cada compuesto cuando se utiliza solo.

5 Se puede calcular un efecto sinérgico, por ejemplo, utilizando métodos adecuados, tales como la ecuación Sigmoid Emax (Holford, N. H. G. and Scheiner, L. B., Clin. Pharmacokinet. 6: 429-453 (1981)), la ecuación de aditividad de Loewe (Loewe, S. and Muischnek, H., Arch. Exp. Pathol Pharmacol. 114: 313-326 (1926)) y la ecuación del efecto mediano (Chou, T. C. and Talalay, P., Adv. Enzyme Regul. 22: 27-55 (1984)). Cada ecuación mencionada anteriormente se puede aplicar a los datos experimentales para generar un gráfico correspondiente para ayudar a evaluar los efectos de combinación de fármacos. Los gráficos correspondientes asociados con las ecuaciones mencionadas anteriormente son la curva de concentración-efecto, la curva de isoblograma y la curva de índice de combinación, respectivamente.

15 En ciertas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica de cualquiera de las composiciones de la presente invención. En una realización relacionada, la invención proporciona una composición farmacéutica de cualquiera de las composiciones de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable o excipiente de cualquiera de estas composiciones. En ciertas realizaciones, la invención incluye las composiciones como entidades químicas novedosas.

20 En una realización, la invención incluye un tratamiento de cáncer empacado. El tratamiento empacado incluye una composición de la invención empacada con instrucciones para utilizar una cantidad efectiva de la composición de la invención para un uso destinado. En otras realizaciones, la presente invención proporciona un uso de cualquiera de las composiciones de la invención para fabricación de un medicamento para tratar infección de cáncer en un sujeto.

#### Procedimiento sintético

25 Dentro del alcance de este texto, un grupo fácilmente removible que no es un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa un "grupo de protección". La protección de grupos funcionales mediante dichos grupos de protección, los grupos de protección en sí mismos, y sus reacciones de división se describen por ejemplo en trabajos de referencia estándar, tales como por ejemplo, Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany. 2005. 41627 pp. (URL: <http://www.science-of-synthesis.com> (Versión electrónica, 48 Volúmenes)); J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, en T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, en "The Peptides"; Volumen 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, en "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volumen 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Protein), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, and in Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos de protección es que se pueden eliminar fácilmente (es decir, sin la aparición de reacciones secundarias no deseadas) por ejemplo mediante solvolisis, reducción, fotólisis o alternativamente bajo condiciones fisiológicas condiciones (por ejemplo, por división enzimática).

45 Las sales de adición de ácido de los compuestos de la invención se forman lo más adecuadamente a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, e incluyen por ejemplo aquellas formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico o fosfórico y ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido succínico, maleico, acético o fumárico. Se pueden utilizar otras sales no farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, oxalatos por ejemplo en el aislamiento de los compuestos de la invención, para uso en laboratorio, o para posterior conversión a una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable. También se incluyen dentro del alcance de la invención los solvatos e hidratos de la invención.

50 La conversión de una sal de compuesto dado en una sal de compuesto deseado se consigue al aplicar técnicas estándar, en las que una solución acuosa de la sal dada se trata con una solución de base, por ejemplo carbonato de sodio o hidróxido de potasio, para liberar la base libre que luego se extrae en un solvente apropiado, tal como éter. La base libre luego se separa de la parte acuosa, se seca, y se trata con el ácido requerido para dar la sal deseada.

55 Se pueden formar ésteres o amidas hidrolizables *in vivo* de ciertos compuestos de la invención para tratar aquellos compuestos que tienen una funcionalidad hidroxilo o amino libre con el cloruro de ácido del éster deseado en presencia de una base en un solvente inerte tal como cloruro de metileno o cloroformo. Las bases adecuadas incluyen trietilamina o piridina. Por el contrario, los compuestos de la invención que tienen un grupo carboxi libre se pueden esterificar utilizando condiciones estándar, que pueden incluir activación seguida de tratamiento con el alcohol deseado en presencia de una base adecuada.

60 Las mezclas de isómeros obtenibles de acuerdo con la invención se pueden separar de una manera conocida per se en isómeros individuales; los diastereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, mediante partición entre mezclas de solventes polifásicos, recristalización o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o mediante, por ejemplo, cromatografía radial líquida de media presión sobre una columna de fase inversa, y los racematos se pueden

separar, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sales ópticamente puros y separación de la mezcla de diastereoisómeros así obtenibles, por ejemplo por medio de cristalización fraccionada, o mediante cromatografía radial sobre materiales de columna ópticamente activos.

- 5 Los compuestos intermedios y productos finales se pueden trabajar hasta o purificar de acuerdo con métodos estándar, por ejemplo, utilizando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re-) cristalización, y similares.

Se conocen en la técnica los métodos de preparación de gemcitabina.

- 10 En otra realización, la invención se dirige a un método para acoplar compuestos de urea cíclica tales como imidazolidin-2-ona, tetrahidropirimidin-2(1H)-ona, 1,3-diazepan-2-ona o 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona (ER-878899) a un anillo de tetrahydrofurano C-2-sustituido que comprende formar una mezcla de reacción al mezclar (i) una primera solución que comprende la 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona en un solvente de reacción con (ii) una segunda solución que comprende el anillo de tetrahydrofurano C-2-sustituido en el solvente de reacción bajo condiciones de reflujo. En esta realización, las condiciones de reflujo pueden mantener el volumen de la mezcla de reacción cuando se agrega la primera solución a la segunda solución. Alternativamente, las condiciones de reflujo pueden prevenir que el volumen de la mezcla de reacción se aumente en más de 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%, 4%, 3%, 2% o 1%. En esta realización, el solvente de reacción puede ser un solvente polar, aprótico que tiene un punto de ebullición mayor de 150°C, tal como dimetilacetamida (DMA) o dimetilsulfóxido (DMSO). De acuerdo con esta realización, la segunda solución se calienta a más de 150°C, y la primera solución se puede agregar a través de jeringa a la segunda solución. De acuerdo con esta realización, la primera solución se puede agregar a la segunda solución durante un período de tiempo extendido menor de 10 horas, menor de 5 horas, menor de 3 horas, menor de 2 horas, menor de 1 hora o menor de 30 minutos. De acuerdo con esta realización, la segunda solución se puede calentar desde 150°C a 250°C, de 175°C a 225°C, o desde 200°C a 220°C. De acuerdo con esta realización, el anillo de tetrahydrofurano C-2 sustituido puede tener sustituyentes en la posición C-3, que puede incluir un halógeno en la posición C-3, dos halógenos en la posición C-3, o dos flúor en la posición C-3. De acuerdo con esta realización, el anillo de tetrahydrofurano puede ser ER-878898. Con la excepción de valores mutuamente exclusivos, se pueden utilizar juntas cualquiera de las características alternativas descritas en este párrafo.

- 30 En otra realización, la invención se dirige a un método para aislar ER-879381 a partir de una mezcla que comprende ER-878617 que comprende (i) poner en contacto la mezcla con una sustancia cromatográfica, y separar la mezcla sobre la sustancia utilizando tolueno y acetonitrilo como la fase móvil. De acuerdo con esta realización, la sustancia cromatográfica puede ser gel de sílice. De acuerdo con esta realización, la fase móvil puede ser tolueno:acetonitrilo en una relación 7:1. Alternativamente, de acuerdo con esta realización, el tolueno:acetonitrilo puede tener una relación de más de 7:1, o menos de 7:1. Con la excepción de valores mutuamente exclusivos, cualquiera de las características alternativas descritas en este párrafo se pueden utilizar juntas.

#### Formas de Dosificación

- 40 En ciertas otras realizaciones, las composiciones de la presente invención (por ejemplo, un compuesto de la fórmula I en combinación con un sustrato de CDA diferente de decitabina, por ejemplo, ER-876437 en combinación con gemcitabina) se puede administrar a un sujeto en necesidad del mismo utilizando las formulaciones y métodos descritos en la Patente Estadounidense No. 6,001,994, Patente Estadounidense No. 6,469,058, y Patente Estadounidense No. 6,555,518.

- 45 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de los compuestos (o combinaciones) de la invención pueden estar en forma de dosificación unitaria adecuada para administración por vía oral, rectal o por inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de composiciones en forma de dosificación oral, se pueden emplear cualquiera de los medios farmacéuticos usuales, tal como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares, como en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad en administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean portadores farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, los portadores comprenderán usualmente agua estéril, por lo menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Las soluciones inyectables, por ejemplo, se preparan utilizando un portador que comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. Las suspensiones inyectables también se pueden preparar en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En caso de composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de penetración o un agente humectante adecuado, que se puede combinar con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, aditivos que no provocan un efecto perjudicial significativo a la piel. Los aditivos pueden facilitar la administración a la piel o pueden ser útiles para la preparación de composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, como unción dorsal puntual, o como un ungüento.

65

- Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas descritas aquí en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma de dosificación unitaria, como se utiliza aquí, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas unitarias de dosificación son comprimidos (que incluyen comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvos, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de los mismos.
- En general se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer o segundo compuesto sería de 0.0001 mg/kg a 0.001 mg/kg; 0.001 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal o de 0.02 mg/kg a 5 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer o segundo compuesto es de 0.007 mg a 0.07 mg, 0.07 mg a 700 mg, o de 1.4 mg a 350 mg. Un método de tratamiento profiláctico o curativo también puede incluir administrar la composición en un régimen de entre una a cinco tomas al día.
- En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer compuesto o un segundo compuesto incluye, pero no se limita a, la cantidad menor de 0.01 mg/dosis, o menor de 0.5 mg/dosis, o menor de 1 mg/dosis, o menor de 2 mg/dosis, o menor de 5 mg/dosis, o menor de 10 mg/dosis, o menor de 20 mg/dosis, o menor de 25 mg/dosis, o menor de 50 mg/dosis, o menor de 100 mg/dosis, o menor de 500 mg/dosis. El número de veces al día en que se administra primer o un segundo compuesto a un sujeto se puede determinar en base a diversos criterios utilizados comúnmente en la técnica o aquellos descritos aquí.
- También pueden estar presentes agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes en las composiciones.
- Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo,  $\alpha$ -tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.
- Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica, bucal, sublingual, rectal, vaginal o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación generalmente será aquella cantidad de la composición que produce un efecto terapéutico. Generalmente, de un cien por ciento, esta cantidad variará de aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, más preferiblemente de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.
- Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación una composición de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan al producir uniforme e íntimamente en asociación una composición de la presente invención con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, dar forma al producto.
- Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas oblongas (utilizando una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida aceite en agua o agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de una composición de la presente invención como ingrediente activo. Una composición de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.
- En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, o cualquiera de los siguientes: rellenos o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; agentes retardantes en solución, tales como parafina; aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y sus mezclas; y agentes colorantes.
- En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes

reguladores. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina llenas blandas y duras utilizando excipientes tales como lactosa o azúcares de leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similar.

5 Se puede elaborar un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar utilizando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (por ejemplo, glicolato de sodio almidón o carboximetilcelulosa de sodio entrecruzada), agente de superficie activa o dispersante. Los comprimidos  
10 moldeados se pueden elaborar al moldear en una máquina adecuada una mezcla de la composición en polvo humedecida con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, opcionalmente se pueden clasificar o preparar con recubrimientos y  
15 cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de formulación farmacéutica. También se pueden formular de tal manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del ingrediente activo utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas o microesferas. Se pueden esterilizar mediante, por ejemplo, filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de  
20 composiciones sólidas estériles que se pueden disolver en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden ser de una composición tal que solo liberen el ingrediente activo, o preferiblemente, en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones embebidas que se pueden utilizar incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

25 Las formas de dosificación líquidas para la administración oral de las composiciones de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del ingrediente activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente utilizados en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros solventes, agentes de solubilización y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán, y mezclas de los mismos.

30 Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y agentes conservantes.

Las suspensiones, adicionalmente a las composiciones activas, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isoestearilo etoxilados, sorbitol de polioxietileno y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

40 Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se puede preparar al mezclar una o más composiciones de la invención con uno o más excipientes adecuados no irritantes o portadores que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o cavidad vaginal y liberará la composición activa.

45 Las formulaciones de la presente invención que son adecuadas para administración vaginal también incluyen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen dichos portadores que son conocidos en la técnica por ser apropiados.

50 Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de una composición de esta invención incluyen polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. La composición activa se puede mezclar en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, reguladores, o propulsores que puedan ser necesarios.

55 Las pomadas, pastas, cremas y geles pueden contener, además de una composición activa de esta invención, excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

60 Los polvos y pulverizadores pueden contener, además de una composición de esta invención, excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Los pulverizadores pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

65

Los parches transdérmicos tienen la ventaja agregada de proporcionar el suministro controlado de una composición de la presente invención al cuerpo. Dichas formas de dosificación se pueden elaborar al disolver o dispersar la composición en el medio apropiado. Los potenciadores de la absorción también se pueden utilizar para aumentar el flujo de la composición a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar ya sea al proporcionar una membrana controladora de la velocidad o al dispersar la composición activa en una matriz polimérica o gel.

También se contempla que las formulaciones oftálmicas, pomadas oculares, polvos, soluciones y similares, están dentro del alcance de esta invención.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más composiciones de la invención en combinación con una o más soluciones acuosas o no acuosas, isotónicas, más estériles farmacéuticamente aceptable, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o polvos estériles que se pueden reconstituir en soluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de uso, que pueden contener antioxidantes, reguladores, bacteriostáticos, solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor deseado o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados que pueden ser empleados en las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. La fluidez apropiada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de surfactantes.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede ser provocada por la inclusión de agentes que retrasan la absorción tales como monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con el fin de prolongar el efecto de un fármaco, es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto se puede lograr por el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra al disolver o suspender el fármaco en un vehículo oleoso.

Las formas de depósito inyectables se elaboran al formar matrices microencapsuladas de las composiciones objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicólido. Dependiendo de la relación de fármaco a polímero y la naturaleza del polímero particular empleado, se puede controlar la velocidad de liberación del fármaco. Ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan al atrapar el fármaco en liposomas o microemulsiones que son compatibles con el tejido corporal.

Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o rectal. Ellas, por supuesto, se proporcionan por las formas adecuadas para cada ruta de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio, etc., administración por inyección, infusión o inhalación; tópica por loción o pomada; y rectal mediante supositorios. Se prefiere la administración oral o IV.

Las frases "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" como se utiliza aquí significa modos de administración diferentes de la administración enteral y tópica, usualmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, inyección intraespinal y intraesternal.

Las frases "administración sistémica", "administrado sistémicamente", "administración periférica" y "administrado periféricamente" como se utiliza aquí significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material diferente directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y, por lo tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos como, por ejemplo, administración subcutánea.

Se pueden administrar estos compuestos a humanos y otros animales para terapia mediante cualquier ruta de administración adecuada, que incluye por vía oral, nasal, como mediante, por ejemplo, un aerosol, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, como mediante polvos, ungüentos o gotas, que incluyen por vía bucal y sublingual.

Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales.

5 Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que sea efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente particular, composición, y modo de administración, sin ser tóxica para el paciente.

10 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o el éster, sal o amida del mismo, la ruta de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto particular que se emplea, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, edad, sexo, peso, condición, salud general e antecedentes médicos previos del paciente que está siendo tratado, y factores bien conocidos en las técnicas médicas.

15 Un médico o veterinario puede determinar y prescribir la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se alcanza el efecto deseado.

20 En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será aquella cantidad del compuesto que es la dosis efectiva más baja para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis intravenosas y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utilizan para los efectos analgésicos indicados, variarán de aproximadamente 0.0001 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, más preferiblemente de aproximadamente 0.01 a aproximadamente 50 mg por kg por día, y aún más preferiblemente de aproximadamente 1.0 a aproximadamente 100 mg por kg por día. Una cantidad efectiva es aquella cantidad que trata una infección viral.

25 Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas separadamente a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias.

30 Aunque es posible que un compuesto de la presente invención sea administrado solo, es preferible administrar el compuesto como una composición farmacéutica.

#### 35 EJEMPLOS

Se establecen adelante los métodos generales y experimentales para preparar los compuestos de la presente invención.

40 Ejemplo I: Síntesis química

45 A menos que se indique lo contrario, para los Ejemplos I.B. a I.C., la eliminación del solvente se lleva a cabo utilizando un evaporador rotatorio Büchi. Se lleva a cabo cromatografía radial analítica utilizando una Hewlett Packard serie 1100 HPLC y se lleva a cabo cromatografía radial preparativa utilizando ya sea instrumento Biotage SP4 o un instrumento Waters 4000 utilizando columnas Chiralpak IA bajo condición neutra, a menos que se indique lo contrario. Los espectros de masas se registran utilizando el sistema Waters Acquity UPLC/MS. Como equipo o equipo comparable se utiliza para los ejemplos restantes.

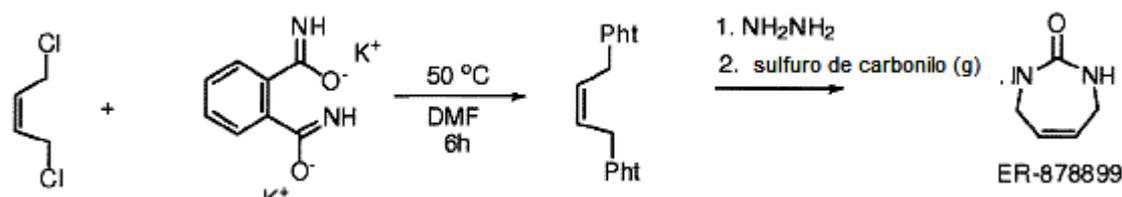
50 Los espectros de RMN se registran utilizando un espectrómetro Varian 400 MHz (Ejemplos I.B. a I.C.) o utilizando un espectrómetro Fluka 400 MHz (Ejemplos I.A. y I.D.).

Ejemplo I.A.: ER-876437

55 I.A.1.: Preparación de ER-878899 (1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona)

El ER-878899 se prepara como se representa en el Esquema I adelante. Esta preparación se describe en J. Med. Chem. 1981, 24, 662-666; J. Org. Chem. 1980, 45, 485-489 y Bull. Soc. Chim. Fr. 1973, 198-292.

60 Esquema I

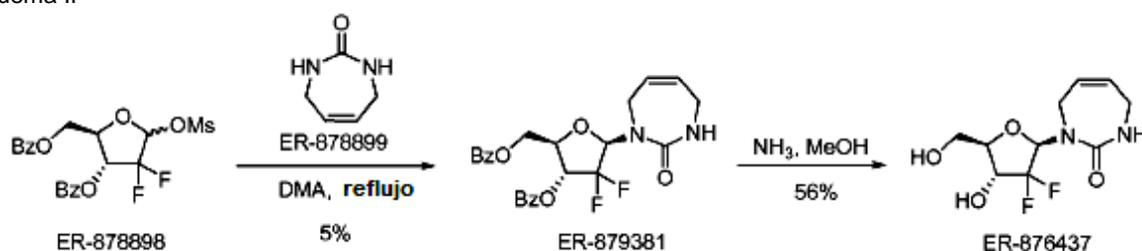


Se requiere agitación mecánica para la formación de ER-878899 elaborado de acuerdo con el Esquema I. Se puede burbujear sulfuro de carbonilo en el matraz de reacción utilizando una pipeta de vidrio (de gran diámetro) y no de una  
 5 aguja, que tiende a obstruir, debido al sólido formado durante reacción. Al final de la reacción, el material insoluble en el medio de reacción se filtra, y el ER-878899 puede estar presente en la torta de filtración.

#### I.A.2.: Preparación de ER-876437

10 El ER-878899, se prepara de acuerdo con I.A.1., como se utiliza en el Esquema II como se describe adelante.

#### Esquema II



15 1-(3,3-Difluoro-4-benzoil-5-benzoximetil-tetrahidro-furan-2-il)-1,3,4,7-tetrahidro-[1,3]diazepin-2-ona (ER-879381). El mesilato ER-878898 disponible comercialmente mostrado anteriormente en el Esquema II (3.8 g, 8.3 mmol) y la urea ER-878899 (900 mg, 8.0 mmol) se agregan a dimetilacetamida (DMA) (400 ml). Luego de calentamiento (170°C), se solubilizan los componentes de reacción. La solución se calienta durante la noche (15 h) bajo una atmósfera de nitrógeno.  
 20

La DMA luego se elimina en vacío. El residuo se resuspende en EtOAc (150 ml) y luego se lava con agua (2 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtran y concentran en vacío. El material se cromatografía radial sobre SiO<sub>2</sub> y se eluye con 50% de EtOAc/hexanos. El material obtenido después de cromatografía radial son los anómeros α/β no resueltos. Los anómeros luego se separan utilizando HPLC preparativa de fase normal (50% de EtOAc/hexanos isocrático, 10 ml/min, Rt = 25.7 min.); columna: phenomenex luna 10 μ Silica 100A, 250 x 21.20 mm; detector de índice refractivo. El anómero β ER-879381 se aísla en >90% de pureza (10% de anómero α, Rt. 24 min).  
 25 RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 8.05 (m, 4H), 7.59 (m, 2H), 7.43 (m, 4H), 5.99 (m, 1H), 5.72 (m, 2H), 5.54 (m, 1H), 4.77 (dd, J = 12.1, 3.4 Hz, 1H), 4.65 (br s, 1H), 4.56 (dd, J = 12.4, 4.0 Hz, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.80 (m, 4H).

30 1-(3,3-Difluoro-4-hidroxi-5-hidroximetil-tetrahidro-furan-2-il)-1,3,4,7-tetrahidro-[1,3]diazepin-2-ona (ER-876437). El ER-879381 se disuelve en NH<sub>3</sub> (7 M) en MeOH (40 ml). La solución se agita durante la noche. El solvente se elimina y el residuo se purifica mediante HPLC RP (10% de acetonitrilo/H<sub>2</sub>O, flujo 10 ml/min, R<sub>t</sub> = 23 minutos); columna: phenomenex luna 5 μ C18(2) 100A, 250 x 21.2 mm; detector de índice refractivo. El compuesto deseado ER-876437 se obtiene en 1.5% (62 mg) de rendimiento total. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O) δ 5.86 (m, 2H), 5.69 (dd, J = 14.3 Hz, 6.2 Hz, 1H), 4.14 (m, 1H), 3.86 (m 1H), 3.74 (m, 6H). RMN <sup>13</sup>C (D<sub>2</sub>O) δ 164.5, 127.3, 126.2, 122.1 (dd, J = 252, 261 Hz, 1C), 85.9 (dd, J = 41, 22 Hz, 1C), 77.4 (d, J = 8 Hz, 1C), 69.5 (dd, J = 22 Hz, 19 Hz, 1C), 58.9, 41.0, 40.7.  
 35

Los componentes de carbono, hidrógeno y nitrógeno de la fórmula molecular (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>F<sub>2</sub> + 0.5 H<sub>2</sub>O) se calculan para ser C, 43.96; H, 5.53; y N, 10.25. El análisis elemental revela que este material contiene C, 43.99; H, 5.36; y N, 10.21.  
 40

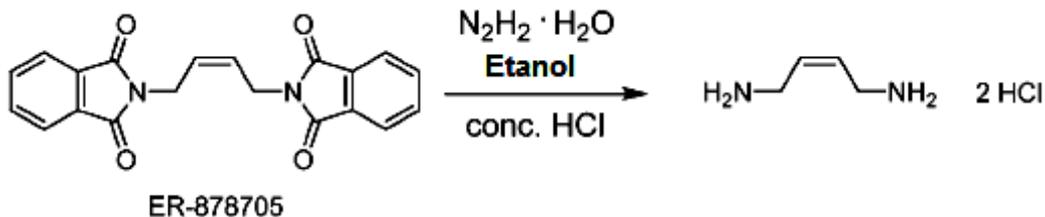
Se pueden obtener mejoras marginales al rendimiento de la reacción de acoplamiento de ER-878899 con el mesilato al cambiar el solvente de reacción. Cuando se utiliza diglima como el solvente, se puede observar una mejora de rendimiento del 15%.  
 45

#### Ejemplo I.B.: ER-876437

##### I.B.1.: Preparación de ER-878899 (1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona)

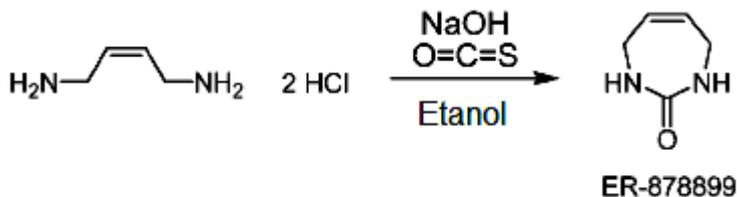
El ER-878705 (mostrado adelante) se prepara siguiendo el procedimiento descrito en Feigenbaum, A. and Lehn, J.M., Bull. Soc. Chim. Fr., 1973, 198-202 and Liu, P.S., Marquez, V.E., Driscoll, J.S. and Fuller, R.W., J. Med. Chem., 1981, 24, 662-666.  
 50

Esquema III



- 5 A una suspensión blanca de ER-878705 (79.7 g, 230 mmol) en etanol (470 mL) en un matraz de 2 L de dos cuellos equipado con agitador mecánico se agrega hidrato de hidrazina (23.5 mL, 483 mmol) a temperatura ambiente. La suspensión blanca resultante se calienta a 50°C durante 30 minutos para obtener una solución de color amarillo claro. Cuando se inicia la aparición de precipitado blanco, la mezcla se calienta a 60°C durante 3 horas y la agitación se hace muy difícil. Después se permite que la mezcla se enfría a temperatura ambiente, se agrega solución de cloruro de hidrógeno concentrado (40.3 mL, 483 mmol) y la mezcla se vuelve más fácil de agitar. Después de agitación durante 30 minutos, la mezcla se filtra y se lava con 5 x 200 mL de agua. El filtrado se concentra a un sólido seco. El sólido seco se suspende en 200 mL de etanol, y se agita durante 1 hora para elaborar una suspensión agradable. La suspensión se filtra y se lava con 3 x 100 mL de etanol puro. La torta (cristal similar a gránulo blanco) se recolecta y se seca para dar 34.6 (94%) g de sal de diclorhidrato de 1,4-diamino-2-buteno. El RMN <sup>1</sup>H muestra que el producto contiene ftalhidrazida como una impureza menor en la relación de 5:1. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 5.85 (ddd, J=1.6, 1.8 y 4.4 Hz, 2H), 3.69 (d, J=4.4, 4H).

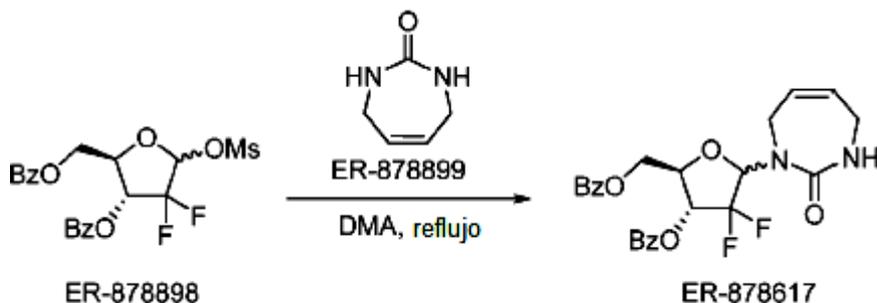
Esquema IV



- 20 A una suspensión de sal de diclorhidrato de 1,4-diamino-2-buteno (22.7 g, 143 mmol) en etanol (1.2 L) en un matraz de 2 L de dos cuellos se agrega solución de NaOH 1.0 M (330 mL, 330 mmol). Luego de adición de NaOH a la suspensión, la mezcla se vuelve una solución transparente e incolora. La solución se calienta a 70°C y sulfuro de carbonilo se burbujea a través de la mezcla calentada. Después de esto, la mezcla se calienta a 80°C a reflujo. Después de 3 horas, se detiene el burbujeo y la mezcla se calienta unas 1.5 horas adicionales, se enfría a temperatura ambiente y se neutraliza mediante adición de HCl 1.0 N (50 mmol). La mezcla se concentra a un sólido gris seco. El sólido se suspende en 1 L de metanol, se agita durante 2 horas, se filtra y se lava con metanol. El filtrado se concentra a aproximadamente 200 mL de volumen, se enfría a 0°C, se filtra y se lava con metanol frío. El sólido se recolecta y se seca para dar 5.05 g de producto. El RMN <sup>1</sup>H muestra que contiene impureza muy menor de ftalhidazida en la relación de 13:1. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 5.91 (ddd, J=0.8, 1.2 y 1.6 Hz, 2H), 3.67 (d, J=4.0, 4H). El licor madre se concentra a aproximadamente 30 mL, se enfría a -10°C, se filtra y se lava con MeOH frío (-10°C). El sólido se recolecta y se seca para dar 7.10 g de producto con menor contaminación de ftalhidrazida en la relación de 4:1 según se determina por RMN <sup>1</sup>H.

- 35 I.B.2.: Preparación de ER-878617

Esquema V

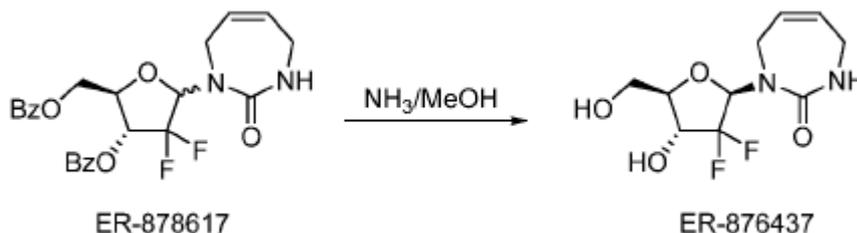


40

Como se representa en el Esquema V anterior, una solución de ER-878898 (1.33 g, 2.92 mmol, disponible de Waterstone o Depew Fine Chemical) y ER-878899 (200.0 mg, 1.78 mmol) en DMA seco (30 mL) se calienta y se agita a 180-190°C (temperatura de baño de aceite) cuando la DMA se destila lentamente. Se agrega 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona azeotropizada adicional (800.0 mg, 7.13 mmol) en DMA (50 mL) con bomba de jeringa durante 2 horas durante esta destilación de DMA. Después de adición de todo el material, la reacción se mantiene a reflujo durante 30 minutos y se deja enfriar. La mezcla de reacción se concentra en vacío y el residuo se purifica con cromatografía radial para dar ER-878617 (624.8 mg, 45%) como una mezclas de dos epímeros.

I.B.3.: Preparación de ER-876437

Esquema VI



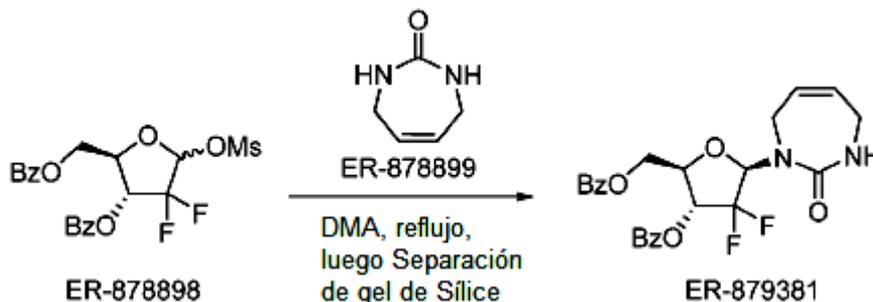
Como se representa en el Esquema VI anterior, una solución de ER-878617 (624.8 mg, 1.32 mmol) en amoníaco/metanol 7 M (53 mL) se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentra en vacío y el residuo se purifica con TLC preparativa para dar un producto crudo (274.2 mg, 78%) como las mezclas de dos epímeros. Las mezclas de dos epímeros se separan sobre cromatografía radial preparativa con Chiralpak IA columna (Daicel Chemical Industries, Ltd., Tokyo Japan) para dar ER-876437 (160.2 mg).

Ejemplo I.C.: ER-876437

I.C.1.: Preparación de ER-879381

El ER-879381 se elabora de acuerdo con el Esquema VII que se muestra adelante. El ER-878899 se prepara como se describió anteriormente en el Ejemplo I.B.1.

Esquema VII

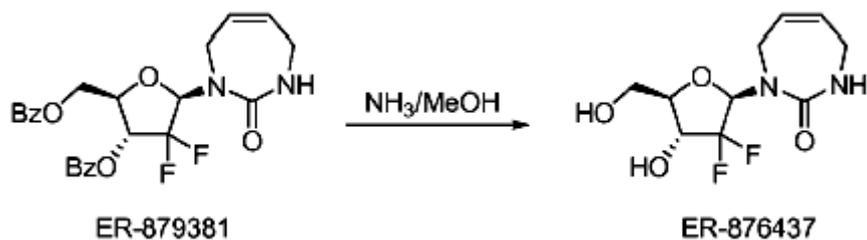


Como se representa en el Esquema VII anterior, una solución de ER-878898 (8.0 g, 18 mmol, disponible de Waterstone o Depew Fine Chemical) y ER-878899 (1.2 g, 10.7 mmol) en DMA seco (100 mL) se calienta y se agita a 200-220° C (temperatura de baño de aceite) cuando la DMA se destila lentamente. Se agrega 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona azeotropizada adicional (4.8 g, 42.9 mmol) en DMA (350 mL) se agrega a través de bomba de jeringa durante 2 horas durante esta destilación de DMA. Después de adición de todo el material, la reacción se mantiene a reflujo durante 30 minutos y se deja enfriar. La mezcla de reacción se concentra en vacío y el residuo se combina con el residuo de un experimento separado conducido sobre la misma escala utilizando el mismo procedimiento. El residuo combinado se purifica con cromatografía radial de gel de sílice (fase móvil: 50-100% AcOEt/Heptano) para dar una mezcla de dos epímeros (9.38 g). La mezcla de dos epímeros se separa adicionalmente con cromatografía radial de gel de sílice (fase móvil: tolueno:acetonitrilo = 7:1) para producir ER-879381 (3.94 g).

I.C.2.: Preparación de ER-876437

ER-876437 se prepara como se muestra adelante en el Esquema VIII.

Esquema VIII

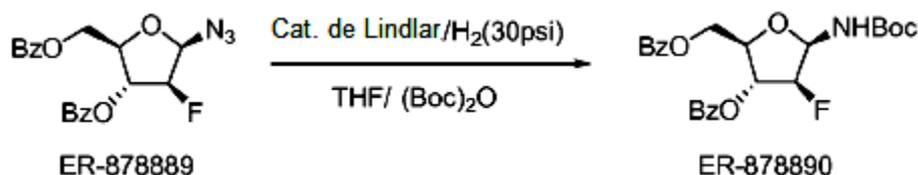


5 Como se representa en el Esquema VIII anterior, una solución de ER-879381 (3.8 g, 8.0 mmol) en amoníaco/metanol 7 M (100 mL) se agita a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla de reacción se concentra en vacío y el residuo se purifica con cromatografía radial (fase móvil: 50-100% AcOEt/Heptano) para dar ER-876437 (1.89 g, rendimiento 89%).

Ejemplo I.D.: ER-878895

10 I.D.1.: Preparación de ER-878890

Esquema IX



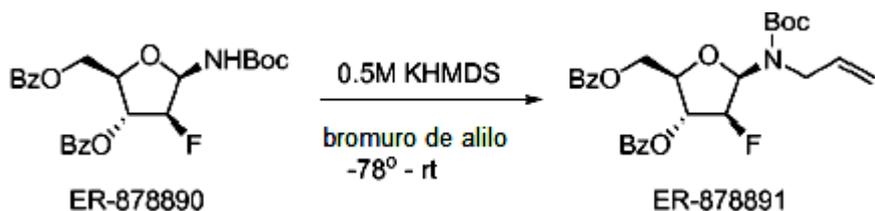
15 Como se representa en el Esquema IX anterior, una solución de ER-878889 (preparado de acuerdo con Stimac, A. and Kobe, J., Carbohydr. Res., 2000, 329, 317-324, 4.3 g, 11.7 mmol) y di-tert-butildicarbonato (5.4 g, 24.6 mmol) en THF (125 mL) se agita en la presencia de catalizador de Lindlar (1 g) a 30 psi durante el fin de semana. La suspensión de reacción que contiene el producto hidrogenado se filtra a través de Celita y se concentra. El residuo se purifica con cromatografía radial para dar ER-878890 (2.8 g). El ER-878890 se purifica adicionalmente mediante recristalización a partir de AcOEt/Hexano para dar agujas blancas con punto de fusión de 106 a 108° C.

20

I.D.2.: Preparación de ER-878891

25

Esquema X

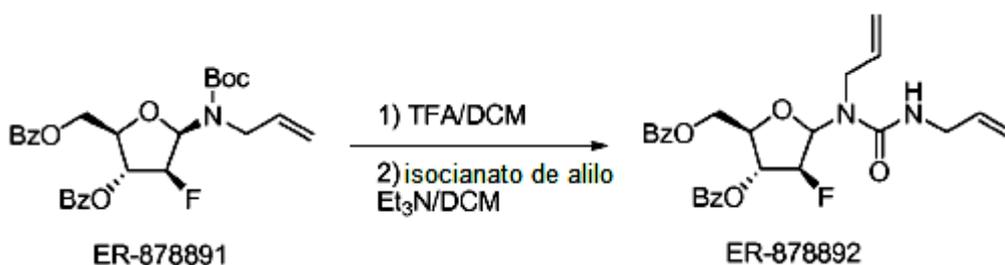


30 Como se representa en el Esquema X anterior, a una solución agitada de ER-878890 (1.6 g, 3.48 mmol) en THF/DMF (100 mL/30 mL) se agrega hexametildisilazida de potasio 0.5 M (KHMDS) en tolueno (8.5 mL, 4.25 mmol) en forma de gotas a aproximadamente -78°C (baño de hielo seco /acetona), seguido por adición de bromuro de alilo (0.4 mL, 4.6 mmol). La mezcla de reacción se agita durante la noche cuando el baño de hielo seco- acetona se calienta lentamente a temperatura ambiente (~25°C). La reacción se detiene con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se lava con solución salina y se seca sobre sulfato de magnesio anhidro. La solución seca se filtra y se evapora. El residuo se purifica con cromatografía radial para dar ER-878891 (0.64 g).

35

I.D.3.: Preparación de ER-878892

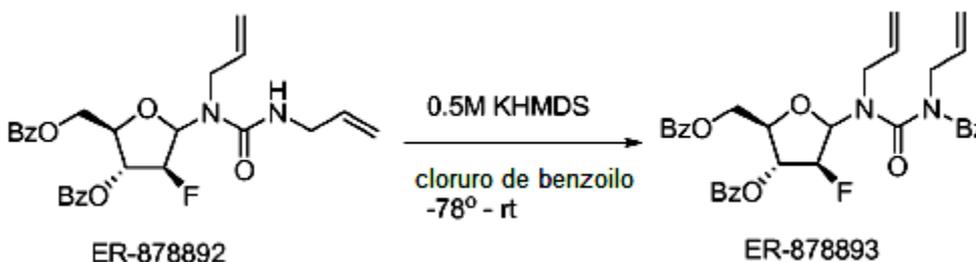
Esquema XI



5 Como se representa en el Esquema XI anterior, a una solución agitada de ER-878891 (0.1 g, 0.2 mmol) en diclorometano (DCM) (1 mL) bajo nitrógeno se agrega ácido trifluoroacético (TFA) (0.5 mL) a temperatura ambiente. El ER-878891 se desaparece en 1 hora y el solvente y TFA se evaporan en vacío. Al aceite resultante disuelto en DCM (2 mL) se agrega isocianato de alilo (0.2 mL, 2.2 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora después de 1 hora y se purifica mediante cromatografía radial para dar ER-878892 (50% de rendimiento) como una mezcla de dos anómeros (beta/alfa ~3/1).

10 I.D.4.: Preparación de ER-878893

Esquema XII

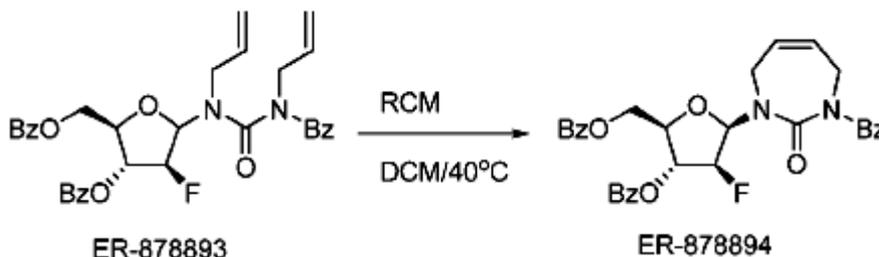


15 Como se representa en el Esquema XII anterior, a una solución agitada de ER-878892 (0.27 g, 0.56 mmol) en THF (10 mL) bajo nitrógeno se agrega KHMDS 0.5 M en tolueno (1.5 mL, 0.75 mmol) a aproximadamente -78°C (baño de hielo seco/acetona), seguido por adición de cloruro de benzoilo (0.6 mL, 5.1 mmol). La mezcla de reacción se agita durante la noche y se deja calentar lentamente a temperatura ambiente. La reacción se detiene con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrae con AcOEt. La fase orgánica se lava con solución salina, se seca sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtra y se evapora. El residuo se purifica con cromatografía radial para dar ER-878893 (0.13 g, 50% de rendimiento) como una mezcla de anómeros.

20

I.D.5.: Preparación de ER-878894

25 Esquema XIII

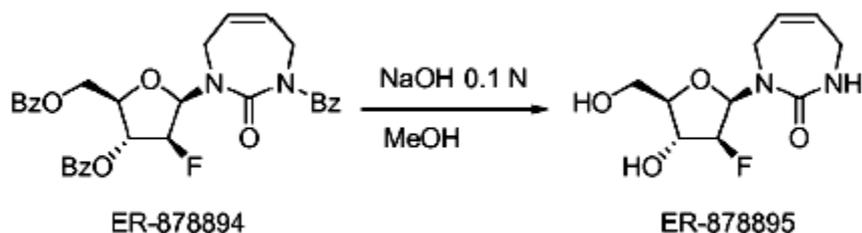


30 Como se representa en el Esquema XIII anterior, a una solución desgasificada de ER-878893 (0.13 g, 0.22 mmol) en DCM (120 mL) se agrega catalizador de 2<sup>da</sup> generación de Grubb (~30 mg, disponible de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) bajo nitrógeno. Este catalizador permite la metátesis de cierre de anillo (RCM). La mezcla de reacción se calienta a 40°C durante 1 hora seguido por evaporación del solvente. Al residuo disuelto en AcOEt (20 mL) se agrega depurador Silicycle Si-triamina Pd (Silicycle Inc.) y se agita vigorosamente durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtra y se concentra. El aceite viscoso amarillo pálido resultante se purifica con cromatografía radial y se determina que el compuesto menos polar es ER- 878894 (40 mg) que se cristaliza en reposo.

35

I.D.6.: Preparación de ER-878895

Esquema XIV

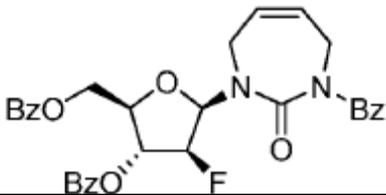
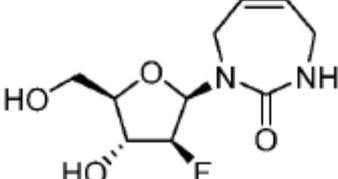


5 Como se representa en el Esquema XIV anterior, una solución de ER-878894 (65 mg, 0.14 mmol) en NaOH/MeOH 0.1 N (3 mL) se agita durante 30 minutos hasta que todos los puntos activos de UV desaparecen mediante TLC. El solvente se elimina en vacío y el sólido crudo se disuelve en agua (2 mL). La solución se neutraliza con HCl y el solvente se elimina en vacío. El residuo se purifica mediante HPLC preparativa de fase inversa para proporcionar ER-878895 (12 mg, 35%).

10 La Tabla 1 proporciona datos analíticos para los compuestos descritos aquí.

Tabla 1. Datos analíticos

Estructura	# ER	Datos analíticos
	878617 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.05 (m, 4H), 7.55 (m, 2H), 7.45 (m, 4H), 6.22 (t, J=10.4 Hz), 5.95 (dd, J=12.8, 10.6 Hz), 5.88-5.66 (m), 5.5 (m), 4.76(dd, J=12.4, 3.6 Hz), 4.65 (m), 4.55 (m), 4.55 (dd, J=12, 4.4 Hz), 4.36 (m), 3.94-3.64 (m) MS (ESI) <i>m/z</i> 473.31 (M+H) <sup>+</sup>
	879381 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.05 (m, 4H), 7.64 (m, 2H), 7.48 (m, 4H), 6.04 (dd, J=12.0, 10.4 Hz, 1H), 5.76 (m, 2H), 5.58 (ddd, J=12.0, 6.4, 5.2 Hz, 1H), 4.81(dd, J=12.4, 3.6 Hz, 1H), 4.61 (dd, J=12.8, 4.4 Hz, 1H), 4.58 amplio, parcialmente se superpone con 4.61 picos, 1H), 4.43 (dt, J=6.4, 3.4 Hz, 1H), 3.99-3.71 (m, 4H)
	876437 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ 5.83 (m, 2H), 5.69 (dd, J=21.2, 8.0 Hz, 1H), 4.05 (ddd, J=14.0, 11.2, 8.4 Hz, 1H), 3.86-3.58 (m, 7H) MS (ESI) <i>m/z</i> 265.17 (M+H) <sup>+</sup>
	878890 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.11-8.00 (m, 4H), 7.66-7.53 (m, 2H), 7.52-7.40 (m, 4H), 5.86 (dd, J=16, 10 Hz, 1H), 5.57 (d, J=18 Hz, 1H), 5.41 (s, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.23 (d, J=50 Hz, 1H), 4.60 (s, 2H), 1.47 (s, 9H)
	878891 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.08 (d, J=7.6 Hz, 2H), 8.05 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.62 (t, J=7.6Hz, 1H), 7.56 (t, J=7.6 Hz, 1H), 7.46 (m, 4H), 6.0 (dd, J=18.4, 4.4 Hz, 1H), 5.88 (m, 1H), 5.71 (dt, J=19.6, 3.2 Hz, 1H), 5.48 (d, J=52Hz, 1H), 5.18 (d, J=17.2 Hz, 1H), 5.14 (d, J=10.8 Hz, 1H), 4.61 (broad s, 3H), 3.93 (m, 2H), 1.47 (s, 9H)
	878892 Sal libre	<sup>1</sup> HNMR: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.11-8.00 (m, 4H), 7.66-7.53 (m, 2H), 7.52-7.40 (m, 4H), 6.35 (dd, J=26, 3 Hz, 1H), 6.06 (dd, J=18, 5 Hz, 1H), 6.00-5.79 (m, 3H), 5.67 (dt, J=19, 4 Hz, 1H), 5.58-5.50 (m, 1H), 5.44-4.95 (m, 8H), 4.74-4.53 (m, 4H), 4.01-3.97 (m, 2H), 3.91-3.83 (m, 3H), 1.71 (s, 1H)

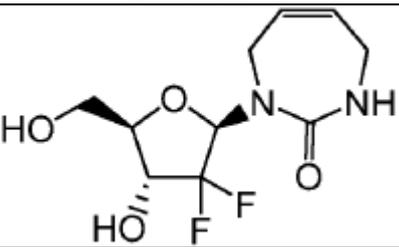
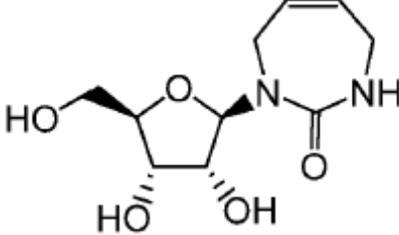
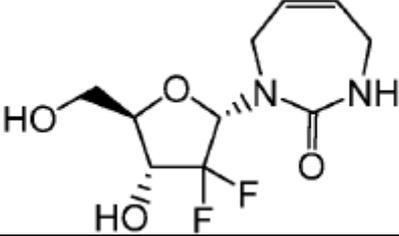
Estructura	# ER	Datos analíticos
	878894 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.12 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.98 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.6 (m, 5H), 7.45 (m, 6H), 5.93 (dd, J=24.4, 3 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 5.59 (dd, J=18.6, 3.2 Hz, 1H), 5.14 (dd, J=50.8, 2.8 Hz, 1H), 4.85 (d, J=18.8 Hz, 1H), 4.81 (dd, J=12, 3.8 Hz, 1H), 4.72 (dd, J=12, 4.8 Hz, 1H), 4.35 (m, 2H), 4.17 (m, 2H) MS (ESI) <i>m/z</i> 559.2 (M+H) <sup>+</sup>
	878895 Sal libre	RMN <sup>1</sup> H: (400 MHz, D <sub>2</sub> O) δ 5.8 (m, 2H), 5.7 (dd, J=18.4, 5.2 Hz, 1H), 4.93 (ddd, J=53, 5.2, 3.8 Hz, 1H), 4.19 (ddd, J=22.8, 6.4, 3.6 Hz, 1H), 3.84-3.61 (m, 7H) MS (ESI) <i>m/z</i> 247.11 (M+H) <sup>+</sup>

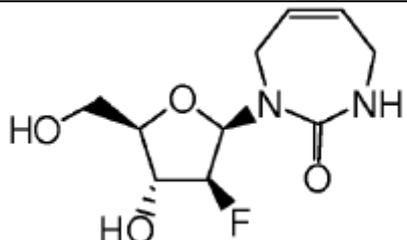
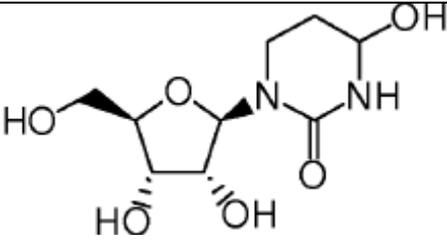
## Ejemplo II: Ensayo para inhibición de citidina desaminasa (CDA)

5 El ensayo enzimático de citidina desaminasa (CDA) descrito por Cacciamani, T. et al., Arch. Biochem. Biophys. 1991, 290, 285-92; Cohen R. et al., J. Biol. Chem., 1971, 246, 7566-8; y Vincenzetti S. et al., Protein Expr. Tratamiento. 1996, 8, 247-53 se utilizó para determinar la actividad inhibidora (IC<sub>50</sub>) de los compuestos descritos aquí. Utilizando este ensayo, la IC<sub>50</sub> de estos compuestos se determinó siguiendo la disminución de sustrato (citidina) provocada por la reacción catalizada por la desaminación mediante CDA. La desaparición del sustrato (citidina) con el tiempo se monitorizó mediante absorbancia a 280 nm de la reacción.

10 La reacción de ensayo se llevó a cabo en regulador de fosfato de potasio (pH 7.4, 20 mM, que contenía DTT 1 mM) en un volumen total de 100 µl en un formato de placa de 96 pozos. La mezcla de reacción final contenía citidina (50 µM) y CDA recombinante humano purificado. La enzima purificada se diluyó con el fin de producir un cambio de absorbancia de aproximadamente 2 unidades de miliabsorbancia/minuto. Las mediciones de valor inicial del cambio de absorbancia durante el tiempo se hicieron antes de adición de sustrato (citidina). Después de la adición de sustrato, el cambio de absorbancia se leyó cada minuto durante 30 minutos con un FlexStation<sup>®</sup> 3 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA). Para cada compuesto, se utilizaron 8 concentraciones diferentes (10 µM, 3.33 µM, 1.11 µM, 0.37 µM, 0.12 µM, 0.041 µM, y 0.014 µM, y 0.0047 µM) para inhibir la reacción. Se calcularon las pendientes del cambio de absorbancia durante el tiempo en cada reacción y se utilizaron por el software SoftMax<sup>®</sup> Pro 5 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) para obtener los valores de IC<sub>50</sub>.

Tabla 2. Inhibidor de potencia de compuestos de prueba

Estructura	Número ER	IC <sub>50</sub> (nM)
	876437	237 ± 86 n=4
	876400	101 ± 53 n=4
	878519	1616 ± 643 n=3

	878895	140 n=1
	876404	113 n=2

Ejemplo III: Farmacocinética de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de Administraciones IV y PO

5 Se administraron ER- 876437 y ER- 876400 ambos a ratones a 10 mg/kg por vía intravenosa (IV) a través de la vena de la cola, y a 10 mg/kg *per os* (PO, o, por vía oral) a través de sonda gástrica. Todas las dosis se prepararon en solución salina regulada con fosfato (PBS) y se administraron a un volumen de 5 mL/kg. Se utilizaron cinco ratones por grupo en estos estudios. Las muestras de sangre se tomaron en serie desde la vena de la cola de cada ratón en puntos de tiempo predeterminados. Se agruparon las muestras de sangre de todos los ratones en cada grupo antes del procesamiento del plasma. Las muestras de sangre agrupadas se centrifugaron dentro de 30 a 60 minutos después del retiro y el plasma se recolectó y congeló para ensayo. Después de preparación y extracción de las muestras se analizaron por LC/MS/MS. Las concentraciones observadas (ng/mL), se reportan en la Tabla 3 adelante.

Tabla 3. Concentraciones en plasma (ng/mL) de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de administraciones IV y PO

Tiempo (hr)	ER-876437		ER-876400	
	IV	PO	IV	PO
0.167	11838	8597	19860	7101
0.5	7686	3720	10166	7859
1	3469	4179	4206	4665
2	1450	1145	1753 <sup>a</sup>	1750
4	214	146	495 <sup>a</sup>	320
6	184	36	118	87
8	64	103	59	44
24	20	39	93	264

<sup>a</sup> Por encima del límite de cuantificación

15 Se calcularon los parámetros farmacocinéticos (PK) de ER-876437 y ER-876400 mediante análisis no compartimental utilizando Watson<sup>®</sup> v. 7.2. Los parámetros PK resultantes se presentan en las Tablas 4 y 5 adelante:

Tabla 4. Parámetros farmacocinéticos de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de administraciones IV

Parámetro	Unidades	ER-876437	ER-876400
Dosis	mg/kg	10.0	10.0
t <sub>1/2</sub>	hr	6.1	16.1
AUC <sub>0-t</sub>	ng•hr/mL	12893	18838
AUC <sub>0-∞</sub>	ng•hr/mL	13071	20999
AUC <sub>0-∞</sub> /D	ng•hr/mL/D	1307	2100
AUC <sub>extrap</sub>	%	1.4	10.3
CL	L/kg/hr	0.77	0.48
V <sub>ss</sub>	L/kg	1.64	3.2

20 Tabla 5. Parámetros farmacocinéticos de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de administraciones PO

Parámetro	Unidades	ER-876437	ER-876400
Dosis	mg/kg	10.0	10.0
C <sub>max</sub>	ng/mL	8597	7859
t <sub>max</sub>	hr	0.167	0.5

AUC <sub>0-t</sub>	ng•hr/mL	8579	13160
AUC <sub>0-∞</sub>	ng•hr/mL	9499	NC
AUC <sub>0-∞/D</sub>	ng•hr/mL/D	950	NC
AUC <sub>Extrap</sub>	%	9.7	NC
t <sub>1/2</sub>	hr	16.3	NC
F	%	66.5 <sup>a</sup>	69.9 <sup>a</sup>
<sup>a</sup> Calculado con base en AUC <sub>0-t</sub> NC = No calculado debido a datos insuficientes			

5 Los resultados del presente estudio sugieren que los perfiles PK de ER-876437 y ER-876400 en ratones BALB-c machos son similares. Después de IV de 10 mg/kg el PK de ambos ER-876437 y ER-876400 se puede caracterizar por la distribución moderada (V<sub>ss</sub> = 1.64 y 3.20 L/kg, respectivamente), depuración lenta (CL = 0.77 y 0.48 L/h/kg, respectivamente), y eliminación lenta (t<sub>1/2</sub> = 6.1 y 16.1 horas, respectivamente).

10 La exposición total (AUC<sub>0-∞</sub>) después de administración IV de ER-876437 y ER-876400 a los ratones fue 13071 y 20999 ng•hr/mL, respectivamente, lo que resultó en exposiciones normalizadas de dosis (AUC<sub>0-∞/D</sub>) respectivamente de 1307 y 2100 mL/g. Después de PO de 10 mg/kg, la C<sub>max</sub> de ER-876437 y ER-876400, respectivamente, fueron 8597 y 7859 ng/mL, y se observaron a un t<sub>max</sub> de respectivamente, 1.0 y 2.0 hr. El AUC<sub>0-t</sub> después de administración PO de 10 mg/kg fue 8579 y 13160 ng•hr/mL para ER-876437 y ER-876400, respectivamente. El AUC<sub>0-∞</sub> de ER-876437 fue 9499 ng•hr/mL y el t<sub>1/2</sub> fue de 16.3 hr. Debido a datos insuficientes en la fase de eliminación terminal de estos parámetros no se pudieron determinar para ER-876400. Adicionalmente, el t<sub>1/2</sub> de ER-876437 después de administración PO es aproximadamente 2.5 veces mayor que después de administración IV.

15 La biodisponibilidad (F%) de ER-876437 y ER-876400 fueron similares: 66.5 y 69.9%, respectivamente.

20 En conclusión, los perfiles PK de ER-876437 y ER-876400 en ratones BALB-C después de una sola dosis IV o PO de 10 mg/kg son similares. Sin embargo, se observa que bajo condiciones normales de alimentación, los ratones tienen un alto pH gástrico de alrededor de 5. Véase Simpson, R. J. et al. "Forms of soluble iron in mouse stomach and duodenal lumen: significance for mucosal update", British Journal of Nutrition. 63:79-89 (1990).

#### Ejemplo IV: Estabilidad de ER-876400 y ER-876437 en Fluido Gástrico Simulado a 37°C

25 Este ejemplo describe las estabildades de ER-876400 y ER-876437 en fluido gástrico simulado que tiene un pH de 1.45 a temperatura ambiente (~25°C) y a 37°C. Para humanos, bajo condiciones de ayuno, se ha reportado que el pH gástrico a varía desde 1.4 hasta 2.1. Véase Kararli, T.T. Comparison of the GI anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. BioPharm & DrugDispos. 16:351-380, 1995. Se ha reportado que el pH gástrico en monos en ayunas tiene un rango similar de 1 a 3. Véase Kondo, H. et al. Characteristics of the gastric pH profiles of unfed and fed cynomolgus monkeys as pharmaceutical product development subjects. BioPharm & DrugDispos. 24:45-51, 2003.

35 Materiales: Se preparó fluido gástrico simulado (SGF) al mezclar lo siguiente en 100 mL de agua grado HPLC (o purificada): 200 mg de cloruro de sodio y 1.87 mL de una solución madre de HCl 37.52%.

Preparación de muestra: Las muestras iniciales (t = 0) se prepararon al diluir respectivamente ER-876400 o ER-876437 en agua. Todas las otras muestras se prepararon al disolver ~2 mg de analito (ya sea ER-876400 o ER-876437) en ~1.0 mL de fluido gástrico simulado a 37°C.

40 Los análisis de HPLC se realizaron utilizando un sistema de suministro de solvente Waters UPLC con detección de Corona CAD. La columna de HPLC (Waters Atlantis HHS T3 2.1 x 100 mm, 1,8 um) se mantuvo a 40°C y preequilibra con una solución que contiene 98% de agua y 2% de acetonitrilo. La temperatura del auto-muestreador controlada se mantuvo a 37°C. La velocidad de flujo de la fase móvil de agua/MeCN fue 0.65 mL/min, con un gradiente después de inyección de muestra (5 µL) como sigue:

Gradiente:	Tiempo (min)	% de agua	% de MeCN
	0 -2	98	2
	2 -2.5	Gradiente lineal de (98% de Agua/2% de MeCN) a (60% de Agua/40% de MeCN)	
	2.5 -3.5	60	40

Por lo tanto, en estos estudios de degradación HPLC-SGF, una alícuota de 5 µL fue tomada de la solución de SGF/analito en diversos momentos y se cargó sobre la columna de HPLC con las características y condiciones descritas anteriormente. La fase móvil de agua/MeCN se aplicó a la columna con la velocidad de flujo descrita anteriormente y el

gradiente y se recogieron cromatogramas de HPLC. Después de 3.5 minutos, la columna se volvió a equilibrar con 98% de agua/2% de MeCN durante 1.5 minutos.

5 Los cromatogramas de HPLC de cualquiera de ER-876400 o ER-876437 en agua proporcionaron la identificación del pico atribuido a ER-876400 o ER-876437. Las trazas de HPLC de SGF sin ninguno de los cromatogramas en blanco (o de fondo) proporcionan ER-876400 o ER-876437, siempre que se puedan utilizar para identificar picos relacionados con SGF y distinguir aquellos picos de los picos de analitos. Los cromatogramas se recolectan en los momentos identificados en las Tablas 7 y 6, y el porcentaje correspondiente de la muestra atribuida respectivamente a cualquiera de ER-876400 o ER-876437 se proporcionarán para cada tiempo de muestreo. Estos resultados también se representan como gráficas de las figuras 1 y 2.

10 Tabla 6. Estabilidad de ER-876400 en SGF a 37°C.

Tiempo de análisis (horas: minutos: segundos)	% de ER-876400 (tiempo de retención pico: 1.46 min)
0:00:00	84.04
0:00:30	19.59
0:06:08	17.04
0:11:45	16.72
0:17:23	15.17
0:23:01	14.20
0:28:38	13.23
0:34:16	12.51
0:39:54	14.05
0:45:33	11.42
0:51:10	10.71
0:56:48	8.87
1:02:27	9.14
1:08:07	8.81
1:13:46	7.66
1:19:23	4.05
1:25:01	6.44
1:30:38	5.92
1:36:16	5.72
1:41:53	5.69
1:47:32	4.98
1:53:10	4.51
1:58:49	3.85
2:04:28	3.59
2:21:24	2.82
2:49:37	1.52
3:17:48	0.81
3:23:28	0.62
3:46:00	0.39
3:51:38	0.25

15 Tabla 7. Estabilidad de ER- 876437 en SGF a 37°C.

Tiempo de análisis (Horas :Minutos: Segundos)	% ER-876437 (tiempo de retención pico: 2.90 min)
0:00:00	92.18
0:00:30	85.88
0:06:08	85.72
0:11:45	86.46
0:17:24	86.38
0:23:02	83.22
0:28:39	83.48
0:34:17	83.80
0:39:54	84.16
0:45:32	82.62
0:51:10	82.41
0:56:47	82.45
1:02:26	82.45
1:08:04	82.55
1:13:41	83.11
1:19:19	81.82
1:24:56	81.24

Tiempo de análisis (Horas :Minutos: Segundos)	% ER-876437 (tiempo de retención pico: 2.90 min)
1:30:33	79.20
1:36:10	79.14
1:41:47	78.47
1:47:24	77.88
1:53:02	78.29
1:58:39	78.56
2:04:16	77.21
2:21:12	76.06
2:26:50	77.34
2:49:21	75.34
3:17:30	72.37
3:51:16	50.13
4:19:26	51.88
4:47:38	48.95
5:21:25	45.19
5:49:35	47.44
6:17:45	44.94
6:51:31	43.29
7:19:40	41.85
7:47:22	41.72
8:21:11	36.89
8:49:19	37.52
9:17:30	36.34
9:51:17	34.61
10:19:29	31.94
10:47:39	32.33
11:15:53	29.85
11:49:44	29.94
12:17:54	27.99
12:46:10	27.39
13:20:01	26.14

Conclusión: En el fluido gástrico simulado a 37°C, se encontró que el ER-876400 degrada en 50% en menos de 30 segundos, mientras que el ER-876437 tiene una semivida de aproximadamente 4 a 6 horas.

5 Ejemplo V: Efecto de ER-876437 sobre un sustrato de CDA diferente de decitabina en el modelo L1210 de supervivencia de linfoma de murino

Este estudio se puede emplear para determinar si el ER-876437 mejora la eficacia oral de un sustrato de diferente de decitabina CDA (o profármaco del mismo) en el modelo de supervivencia L1210 en ratones.

10

Preparación de células L1210: Las células ascíticas L1210 se puede preparar al pasarlas en ratones por lo menos tres veces como sigue. Cada ratón CD2F1 hembra se puede inyectar por vía intraperitoneal (IP) con aproximadamente  $10^5$  células ascíticas L1210. Después de una semana, el ratón se puede sacrificar (asfixia mediante  $CO_2$ ). Después de sacrificar, el ratón se puede colocar en su parte posterior, su superficie del vientre se puede limpiar con toallitas con alcohol, y una pequeña incisión se puede hacer en la cavidad peritoneal. 2 ml de BSA al 2.1% de hielo frío en solución salina se pueden inyectar en la cavidad y luego el fluido se pueden retirar y transferir con una jeringa de 3 cc 18G en un tubo estéril limpio y se mantuvieron en hielo. El fluido se puede diluir 1:10 en 2.1% de BSA en solución salina y una gota de reactivo lítico II de oglobina Zap (disponible de Beckman Coulter, Inc.) se puede agregar a 1 ml de la ascitis diluidas. La ascitis diluida (diluida 1:10 de nuevo) se puede contar con un hematocitómetro y se puede calcular el número de células por mL. Aproximadamente  $10^5$  células L1210 se pueden utilizar para un pasaje posterior para otro pasaje de ratón. O, una solución madre de ascitis L1210 en la solución de BSA se puede diluir a  $1 \times 10^4$  células/0.1 ml para uso en los ratones del estudio.

15

20

25

Preparación de ratones de estudio: Ratones hembra CD2F1 de 6 a 7 semanas de edad se pueden separar al azar en grupos tales como aquellos identificados en la Tabla 8. Los ratones se pueden preparar con inyección intravenosa (IV) de ascitis L1210 (preparado como se describió anteriormente) un día antes de comenzar la dosificación. Los ratones se pueden inyectar con 0.1 ml de solución de células a través de la vena caudal con una aguja 27 G.

30

Los ratones se pueden dosificar con vehículo o ER-876437 per os (PO, es decir, por vía oral) 30 minutos antes de dosificación con el sustrato de CDA diferente de decitabina. El ER-876437 se puede preparar a 1 mg/ml en PBS y luego se diluye a 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml y 0.001 mg/ml en PBS para dosis más bajas.

Un sustrato de CDA diferente de decitabina se puede preparar en una solución madre de 1 mg/ml en PBS y se diluye de manera apropiada para lograr una solución de dosificación de 0.01 mg/ml. El ER-876437 se puede preparar al comienzo de cada día de dosificación y se almacenó a 4°C. El sustrato de CDA diferente de decitabina se puede preparar fresco dos veces al día, solo antes de dosificación. Todas las soluciones se pueden almacenar en hielo, mientras la dosificación. Los ratones se pueden dosificar (por vía intraperitoneal (IP) o per os (por vía oral, PO)) dos veces al día (8 horas de diferencia) durante 4 días consecutivos. Un esquema de dosificación final propuesta y el sustrato de CDA diferente de decitabina total (NDCS) y la dosis de ER-876437 se resumen en la Tabla 8. En el esquema de dosificación propuesto, los ratones pueden ser dosificados (con vehículo, ER-876437 o NDCS) por vía oral, intraperitoneal o intravenosa.

Tabla 8. Esquema de Dosificación Propuesto

Grupo #	Fármaco	Dosis de NDCS (rte Adm)	Dosis de NDCS acumulada	Dosis de ER-876437	Dosis de ER-876437 acumulada
1	Vehículo	Veh	0 mg/kg	Veh	0 mg/kg
2	ER-876437	Veh	0 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg
3	NDCS	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg	Veh	0 mg/kg
4	NDCS/876437 ER-	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg	0.01 mg/kg	0.08 mg/kg
5	NDCS/876437 ER-	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg
6	NDCS/876437 ER-	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg	1 mg/kg	8 mg/kg
7	NDCS/876437 ER-	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg

Supervivencia y autopsia: Los ratones se pueden observar por la supervivencia y se pesaron diariamente durante la duración del estudio (30 días). Los ratones muertos se pueden someter a autopsia y se observaron la presencia de tumores en órganos. Las muertes tumorales pueden ser determinadas por el peso del hígado mayor de 1.6 g y el bazo pesa más de 150 mg como por Covey JM and Zaharko DS, Eur J Cancer Clin Oncol, Vol. 21 p. 109-117, 1985.

Las conclusiones con respecto a si la administración conjunta de ER-876437 con un sustrato de CDA diferente de decitabina aumenta la supervivencia en comparación con la administración del sustrato de CDA diferente de decitabina solo en el modelo de supervivencia L1210 en ratones luego se puede determinar a partir de los datos resultantes.

Ejemplo VI: Estudio de eficacia in vivo de ER-876437 y gemcitabina en el modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780

Este estudio evaluó la actividad potenciadora de ER-876437 sobre el tratamiento de gemcitabina oral en un modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780. El ER-876437 se dosificó 30 minutos antes de la gemcitabina y ambos compuestos se dosificaron por vía oral. Los animales recibieron las dosis todos los días desde lunes hasta el viernes durante dos semanas.

Materiales y métodos

El ER-876437 y la gemcitabina-HCl (Gemzar® inyectable, Eli Lilly) se formularon en 0-5% de metilcelulosa (Sigma). Los ratones sin pelo hembra (NU/NU, código de la cepa 088, de 6 semanas de edad, Charles River Laboratory) se implantaron subcutáneamente con  $5 \times 10^6$  células de cáncer A2780 por ratón. En el día 13, cuando los tumores eran de aproximadamente 150 mm<sup>3</sup>, el tratamiento inició como se describe en la Tabla 9.

Tabla 9. Esquema de dosificación para gemcitabina y ER-876437

Grupo	Tratamiento	gemcitabina (PO, qdx5 durante dos semanas)	ER-876437* (PO, qdx5 durante dos semanas)
1	vehículo (0.5% de metilcelulosa)		
2	gemcitabina	1 mg/kg	
3	ER-876437		10 mg/kg
4	ER-876437*/gemcitabina	1 mg/kg	10 mg/kg

\*ER-876437 se dosificó aproximadamente 30 minutos antes de gemcitabina

El volumen del tumor y regresiones fueron seguidos durante del tiempo. El volumen del tumor se calculó (longitud x ancho<sup>2</sup>)/2. Tenga en cuenta que una regresión completa se definió como tumor no medible durante por lo menos 3 mediciones consecutivas; mientras que una regresión parcial se definió como la reducción del tumor a igual o menor que 50% del volumen original del tumor para 3 mediciones consecutivas. El retraso del crecimiento tumoral (TGD) se define como el número medio de días para los grupos de control y tratamiento para crecer a 342.14 mm<sup>3</sup>. El volumen del tumor promedio en el primer día de tratamiento (día 13) es 171.07 mm<sup>3</sup>. Por lo tanto, el doble del tamaño inicial del tumor es 342.14 mm<sup>3</sup>.

Resultados:

- El ER-876437 solo (Grupo 3) no tuvo ningún efecto sobre el crecimiento del tumor (Figura 3). La administración oral de gemcitabina en el régimen de 1 mg/kg PO qdx5 durante dos semanas (Grupo 2) mostró una eficacia limitada después de la segunda semana de tratamiento (Figura 3), mientras que ER-876437 solo (Grupo 3) no mostró ninguna eficacia durante el período de tratamiento (Figura 3). Cuando el tiempo de duplicación del tumor se utiliza para definir el retraso del crecimiento tumoral (TGD), solos tanto gemcitabina (Grupo 2) y ER-876437 solo (grupo 3) mostraron solo retraso de 2 días en comparación con vehículo (Grupo 1) (Tabla 10). No existe ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los grupos 1, 2 y 3 (prueba de Mann-Whitney, GraphPad Prism 5, La Jolla, CA), sin regresiones o sobrevivientes libres de tumor en el día 41.
- Por el contrario, cuando se administró ER-876437 aproximadamente 30 minutos antes de la gemcitabina (Grupo 4), uno de cada 10 ratones (10%) mostraron una regresión completa y era un sobreviviente libre de tumor en el día de finalización del estudio (día 41). 3 de 10 ratones (30%) también mostraron regresión tumoral parcial. Estos resultados muestran que existe eficacia terapéutica observada en la combinación de ER-876437/gemcitabina (Grupo 4) en comparación con el vehículo (Grupo 1), o en comparación con solo la gemcitabina (Grupo 2) (Figura 3). Se observó una diferencia significativa en TGD al comparar esta combinación (Grupo 4) con solo gemcitabina (Grupo 2) ( $P = 0.0001$ , prueba de Mann-Whitney, GraphPad Prism 5, La Jolla, CA, Tabla 10).

Tabla 10. Efecto de tratamiento de combinación de gemcitabina oral y ER-876437 Oral sobre el retraso de crecimiento de tumor en el Modelo de cáncer de ovario A2780.

Tratamiento	TGD <sup>†</sup>	Valor P *
Vehículo	NA	
1 mg/kg de gemcitabina	2 días	
10 mg/kg de ER-876437	2 días	
1 mg/kg de gemcitabina + 10 mg/kg de ER-876437	23 días	0.0001

Nota: <sup>†</sup>TGD, retraso del crecimiento del tumor. \* Se utilizó la prueba de Mann-Whitney para evaluar si el retraso del crecimiento tumor difiere significativamente entre el grupo de gemcitabina solo y ER-876437 más el grupo de combinación de gemcitabina.

- Conclusión:
- El pretratamiento de ER-876437 mostró una mejora significativa de la actividad terapéutica de gemcitabina oral en este estudio. El retraso del crecimiento tumoral significativo en el grupo de combinación en comparación con solo gemcitabina oral se identificó con la prueba estadística de Mann-Whitney (GraphPad Prism 5, La Jolla, CA).
- Ejemplo VII: Efecto de la ER-876437 en la semimedio de la gemcitabina en la presencia del CDA en el regulador Tris-HCl a 37°C
- Este ejemplo describe el efecto de ER-876437 sobre la semimedio ( $T_{1/2}$ ) de la gemcitabina en presencia de citidina desaminasa (CDA) en regulador de Tris-HCl a 37°C.
- Materiales y equipo
- Este ejemplo emplea una columna de HPLC Phenomenex Luna C18(2) (100 Å 4.6 x 250 mm 5 µm). El sistema de suministro de solvente emplea una bomba cuaternaria HPLC, mezcla de baja presión. Un automuesteador que tiene una variable de bucle, se utilizó un rango de 0.1 a 100 µL y termostato de temperatura controlada. El detector de UV puede emplear un detector de longitud de onda doble, un detector de matriz de diodos, un detector de longitud de onda variable o equivalente, y se puede grabar utilizando el software de cromatografía (por ejemplo, Waters Empower 2 Build 2154, Agilent ChemStation versión de software A.09.03 o superior para HPLC o equivalente).
- La balanza analítica empleada fue capaz de pesar ±0.1 mg. Se utilizaron agua de grado HPLC desgasificada y acetonitrilo desgasificado de grado HPLC como solventes para las fases móviles.
- La solución de dilución utilizada para hacer las soluciones a continuación fue Tris-HCl (37°C, pH 7.4, Boston BioProducts). La solución de dilución también sirvió como blanco para los espectros UV.
- Gemcitabina de control estándar: control de gemcitabina 0.2 mM se preparó al pesar 2.6 mg de gemcitabina en un matraz volumétrico de 10 mL. El matraz se diluye a volumen con regulador de Tris-HCl almacenado a 37°C y se mezcló por inversión. La solución fue etiquetada como solución madre de gemcitabina. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de gemcitabina a un matraz volumétrico de 5 mL y se diluyó a volumen con la solución de dilución y se mezcló por inversión.

Control Estándar de ER-876437: el control de ER-876437 0.4 mM se preparó al pesar 5.2 mg de ER-876437 en un matraz volumétrico de 10 mL. El matraz se diluye a volumen con regulador de Tris-HCl almacenado a 37°C y se mezcló por inversión. La solución fue etiquetada como solución madre de ER-876437. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de ER-876437 a un matraz volumétrico de 5 mL y se diluyó a volumen con la solución de dilución y se mezcló por inversión.

Gemcitabina con CDA: se transfirió 1.0 mL de solución madre de gemcitabina a un matraz volumétrico de 5 mL. Aproximadamente 2 a 3 mL de solución de dilución se transfirió al matraz. Se transfirió 0.125 mL de solución de CDA al matraz y se diluyeron a volumen con la solución de dilución. La muestra se mezcló por inversión y se inyectó en el HPLC inmediatamente después de preparación.

Gemcitabina con CDA y ER-876437: Se transfirió 1.0 mL de solución madre de ER-876437 a un matraz volumétrico de 5 mL. Aproximadamente 2 mL de solución de dilución se transfirió al matraz. Se transfirió 0.125 mL de solución de CDA al matraz. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de gemcitabina al mismo matraz y se diluyó a volumen con solución diluyente. La muestra se mezcló por inversión y se inyectó en el HPLC inmediatamente después de preparación.

Parámetros de HPLC: Las soluciones anteriores se llevaron a cabo en una columna de HPLC utilizando los parámetros mostrados en la Tabla 11.

Tabla 11. Parámetros de HPLC

Temperatura de Columna:	25°C		
Temperatura de Automuestreador:	37°C		
Velocidad de flujo:	1.0 mL/min. La velocidad de flujo se puede ajustar $\pm$ 0.2 mL/min para obtener tiempos de retención específicos.		
Gradiente:	Tiempo, min	% de solvente A*	% de solvente B*
	Inicial	96	4
	10	96	4
	20	75	25
	25	75	25
Tiempo de re-equilibrio	10 minutos		
Volumen de inyección:	25 $\mu$ L		
Solución de lavado de aguja:	Utiliza la solución de dilución		
Detección:	205 nm UV		
Tiempo de ejecución:	25 minutos		
* Solvente A: agua; solvente B: acetonitrilo			

Se encontró que el tiempo de retención de gemcitabina es aproximadamente 8 minutos; y se encontró que el tiempo de retención de ER-876437 es aproximadamente 21.8 minutos.

Resultados y discusión

Tabla 12. Resumen de resultados

Soluciones	Estimado $T_{1/2}$
Gemcitabina con CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C	< 35 minutos
Gemcitabina con CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C	Más de 13 h

Los niveles de gemcitabina, en presencia y ausencia de CDA, con o sin ER-876437, en regulador de Tris-HCl a 37 C se midieron mediante análisis por HPLC utilizando detección UV. Las áreas de la gemcitabina y ER-876437 picos en las muestras experimentales se midieron y se compararon con inyecciones en áreas de gemcitabina y ER-876437 de tiempo cero, respectivamente. Los resultados se presentaron como porcentaje restante de control.

Los datos se recolectaron a 205 nm UV debido a que la gemcitabina y ER-876437 comparten este máximo UV. Véase Figura 4. Los resultados fueron capturados cada 35 minutos durante 12 horas y de forma intermitente a partir de entonces debido a la longitud del método analítico. Los cromatogramas de HPLC que muestran trazas superpuestas en los puntos de tiempo especificados se muestran en la Figura 5 y Figura 6.

Los cromatogramas de HPLC en estas figuras se muestran con una compensación constante, aditiva para mayor claridad. Aunque se muestra la traza inferior de partida en el tiempo = 0.00 minutos, cada cromatograma sucesivo se desplaza de forma arbitraria a la derecha del cromatograma anterior (en una cantidad constante de tiempo) con el fin de evitar que los picos se superpongan. Los tiempos reales asociados con los picos mostrados en estos cromatogramas se

pueden realizar al cambiar el inicio de la traza de cromatograma (a la izquierda) de nuevo al eje vertical, donde el tiempo es igual a 0.00 minutos. Del mismo modo, la absorción UV real de cualquier pico se puede realizar por desplazamiento del valor de referencia del cromatograma a la posición donde mUA = 0.00.

5 En ausencia de CDA, no se observó reducción en la concentración de gemcitabina después de 10 horas, mientras que, en presencia de CDA, la concentración de gemcitabina se redujo a un control de casi 0% dentro de 1 hora y se encontró que el  $T_{1/2}$  es <35 minutos. La adición de ER-876437 a la mezcla de incubación resulta en la inhibición de la reacción con más del 95% de gemcitabina que queda después de 7 h. Del mismo modo, los niveles de ER-876437 no se vieron afectados después de 7 horas de exposición a CDA con gemcitabina. Un resumen de todos los resultados se muestra en la Figura 7.

15 En conclusión, se encontró que el  $T_{1/2}$  de la gemcitabina en presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C es < 35 minutos. El ER-876437 inhibe casi completamente este efecto. La gemcitabina sola en regulador de Tris-HCl a 37°C no mostró ninguna degradación al final de la observación.

Ejemplo VIII Efecto de ER-876437 en la semisemivida de citarabina en la Presencia del CDA en regulador de Tris-HCl a 37° C

20 Este ejemplo describe el efecto de ER-876437 sobre la semivida ( $T_{1/2}$ ) de citarabina (Sigma) en presencia de citidina desaminasa (CDA) en regulador de Tris-HCl a 37°C.

Con las excepciones señaladas adelante, los materiales y equipos son los mismos que se describieron anteriormente para el Ejemplo VII.

25 La solución de dilución utilizada para elaborar las soluciones adelante fue Tris-HCl (37°C, pH 7.4, Boston BioProducts). La solución de dilución también sirvió como blanco para los espectros UV.

30 Control estándar de citarabina: control de citarabina 0.2 mM se preparó al pesar 2.4 mg de citarabina en un matraz volumétrico de 10 mL. El matraz se diluyó a volumen con regulador de Tris-HCl almacenado a 37°C y se mezcló por inversión. La solución fue etiquetada como solución madre de citarabina. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de citarabina a un matraz volumétrico de 5 mL y se diluyeron a volumen con la solución de dilución y se mezclaron por inversión.

35 Control Estándar de ER-876437: control de ER-876437 0.4 mM se preparó al pesar 5.2 mg de ER-876437 en un matraz volumétrico de 10 mL. El matraz se diluyó a volumen con regulador de Tris-HCl almacenado a 37°C y se mezcló por inversión. La solución fue etiquetada como solución madre de ER-876437. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de ER-876437 a un matraz volumétrico de 5 mL y se diluyó a volumen con la solución de dilución y se mezcló por inversión.

40 Citarabina con CDA: se transfirió 1.0 mL de solución madre de citarabina a un matraz volumétrico de 5 mL. Aproximadamente 2 a 3 mL de solución de dilución se transfirió al matraz. Se transfirió 0,125 mL de solución de CDA al matraz y se diluyeron a volumen con la solución de dilución. La muestra se mezcló por inversión y se inyectó en HPLC inmediatamente después de preparación.

45 Citarabina con CDA y ER-876437: se transfirió 1.0 mL de solución madre de ER-876437 a un matraz volumétrico de 5 mL. Aproximadamente se transfirió 2 mL de solución de dilución al matraz. Se transfirió 0.125 mL de solución de CDA al matraz. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de citarabina al mismo matraz y se diluyó a volumen con solución diluyente. La muestra se mezcló por inversión y se inyectó en HPLC inmediatamente después de preparación.

50 Los estándares y muestras anteriores se realizaron en una columna de HPLC utilizando los parámetros mostrados en la Tabla 11 del Ejemplo VII, excepto que los espectros UV se recolectaron a 205 y 275 nm. Se encontró que el tiempo de retención para la citarabina es aproximadamente 4.4 minutos; y se encontró que el tiempo de retención de ER-876437 es aproximadamente 21.8 minutos.

55 Resultados y discusión

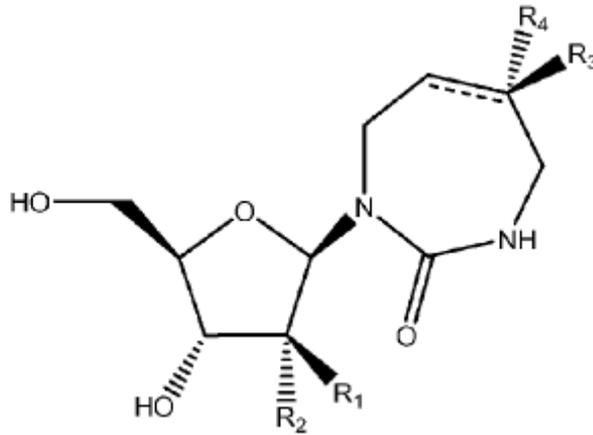
Tabla 13. Resumen Resultados

Soluciones	Estimado $T_{1/2}$
Citarabina con CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C	< 35 minutos
Citarabina con CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C	Más de 52 h

- Los niveles de citarabina, en presencia y ausencia de CDA, con o sin ER-876437, en regulador de Tris-HCl a 37°C se midieron mediante análisis por HPLC utilizando detección UV. Las áreas de citarabina y ER-876437 picos en las muestras de estabilidad se midieron y se compararon con las áreas de controles estándar de citarabina y ER-876437, respectivamente. Los resultados se presentaron como porcentaje restante de control.
- 5 Desde que ER-876437 y citarabina tienen diferentes máximos de UV, se recolectan los cromatogramas de HPLC a UV 205 nm y 275 nm. Los resultados de citarabina se calcularon utilizando UV 275 nm y los resultados de ER-876437 se calcularon utilizando UV 205 nm. Véase Figura 8 para espectros UV de ER-876437 y citarabina.
- 10 Los resultados fueron capturados cada 35 minutos durante 12 horas y de forma intermitente a partir de entonces debido a la longitud del método analítico. Los cromatogramas de HPLC que muestran trazas superpuestas en puntos específicos de tiempo se muestran en las figuras 9 y 10.
- 15 Los cromatogramas de HPLC en estas figuras se muestran con una compensación constante, aditiva para mayor claridad. Aunque se muestra la traza de fondo que inicia en el tiempo = 0.00 minutos, cada cromatograma sucesivo se desplaza de forma arbitraria a la derecha del cromatograma anterior (en una cantidad constante de tiempo) con el fin de evitar que los picos se superpongan. Los tiempos reales asociados con los picos mostrados en estos cromatogramas se pueden realizar al cambiar el inicio de la traza de cromatograma (a la izquierda) de nuevo al eje vertical, donde el tiempo es igual a 0.00 minutos. Del mismo modo, la absorción UV real de cualquier pico se puede realizar al desplazar el valor de referencia del cromatograma a la posición donde mUA = 0.00.
- 20 En ausencia de CDA, no se observó reducción en la concentración de citarabina después de 55 horas, mientras que, en presencia de CDA, la concentración de citarabina se redujo a un control de casi 0% dentro de 35 minutos y se encontró que el  $T_{1/2}$  fue <35 minutos. La adición de ER-876437 a la mezcla de incubación resulta en inhibición de la reacción con más del 95% de citarabina que queda después de 52 h. Del mismo modo, los niveles de ER-876437 no se vieron afectados después de 52 horas de exposición a la CDA con citarabina. Un resumen todos los resultados se muestran en las Figuras 11 y 12.
- 25 En conclusión, se encontró que el  $T_{1/2}$  de citarabina en presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C es < 35 minutos. El ER-876437 casi inhibe completamente este efecto. La citarabina solo en regulador de Tris-HCl a 37°C no mostró ninguna degradación al final del período de observación (52 h).
- 30

Reivindicaciones

1. El compuesto de la fórmula I:



I

5

en la que:

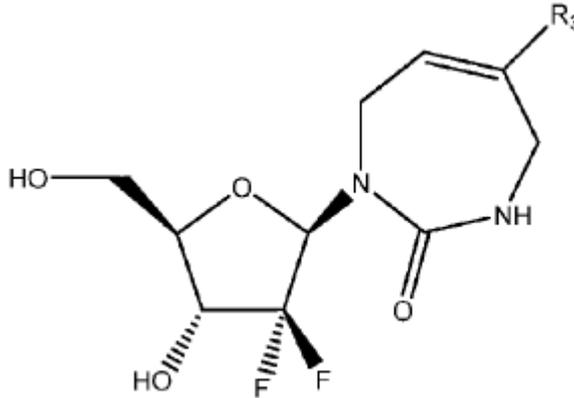
uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es F, y el otro se selecciona de H y F;

10 uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es H, y el otro se selecciona de H y OH;

donde ----- es un enlace covalente o está ausente, y R<sub>4</sub> está ausente cuando ----- es un enlace covalente; o una sal farmacéuticamente aceptable, éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

15 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno F.

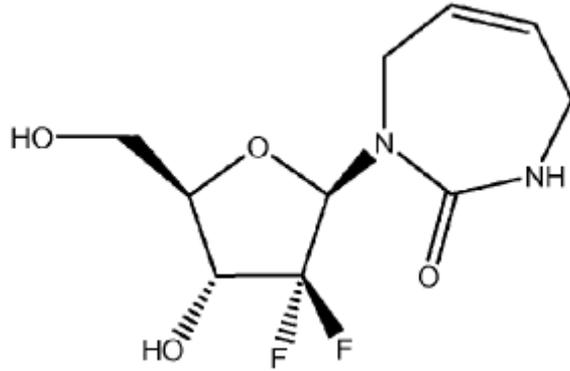
3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula II:



II

20 en la que R<sub>3</sub> se selecciona de H y OH; o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

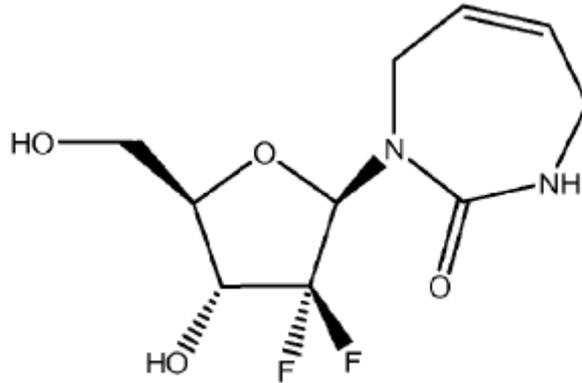
4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VIII:



VIII

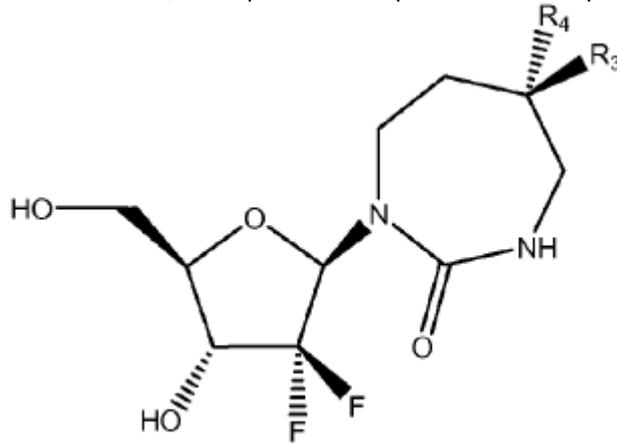
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alquenilo C<sub>2-6</sub> del mismo.

5 5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VIII:



VIII.

6. El compuesto de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula III:

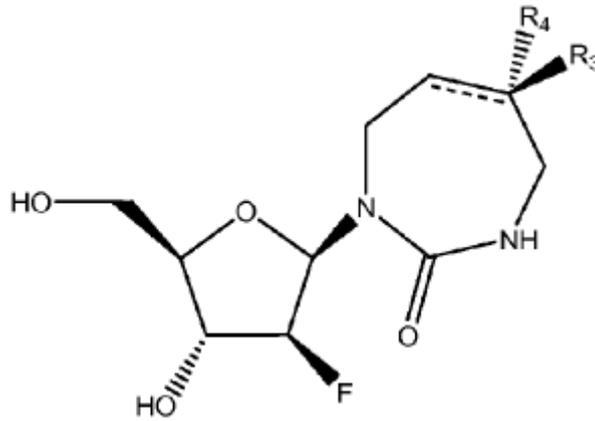


III

10 en la que: uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es H, y el otro se selecciona de H y OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alquenilo C<sub>2-6</sub> del mismo.

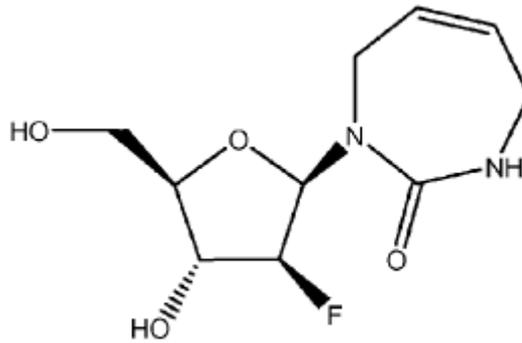
15 7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula IV:



IV

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

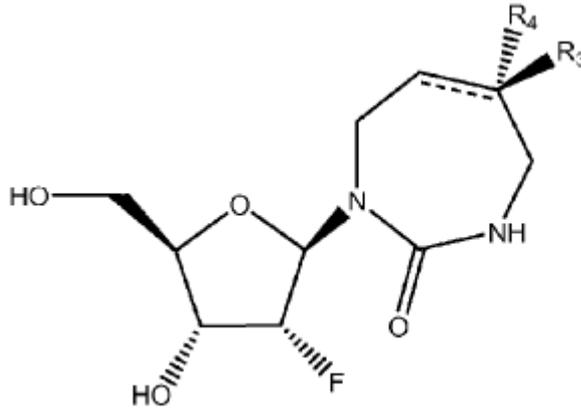
5 8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula V:



V

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

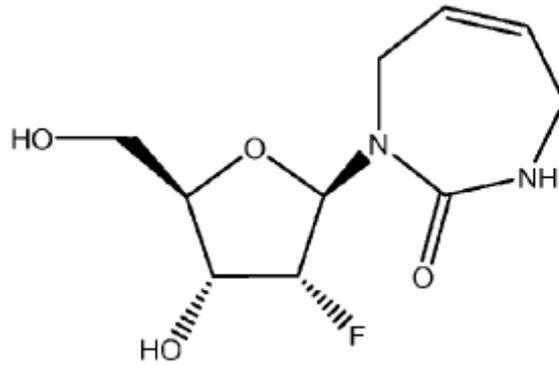
10 9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VI:



VI

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

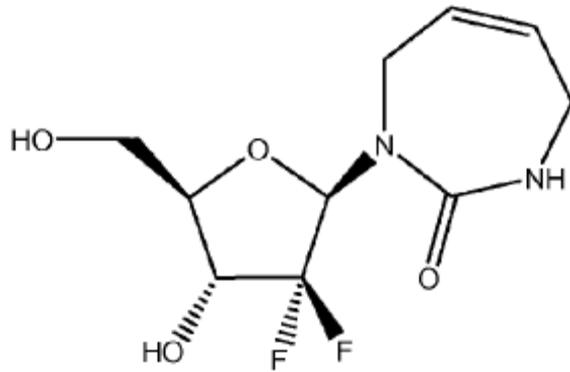
15 10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VII:



VII

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

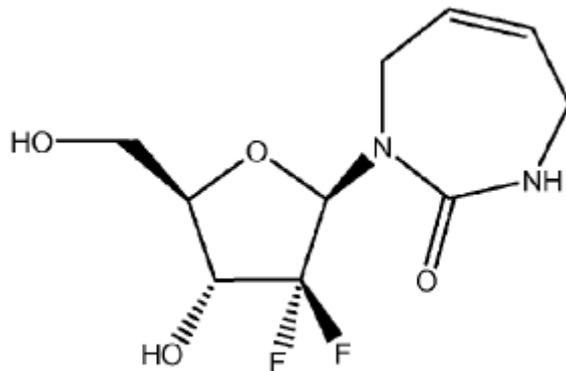
5 11. El compuesto de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VIII:



VIII

o un éster de alquilo C<sub>1-6</sub> del mismo.

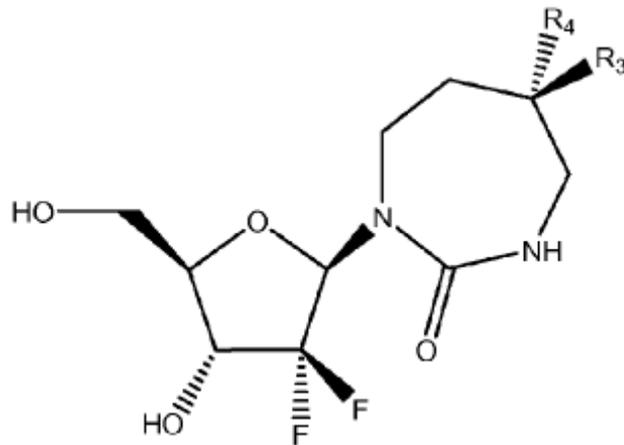
10 12. El compuesto de la reivindicación 2, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula VIII:



VIII

o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

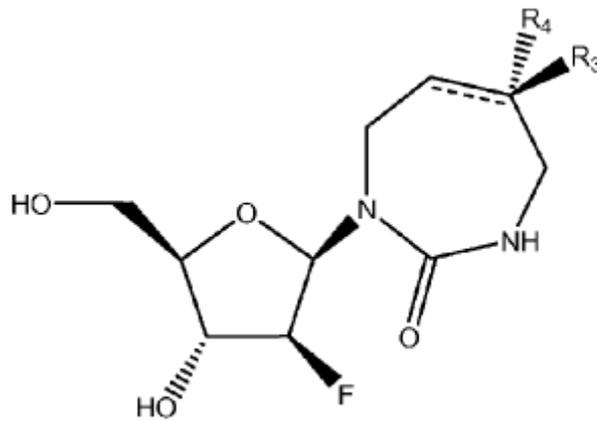
15 13. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula III:



III

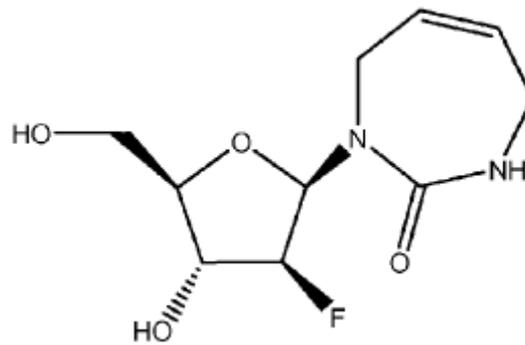
en la que: uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es H, y el otro se selecciona de H y OH;

5 o un compuesto de la fórmula IV:



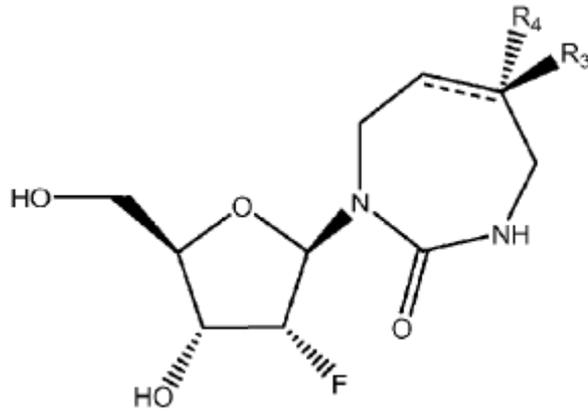
IV.

14. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es un compuesto de la fórmula V:



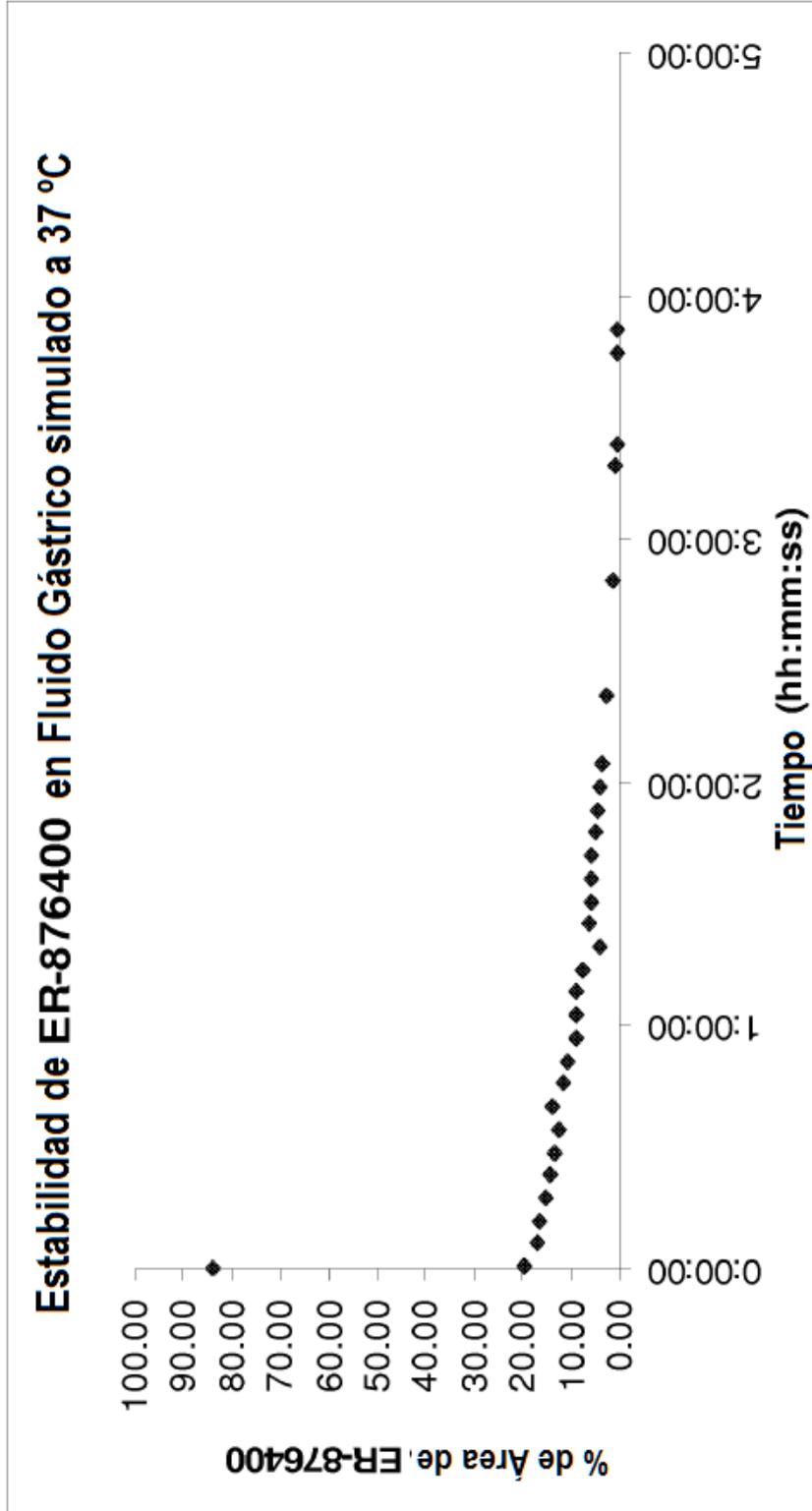
V

10 o un compuesto de la fórmula VI:



VI.

15. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.



**Figura 1**

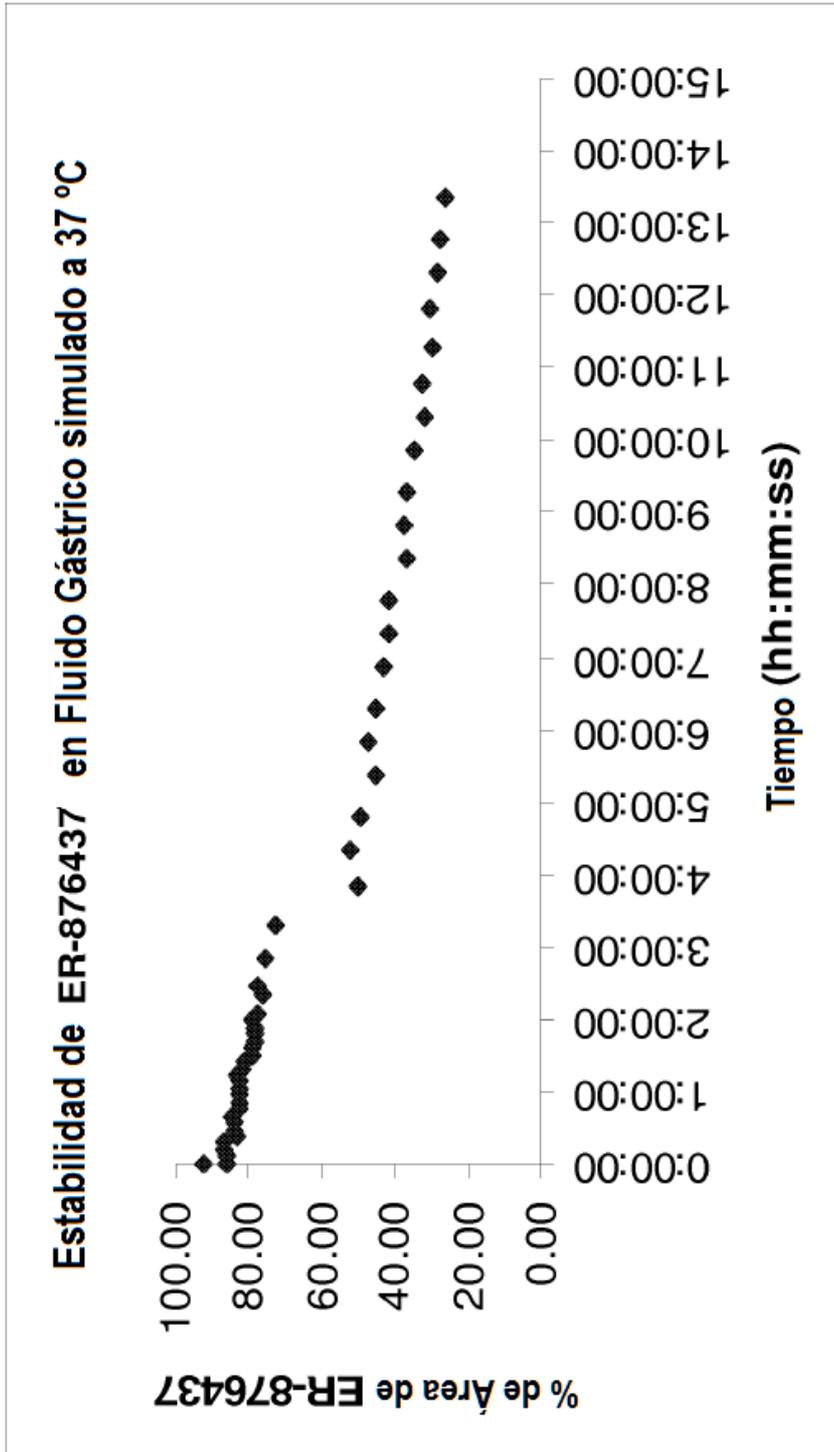
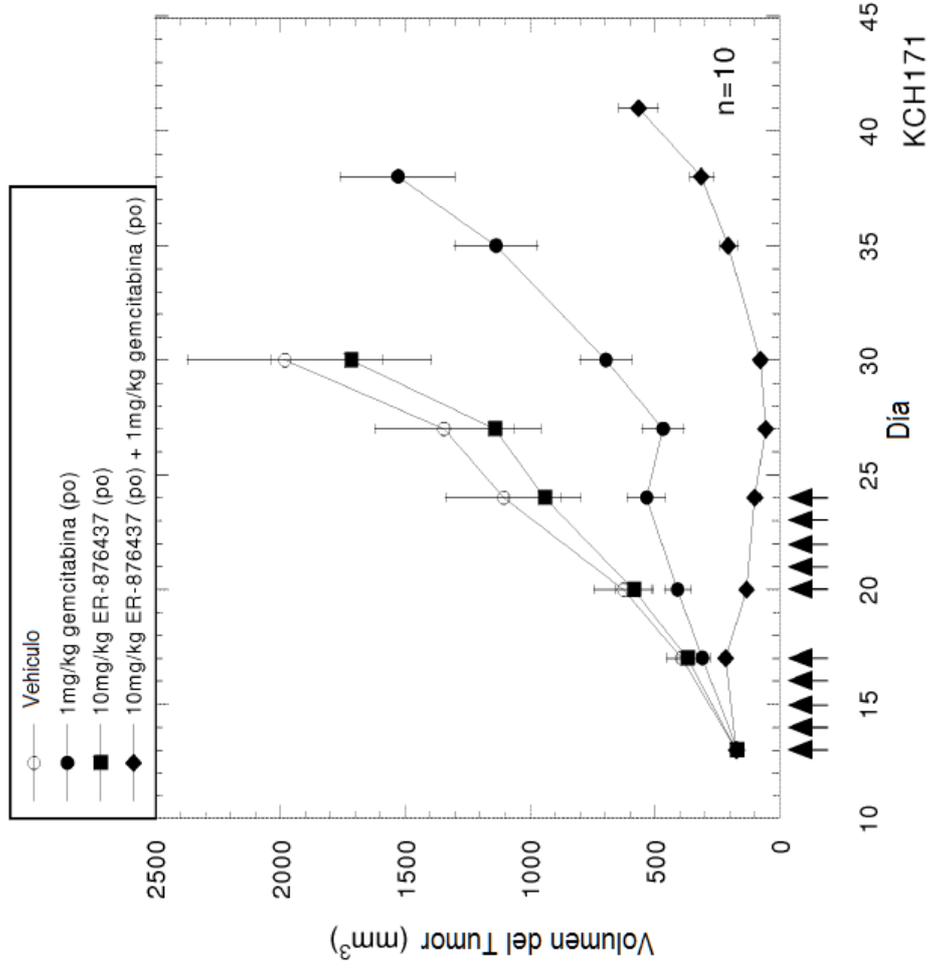
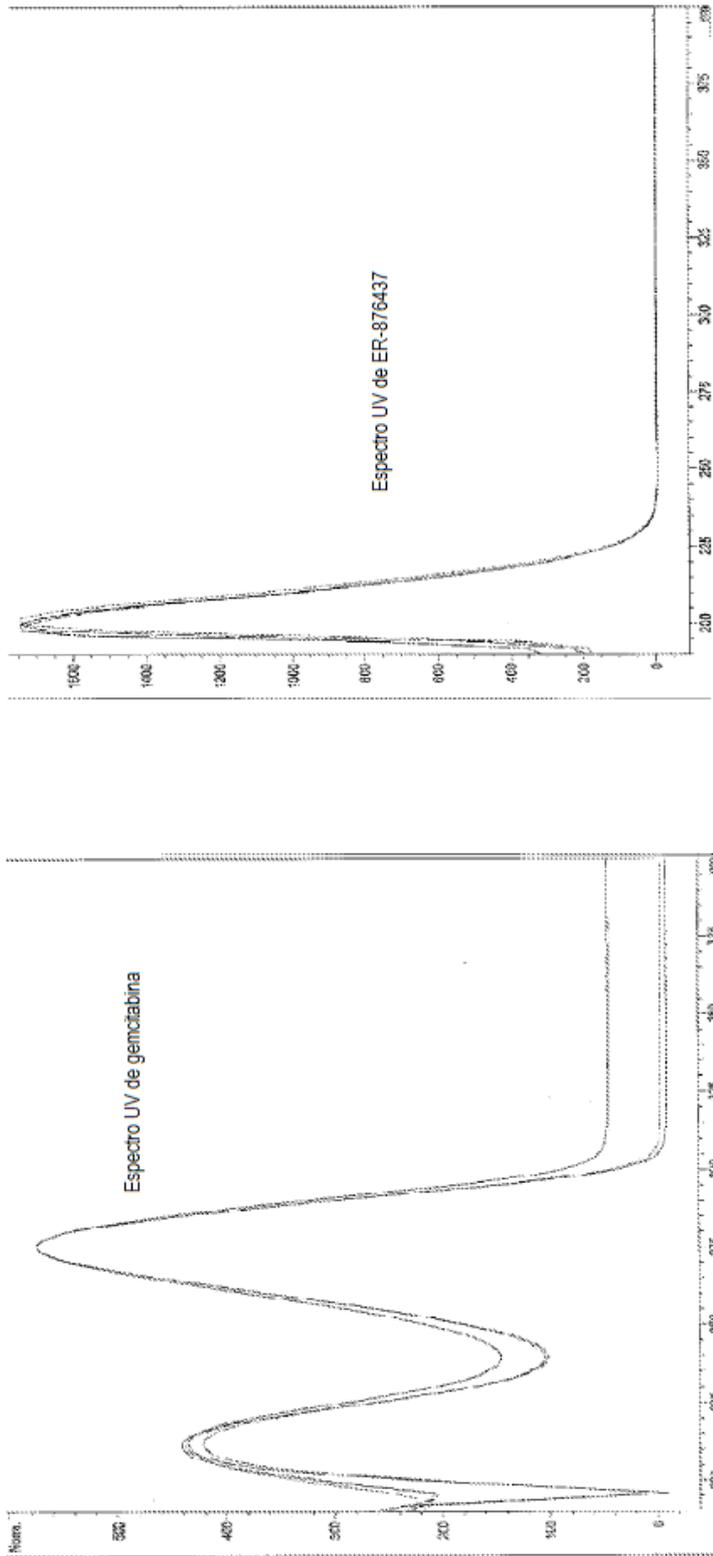


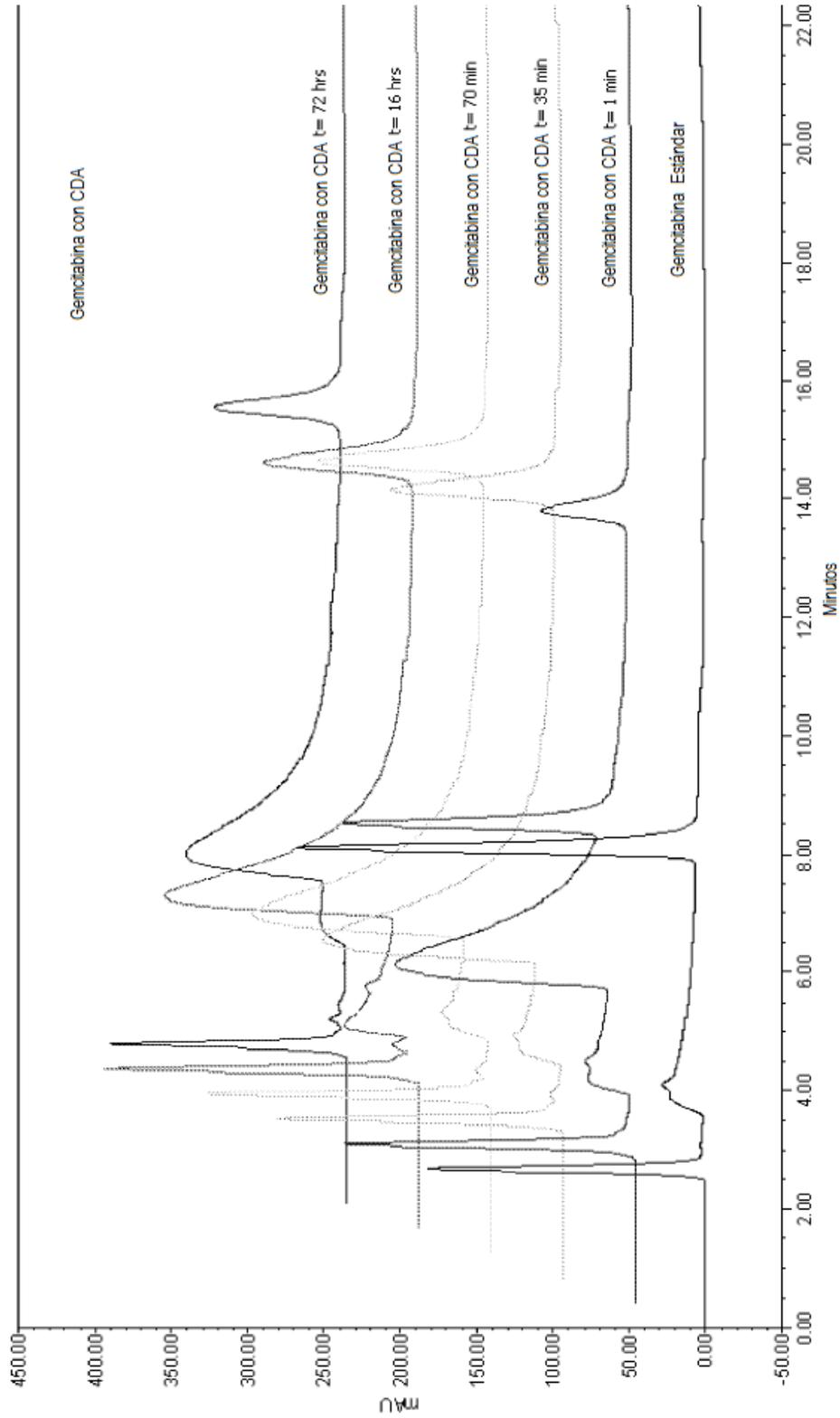
Figura 2



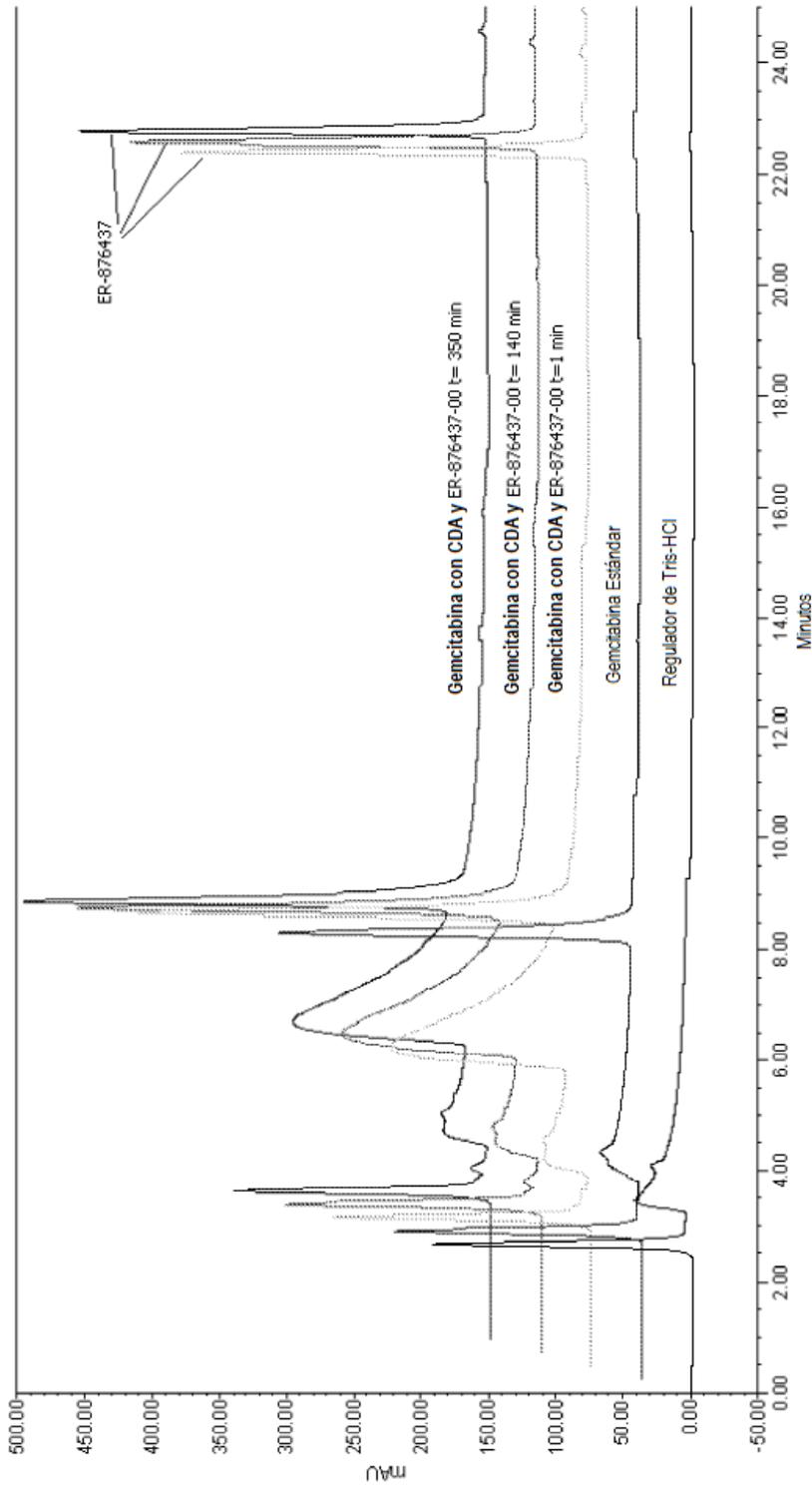
**Figura 3 Efecto de combinar gemcitabina (1 mg/kg) PO más ER-876437 (10 mg/kg) en el modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780**



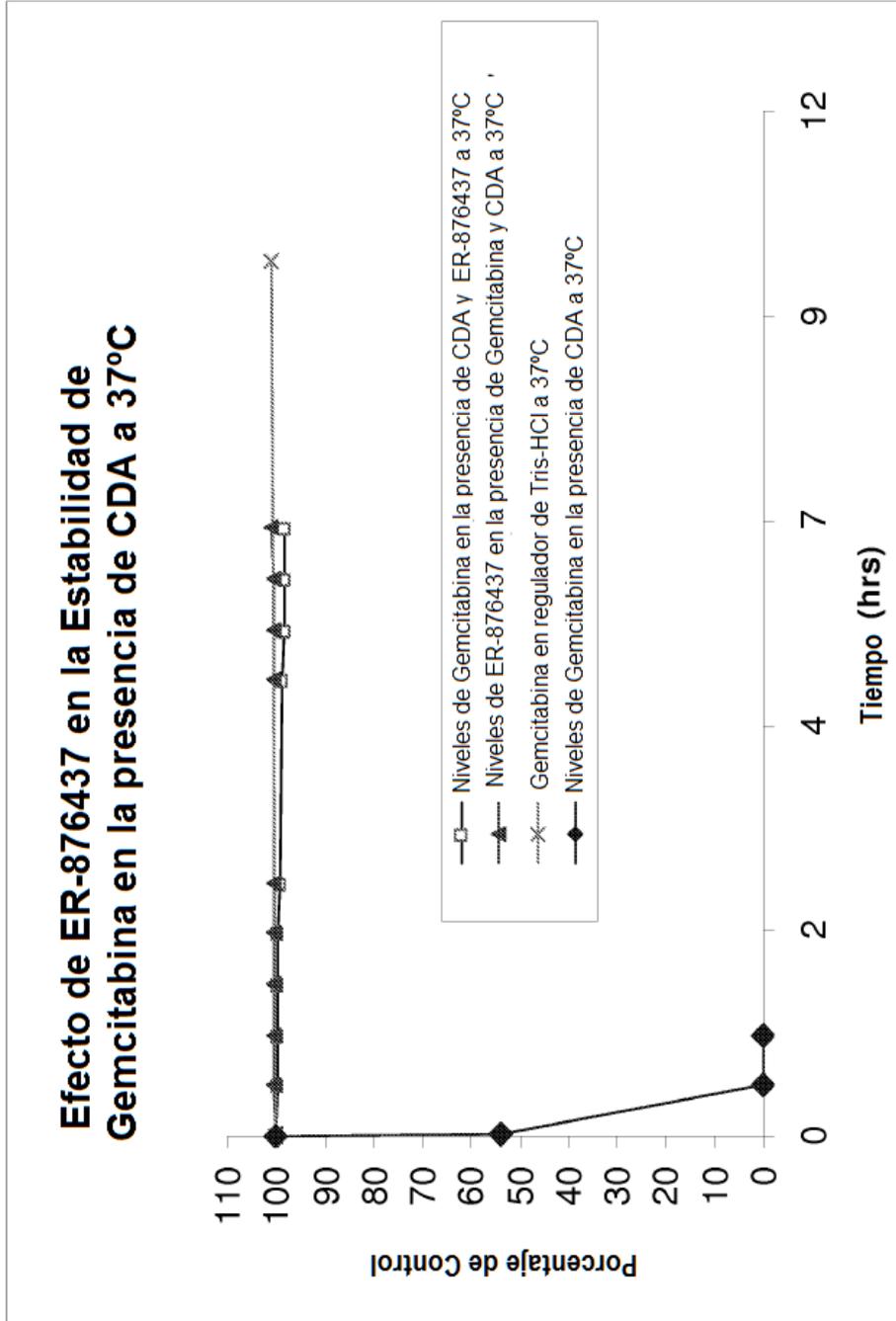
**Figura 4 Espectro UV de gemcitabina y de ER-876437**



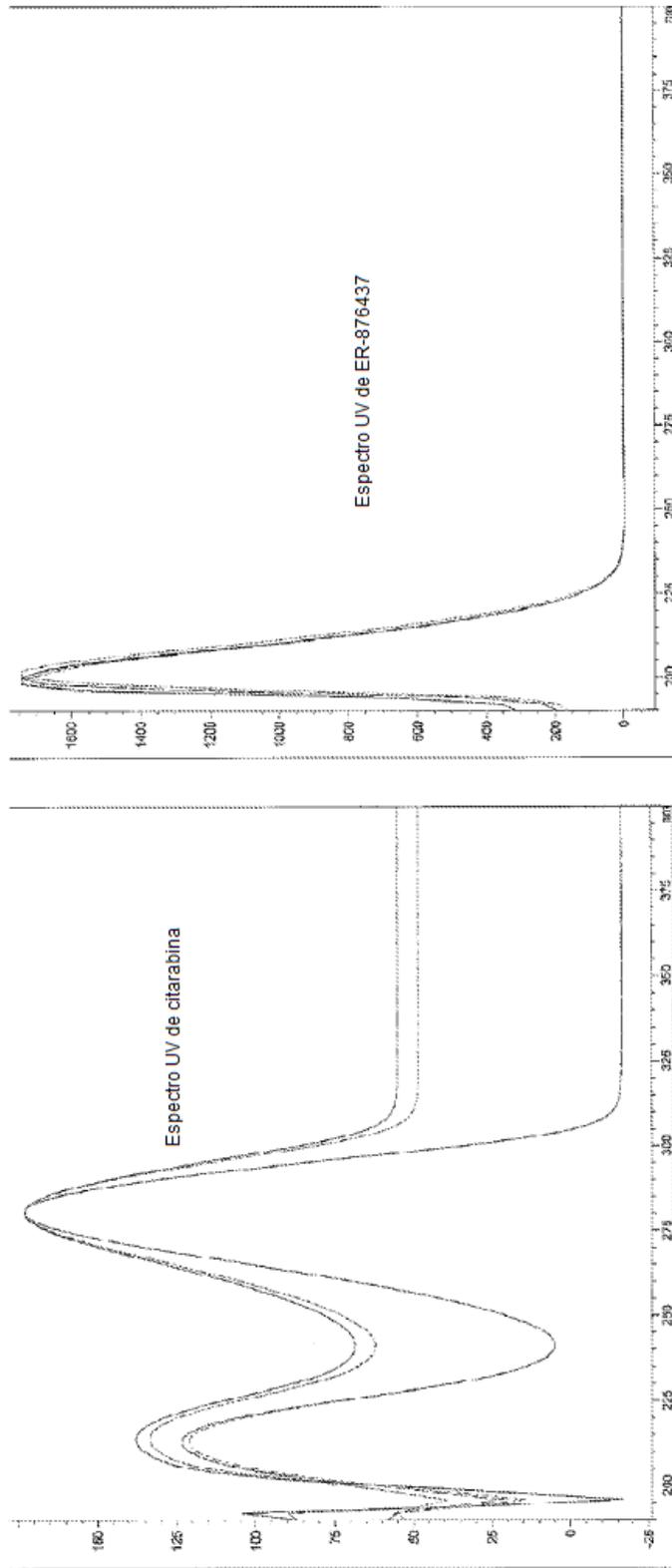
**Figura 5** Cromatogramas de HPLC de Gemcitabina en la Presencia de CDA en regulador de Tris-HCL a 37°C en Puntos de Tiempo Seleccionados



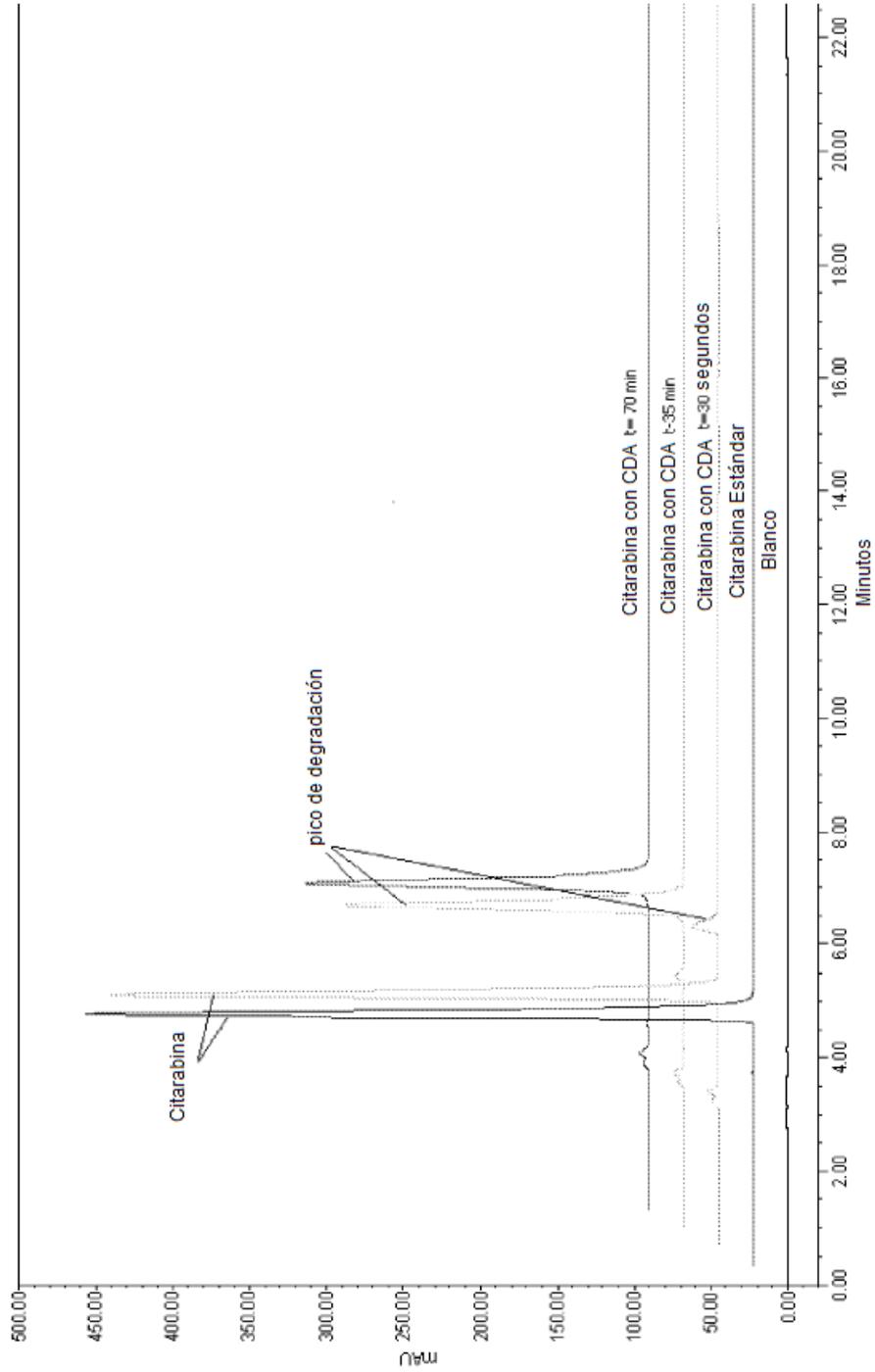
**Figura 6 Cromatogramas de HPLC de Gemcitabina en la Presencia de CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C en Puntos de Tiempo Seleccionados**



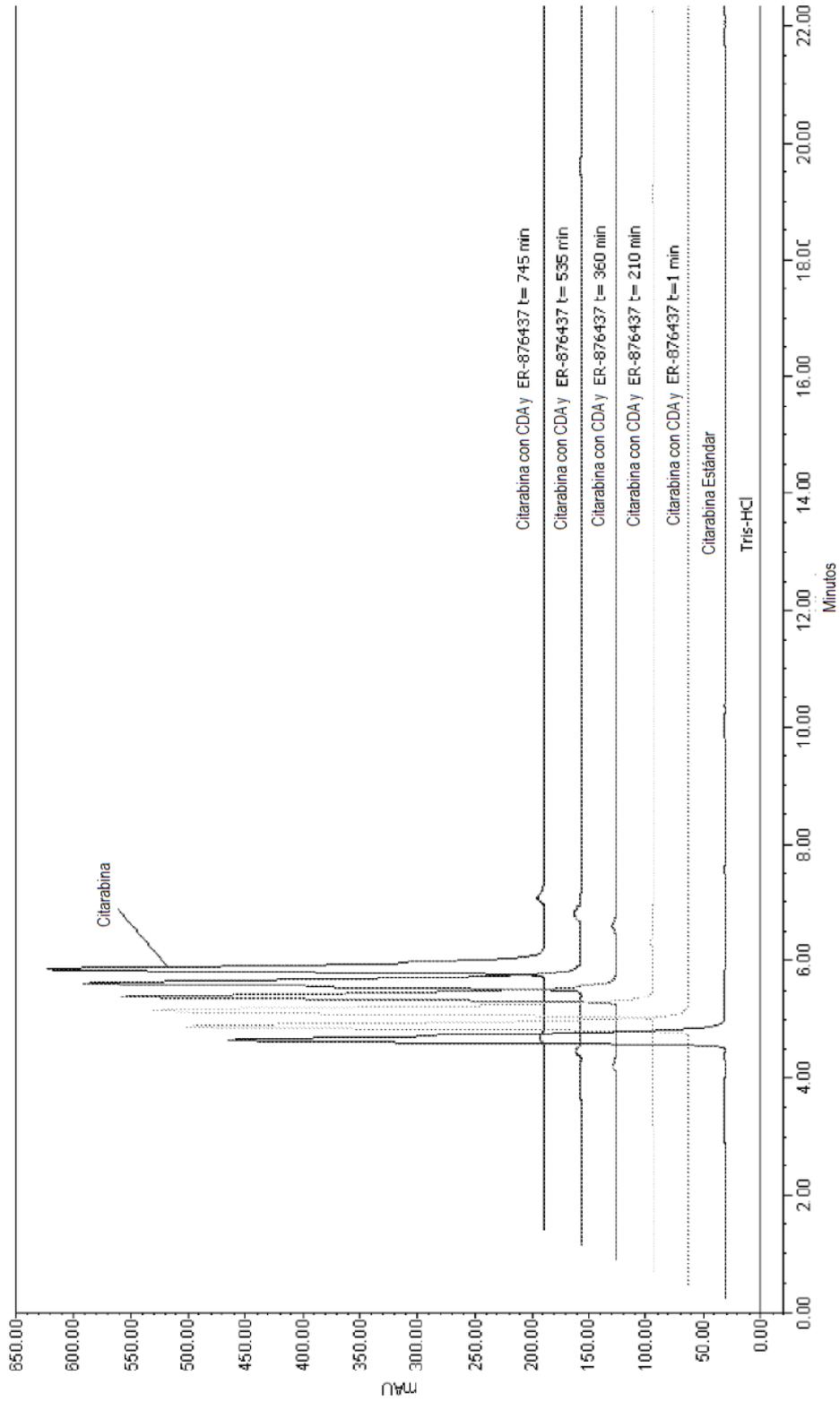
**Figura 7 Efecto de ER-876437 en los Niveles de Gemcitabina en la Presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C**



**Figura 8 Espectro UV de citarabina y de ER-876437**



**Figura 9** Cromatogramas de HPLC de Citarabina en la Presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados



**Figura 10 C Cromatogramas de HPLC de Citarabina en la Presencia de CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C en Puntos de Tiempo Seleccionados**

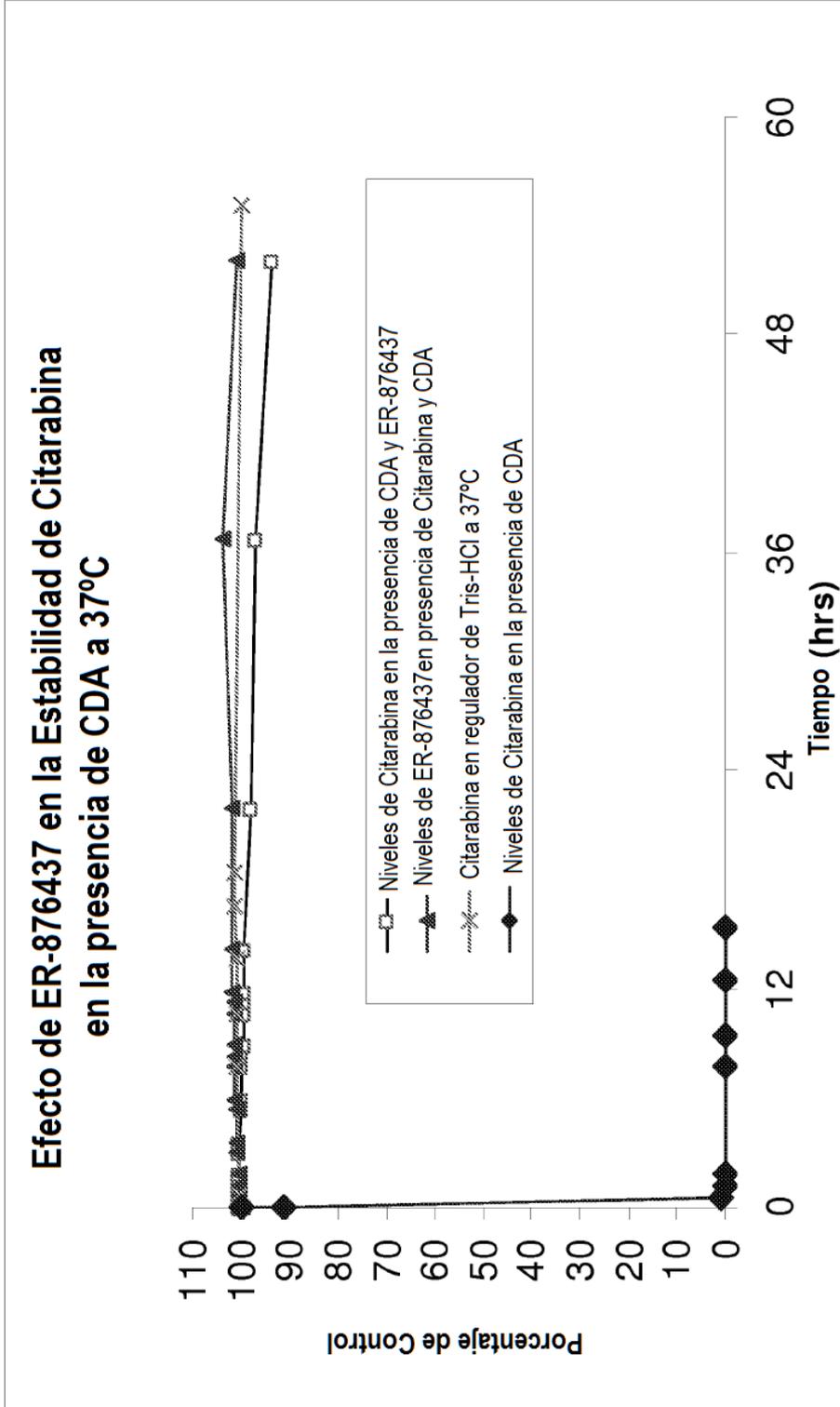


Figura 11 Efecto de ER-876437 en los Niveles de Citarabina en la Presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C (Escala Completa)

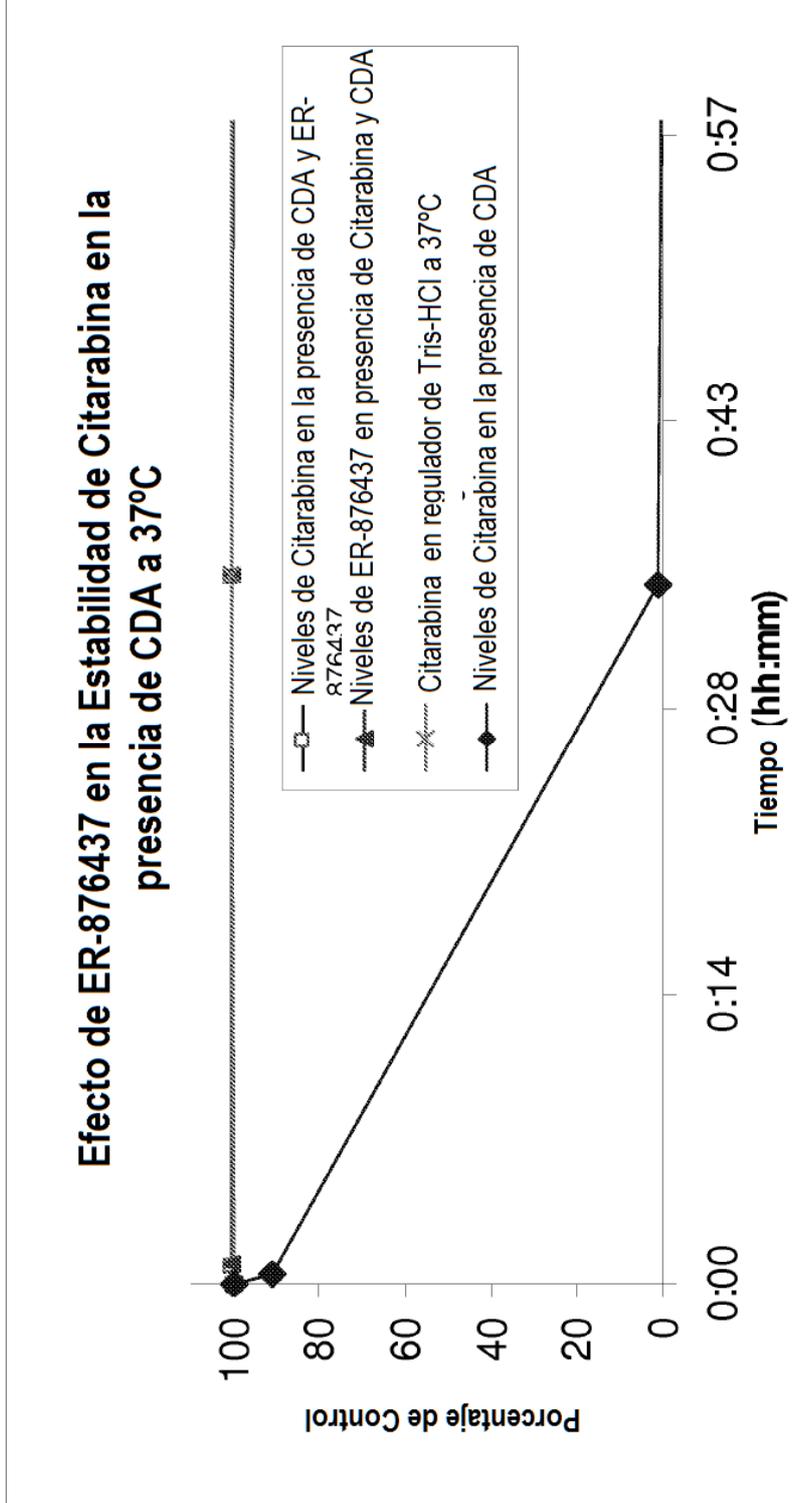


Figura 12 Efecto de ER-876437 en los Niveles de Citarabina en la Presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C (Aumentado)