

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 616 566**

51 Int. Cl.:

C07H 19/04 (2006.01)
A61K 31/706 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
C07H 19/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.10.2008** E 12151552 (2)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.02.2017** EP 2447272

54 Título: **2-fluoro-2-desoxitetrahidrouridinas como inhibidores de la citidina desaminasa**

30 Prioridad:

16.10.2007 US 980397 P

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

13.06.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

HAMILTON, GREGORY, S.;
TSUKAMOTO, TAKASHI;
FERRARIS, DANA V.;
DUVALL, BRIDGET y
LAPIDUS, RENA

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 616 566 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

2'-fluoro-2'-desoxitetrahidrouridinas como inhibidores de la citidina desaminasa

La solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de EEUU No 60/980.397, presentada el 16 de octubre de 2007.

5 Campo de la invención

La presente invención proporciona ciertos compuestos derivados de tetrahidrouridina que son inhibidores de la enzima citidina desaminasa, para uso en un método para inhibir la citidina desaminasa (CDA), para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato CDA y/o para uso en un método para tratar cáncer, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden dichos compuestos, y métodos para preparar y utilizar dichos compuestos.

10

Antecedentes

Las enzimas adenosina desaminasa (ADA, EC 3.5.4.4) y citidina desaminasa (CDA, EC 3.5.4.5) actúan para desaminar los nucleósidos de aminopurina y aminopirimidina naturales, respectivamente, en seres humanos y otros organismos. También pueden convertir fármacos basados en nucleósidos activos en los metabolitos inactivos. Por ejemplo, el fármaco de nucleósido de purina arabinosiladenina (fludarabina, ara-A) es desaminado por ADA; el compuesto resultante, con el grupo amino de origen reemplazado por hidroxilo, es inactivo como agente antitumoral comparado con el compuesto de origen. De forma similar, el fármaco antileucemia arabinosilcitosina (citarabina, ara-C) es degradado metabólicamente por CDA para producir arabinosiluracilo inactivo.

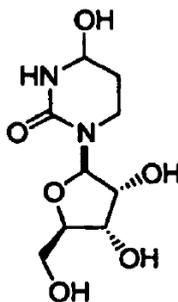
15

La CDA es un componente de la vía de rescate de pirimidina. Convierte la citidina y la desoxicitidina en uridina y desoxiuridina, respectivamente, mediante una desaminación hidrolítica (Arch. Biochem. Biophys., 1991, 290, 285-292; Methods Enzymol., 1978, 51, 401-407; Biochem. J., 1967, 104, 7P). También desamina una serie de análogos de citosina sintéticos que son fármacos útiles desde el punto de vista clínico, tales como ara-C mencionado 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 en los derivados de uridina habitualmente confiere la pérdida de actividad terapéutica o la adición de efectos secundarios. También se ha demostrado que los cánceres que adquieren resistencia a fármacos de análogos de citosina a menudo sobreexpresan la CDA (Leuk Res., 1990, 14, 751-754). Las células leucémicas que expresan un alto nivel de CDA pueden manifestar resistencia a antimetabolitos de citosina y, con ello, se limita la actividad antineoplásica de dichos productos terapéuticos (Biochem. Pharmacol., 1993, 45, 1857-1861). Por tanto, los inhibidores de CDA podrían ser adyuvantes útiles en la quimioterapia de combinación.

25

30

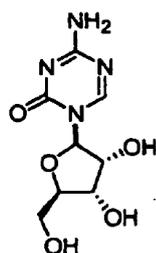
Desde hace varios años se sabe que la tetrahidrouridina (THU) es un inhibidor de la citidina desaminasa.



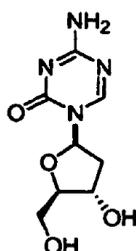
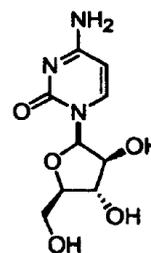
Tetrahidrouridina (THU)

Diversos informes han sugerido que una coadministración con THU aumenta la eficacia y la actividad oral de fármacos basados en citidina. Se ha demostrado que la THU potencia la actividad oral del agente antileucémico 5-azacitidina en ratones leucémicos L1210 (Cancer Chemotherapy Report, 1975, 59, 459-465). La combinación de THU y 5-azacitidina también se ha estudiado en un modelo de anemia falciforme de babuino (Am. J. Hematol., 1985, 18, 283-288), y en pacientes humanos con anemia falciforme en combinación con 5-azacitidina administrada por vía oral (Blood, 1985, 66, 527-532).

35



5-azacitidina

5-aza-2'-desoxicitidina
(decitabina)

ara-C

También se ha demostrado que la THU potencia la eficacia oral de ara-C en ratones leucémicos L1210 (Cancer Research, 1970, 30, 2166; Cancer Invest., 1987, 5, (4), 293-299), y en ratones que portan tumores (Cancer Treat. Rep., 1977, 61, 1355-1364). Se ha investigado la combinación de ara-C administrada por vía intravenosa con THU administrada por vía intravenosa en varios estudios clínicos en seres humanos (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) (Leukemia, 1991, 5, 991-998; Cancer Chemother. Pharmacol., 1993, 31, 481-484).

La 5-aza-2'-desoxicitidina (decitabina) es un agente antineoplásico para el tratamiento del síndrome mielodisplásico (MDS), con utilidad potencial también para el tratamiento de AML y CML. Al igual que otros fármacos con base de citidina, su biodisponibilidad oral y su eficacia están limitadas por la desactivación por CDA. Se ha demostrado que la THU mejora la potencia de la decitabina en un modelo de enfermedad falciforme en babuinos (Am. J. Hematol., 1985, 18, 283-288). Además, se ha demostrado que otro inhibidor de CDA conocido, la zebularina, potencia la eficacia de la decitabina en ratones con leucemia L1210 (Anticancer Drugs, 2005, 16, 301-308).

La gemcitabina, otro fármaco antineoplásico con base de citidina, también se ha estudiado junto con inhibidores de CDA (Biochem. Pharmacol., 1993, 45, 1857-1861). Se ha demostrado con la coadministración con THU altera la farmacocinética y la 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).

La 5-fluoro-2'-desoxicitidina (florocitidina, FdCyd) es otro fármaco anticáncer con base de citidina que es un inhibidor del ADN metiltransferasa. Se ha estudiado la modulación de su metabolismo y su farmacocinética por THU en ratones (Clin. Cancer Res., 2006, 12, 7483-7491; Cancer Chemother. Pharm., 2008, 62, 363-368).

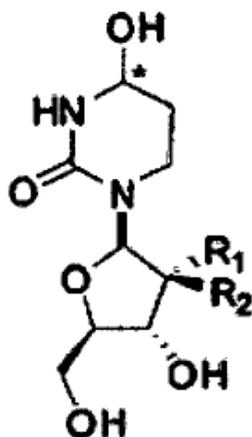
Los resultados de los estudios mencionados anteriormente sugieren que existe una utilidad terapéutica en la administración de inhibidores de CDA junto con fármacos con base de citidina, tales como ara-C, decitabina, 5-azacitidina y otros. Sin embargo, inhibidores tempranos de CDA, tales como THU, tienen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

Por tanto, existe una necesidad en curso de nuevos y potentes inhibidores de CDA terapéuticamente útiles.

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona ciertos compuestos derivados de tetrahidouridina, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden dichos compuestos, y métodos para preparar y utilizar dichos compuestos. Los compuestos, las composiciones, kits y los métodos de la invención pueden proporcionar ciertos beneficios. Por ejemplo, los compuestos y las composiciones de la invención pueden inhibir la actividad de la enzima CDA y/o potenciar la vida media, la biodisponibilidad y/o la eficacia de fármacos que son sustratos para la CDA. Además, los compuestos, las composiciones, kits y los métodos de la invención pueden mostrar una solubilidad acuosa, estabilidad química, niveles de absorción del fármaco, niveles de toxicidad, caducidad, reproducibilidad en la fabricación y la formulación, y eficacia terapéutica mejorados.

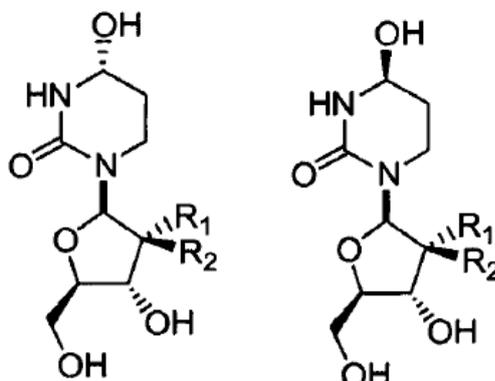
En una realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula I:



I

o su sal farmacéuticamente aceptable, en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o (S), y en la que R₁ y R₂ son fluoro para uso en un método para inhibir la citidina desaminasa (CDA).

- 5 En otras realizaciones, el compuesto de fórmula I para uso de acuerdo con la invención tiene la estereoquímica de la o Ib:



Ia

Ib

en la que R₁ y R₂ tienen el significado definido más arriba

- 10 Puesto que los compuestos de la invención para uso con respecto a la invención pueden poseer al menos un centro quiral, pueden existir en forma de enantiómeros, diastereómeros, mezclas racémicas, mezclas no racémicas u otros estereoisómeros. La presente invención incluye todos estos posibles isómeros, así como los isómeros geométricos y los tautómeros.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:

- 15 (i) una cantidad efectiva de un compuesto de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa; y
 (ii) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otras realizaciones, la composición farmacéutica también comprende una cantidad efectiva de al menos otro agente terapéutico, tal como un fármaco sustrato de CDA o un agente quimioterapéutico.

La "cantidad efectiva" del compuesto de la invención puede variar del 0,1% en peso a aproximadamente 100% en

peso. En algunas realizaciones, la cantidad efectiva del compuesto es del 0,1% al 20% en p/p. En otras realizaciones, la cantidad efectiva es del 1-10% en p/p. En otras realizaciones, la cantidad efectiva es del 2-5% en p/p.

5 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para la administración en una forma sólida o líquida, incluyendo las adaptadas para lo siguiente: (1) la administración oral, por ejemplo, bebidas (por ejemplo, disoluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos (por ejemplo, los dirigidos a la absorción bucal, sublingual y sistémica), comprimidos oblongos, píldoras grandes, polvos, gránulos, pastas para la aplicación a la lengua, cápsulas de gelatina dura, cápsulas de gelatina blanda, pulverizados bucales, trociscos, pastillas para chupar, gránulos, jarabes, suspensiones, elixires, líquidos, emulsiones y microemulsiones; (2) la administración parenteral, por ejemplo mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural en forma, por ejemplo, de una disolución o una suspensión estéril; (3) la aplicación tópica, por ejemplo en forma de una crema, ungüento, parche, almohadilla o pulverizado aplicado a la piel; (4) por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo en forma de un pesario, crema o espuma; (5) por vía sublingual; (6) por vía ocular; (7) por vía transdérmica; o (8) por vía nasal. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para la liberación inmediata, sostenida o controlada.

15 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan para la administración oral. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan para la administración oral en forma sólida.

20 Otra realización de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método para inhibir la citidina desaminasa, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa.

En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Otra realización de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método para tratar el cáncer, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite:

25 (i) una cantidad efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa; y

(ii) un fármaco sustrato de CDA, que incluye pero no se limita a cada realización expresa descrita en la presente.

En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

30 En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de cánceres hematológicos y cánceres sólidos. En otras realizaciones, el cáncer hematológico se selecciona de MDS y leucemia. En otras realizaciones, el cáncer sólido se selecciona de cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón no microcítico, y cáncer de mama. En otras realizaciones, la leucemia es la leucemia mieloide aguda (AML) o la leucemia mieloide crónica (CML).

35 Otra realización de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por la citidina desaminasa, que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa, a un sujeto que está sometido a un tratamiento con el fármaco sustrato de CDA. El fármaco sustrato de CDA incluye pero no se limita a cada realización expresa descrita en la presente.

40 En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Otra realización de la presente invención se refiere a un kit que comprende al menos una forma de dosificación unitaria, cuya forma de dosificación unitaria comprende un compuesto o composición farmacéutica de la invención.

45 El kit puede comprender además un recipiente y/o un empaque adecuado para la venta comercial. El recipiente puede estar en cualquier forma o forma convencional como se conoce en la técnica que está hecha de un material farmacéuticamente aceptable, tal como una caja de papel o cartón, una botella o frasco de vidrio o plástico, una bolsa resellable o un empaque blíster con dosificaciones individuales para presionar fuera del empaque de acuerdo con un programa terapéutico. Más de un recipiente puede usarse juntos en un empaque individual. Por ejemplo, las tabletas pueden estar contenidas en un empaque blíster que a su vez está contenido dentro de una caja.

Breve descripción de los dibujos

50 La figura 1 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por decitabina en el modelo de linfoma de ratón L1210.

La figura 2 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1a sobre la supervivencia inducida por decitabina en el modelo de linfoma de ratón L1210.

La figura 3 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 3a sobre la supervivencia inducida por decitabina en el modelo de linfoma de ratón L1210.

La figura 4 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por Ara-C (200 mg/kg) en el modelo L1210.

5 La figura 5 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por Ara-C (100 mg/kg) en el modelo L1210.

La figura 6 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por Ara-C (50 mg/kg) en el modelo L1210.

10 La figura 7 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por Ara-C (25 mg/kg) en el modelo L1210.

La figura 8 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la reducción del volumen tumoral inducida por gemcitabina en el modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780 en ratón.

La figura 9 es un diagrama ORTEP de la estructura cristalina del compuesto 1a.

La figura 10 es la estructura de RMN de ¹H de THU en D₂O.

15 La figura 11 es la estructura de RMN de ¹H de THU en D₂O, en presencia de ácido trifluoroacético, en diferentes momentos.

La figura 12 es la estructura de RMN de ¹H del compuesto 1a en D₂O.

La figura 13 es la estructura de RMN de ¹H del compuesto 1a en D₂O, en presencia de ácido trifluoroacético, en diferentes momentos.

20 Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona ciertos compuestos derivados de tetrahidouridina, composiciones farmacéuticas y kits que comprenden dichos compuestos para uso de acuerdo con la invención, y métodos para preparar y utilizar dichos compuestos. Los compuestos para uso, las composiciones, kits y los métodos de la invención pueden proporcionar ciertos beneficios. Por ejemplo, los compuestos y las composiciones de la invención pueden inhibir la actividad de la enzima CDA y/o potenciar la vida media, la biodisponibilidad y/o la eficacia de fármacos que son sustratos para la CDA. Además, los compuestos, las composiciones, kits y los métodos de la invención pueden mostrar una solubilidad acuosa, estabilidad química, niveles de absorción del fármaco, niveles de toxicidad, caducidad, reproducibilidad en la fabricación y la formulación, y eficacia terapéutica mejorados.

25

Definiciones

30 A lo largo de la descripción y de las reivindicaciones se aplican las siguientes definiciones.

Tal como se emplea en la descripción y en las reivindicaciones, las formas singulares “el/la” y “un/una” incluyen los referentes plurales, a menos que el contenido imponga claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a que una composición farmacéutica comprende “un compuesto” puede incluir dos o más compuestos.

35 Un “fármaco sustrato de CDA” se refiere a un fármaco que puede ser desaminado por la CDA. Los ejemplos no limitantes de un sustrato de CDA incluyen análogos de citidina, tales como decitabina, 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, troxacitabina, tezacitabina, 5'-fluoro-2'-desoxicitidina, y citoclor.

40 Una “cantidad efectiva” se refiere a la cantidad requerida para producir un efecto deseado (por ejemplo, potenciar la vida media, la biodisponibilidad o la eficacia de un fármaco sustrato de CDA, tratar el cáncer en un sujeto, inhibir la citidina desaminasa en un sujeto, o inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por la citidina desaminasa).

La “vida media” se refiere al periodo de tiempo requerido para que la concentración o la cantidad de un compuesto en un sujeto se reduzca exactamente a la mitad de una concentración o una cantidad dadas.

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

50 Los “excipientes farmacéuticamente aceptables” pueden significar cualquier sustancia, que en sí misma no es un agente terapéutico, que se emplea como portador, diluyente, ligante y/o vehículo para el transporte de un agente terapéutico a un sujeto, o que se añade a una composición farmacéutica para mejorar su manipulación o sus propiedades de conservación, o para permitir o facilitar la formación de un compuesto o de una composición en una

forma de dosificación unitaria para la administración. Los excipientes farmacéuticamente aceptables son muy conocidos en las técnicas farmacéuticas y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa (por ejemplo, 20ª ed., 2000), y Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C. (por ejemplo, 1ª, 2ª y 3ª eds., 1986, 1994 y 2000, respectivamente).

5 Tal como saben los expertos en la técnica, los excipientes pueden proporcionar una diversidad de funciones, y pueden describirse como agentes humectantes, agentes tamponantes, agentes suspensoros, agentes lubricantes, emulgentes, disgregantes, absorbentes, conservantes, tensioactivos, colorantes, aromatizantes y edulcorantes. Los 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 patata; (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 mantequilla 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 tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua apirógena; (17) disolución salina isotónica; (18) disolución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) disoluciones con pH tamponado; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias no tóxicas compatibles empleadas en formulaciones farmacéuticas.

20 Una "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal de ácido o de base de un compuesto de la invención, poseyendo dicha sal la actividad farmacológica deseada y no siendo biológicamente indeseable ni indeseable de otra forma. La sal puede formarse con ácidos que incluyen, sin limitación, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencensulfonato, bisulfato, butirato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanpropionato, digluconato, dodecilsulfato, etansulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etansulfonato, lactato, maleato, metansulfonato, 2-naftalensulfonato, nicotinato, oxalato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Los ejemplos de una sal de base incluyen, sin limitación, sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio y 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 que contienen nitrógeno básico pueden cuaternizarse con agentes que incluyen haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo, tales como sulfatos 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.

35 Una "forma de dosificación unitaria" se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como dosificación unitaria para sujetos humanos u otros sujetos animales. Cada forma de dosificación unitaria puede contener una cantidad predeterminada de una sustancia activa (por ejemplo, un compuesto o una composición de la invención, un fármaco sustrato de CDA y/u otro agente terapéutico) calculada para producir un efecto deseado.

"Isómeros" se refiere a compuestos que tienen el mismo número y tipo de átomos y, por tanto, el mismo peso molecular, pero se diferencian con respecto a la disposición o la configuración de los átomos.

"Estereoisómeros" se refiere a isómeros que se diferencian sólo en la disposición de los átomos en el espacio.

40 "Diastereoisómeros" se refiere a estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí.

"Enantiómeros" se refiere a estereoisómeros que son imágenes especulares entre sí no superponibles. Los enantiómeros incluyen isómeros "enantioméricamente puros" que comprenden sustancialmente un único enantiómero, por ejemplo, mayor o igual que 90%, 92%, 95%, 98%, o 99%, o igual a 100% de un único enantiómero.

45 "Epímeros" se refiere a estereoisómeros de un compuesto que tienen diferentes configuraciones sólo en uno de varios centros estereogénicos.

"Racémico" se refiere a una mezcla que contiene partes iguales de enantiómeros individuales.

"No racémico" se refiere a una mezcla que contiene partes desiguales de enantiómeros individuales. Una mezcla no racémica puede estar enriquecida en la configuración R o S e incluye, sin limitación, mezclas de enantiómeros R a S o de enantiómeros S a R de aproximadamente 50/50, aproximadamente 60/40 y aproximadamente 70/30.

50 "Opcional" u "opcionalmente" significa que el acontecimiento o la circunstancia descrita a continuación puede o no ocurrir, y que la descripción incluye casos en los que el acontecimiento o la circunstancia ocurre y casos en que no ocurre. Por ejemplo, un alquilo que esté "opcionalmente sustituido" incluye un alquilo que no está sustituido y un alquilo que está sustituido.

55 Un "sujeto" se refiere a una célula o a un tejido, in vitro o in vivo, un animal o un ser humano. Un sujeto animal o humano también puede denominarse un "paciente".

Un "animal" se refiere a un organismo vivo que tiene sensaciones y el poder de movimiento voluntario, y que

requiere para su existencia oxígeno y comida orgánica.

Un “mamífero” se refiere a un animal vertebrado de sangre caliente con pelo o pelaje. Los ejemplos incluyen, sin limitación, miembros de la especie humana, de especies equinas, porcinas, bovinas, murinas, caninas o felinas.

5 “Tratar”, en referencia a una enfermedad, un trastorno o una afección, se refiere a: (i) inhibir una enfermedad, un trastorno o una afección, por ejemplo, detener su desarrollo; y/o (ii) aliviar una enfermedad, un trastorno o una afección, por ejemplo, provocando la regresión de los síntomas clínicos.

“Prevenir”, en referencia a una enfermedad, un trastorno o una afección, se refiere a prevenir una enfermedad, un trastorno o una afección, por ejemplo, provocando que no se desarrollen los síntomas de la enfermedad, el trastorno o la afección.

10 “Cáncer” se refiere a un crecimiento anómalo de células que tienden a proliferar de una manera incontrolada y, en algunos casos, a metastatizar (propagarse). Los tipos de cánceres específicos incluyen, sin limitación, los cánceres identificados en la publicación No US 2006/0014949 y los siguientes:

- cardíacos: sarcoma (por ejemplo, angiosarcoma, fibrosarcoma, rabdomyosarcoma, liposarcoma y similares), mixoma, rabdomioma, fibroma, lipoma y teratoma;

15 - de pulmón: carcinoma broncogénico (por ejemplo, de células escamosas, microcítico indiferenciado, macrocítico indiferenciado, adenocarcinoma y similares), carcinoma alveolar (por ejemplo, bronquiolar), adenoma bronquial, sarcoma, linfoma, hamartoma condromatoso, mesotelioma;

20 - gastrointestinal: esófago (por ejemplo, carcinoma de células escamosas, adenocarcinoma, leiomyosarcoma, linfoma y similares), estómago (por ejemplo, carcinoma, linfoma, leiomyosarcoma y similares), páncreas (por ejemplo, adenocarcinoma ductal, insulinooma, glucagonoma, gastrinoma, tumores carcinoides, vipoma y similares), intestino delgado (por ejemplo, adenocarcinoma, linfoma, tumores carcinoides, sarcoma de Kaposi, leiomioma, hemangioma, lipoma, neurofibroma, fibroma y similares), intestino grueso (por ejemplo, adenocarcinoma, adenoma tubular, adenoma veloso, hamartoma, leiomioma y similares);

25 - tracto genitourinario: riñón (por ejemplo, adenocarcinoma, nefroblastoma de tumor de Wilm, linfoma, leucemia, y similares), vejiga y uretra (por ejemplo, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células de transición, adenocarcinoma y similares), próstata (por ejemplo, adenocarcinoma, sarcoma), testículo (por ejemplo, seminoma, teratoma, carcinoma embrionario, teratocarcinoma, coriocarcinoma, sarcoma, carcinoma de células intersticiales, fibroma, fibroadenoma, tumores adenomatoides, lipoma y similares);

30 - hígado: hepatoma (por ejemplo, carcinoma hepatocelular y similares), colangiocarcinoma, hepatoblastoma, angiosarcoma, adenoma hepatocelular, hemangioma;

- hueso: sarcoma osteogénico (por ejemplo, osteosarcoma y similares), fibrosarcoma, histiocitoma fibroso maligno, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (por ejemplo, sarcoma de células reticulares), mieloma múltiple, cordoma de tumor de células gigantes maligno, osteocronfoma (por ejemplo exostosis osteocartilaginosa), condroma benigno, condroblastoma, condromixofibroma, osteoma osteoide y tumores de células gigantes;

35 - sistema nervioso: cráneo (por ejemplo, osteoma, hemangioma, granuloma, xantoma, osteitis deformante y similares), meninges (por ejemplo, meningioma, meningiosarcoma, gliomatosis y similares), cerebro (por ejemplo, astrocitoma, meduloblastoma, glioma, ependimoma, germinoma [pinealoma], glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, schwannoma, retinoblastoma, tumores congénitos y similares), médula espinal (por ejemplo, neurofibroma, meningioma, glioma, sarcoma y similares);

40 - ginecológico: útero (por ejemplo, carcinoma endometrial y similares), cérvix (por ejemplo, carcinoma cervical, displasia cervical pretumoral y similares), ovario (por ejemplo, carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma inclasificado], tumores de células tecales-granulosas, tumores de células de Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno y similares), vulva (por ejemplo, carcinoma de células escamosas, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma y similares), vagina (por ejemplo, carcinoma de células claras, carcinoma de células escamosas, sarcoma botrioides [rabdomyosarcoma embrionario], de trompas de Falopio (carcinoma) y similares);

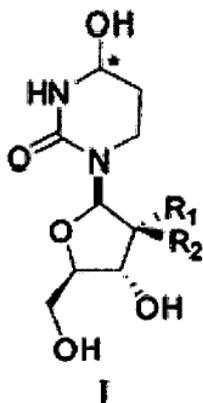
45 - hematológico: sangre (por ejemplo, leucemia mieloide [aguda y crónica], leucemia linfoblástica aguda, leucemia linfocítica crónica, enfermedades mieloproliferativas, mieloma múltiple, síndrome mielodisplásico y similares), enfermedad de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano;

50 - piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, sarcoma de Kaposi, lunares de nevi displásico, lipoma, angioma, dermatofibroma, queloides, psoriasis y similares; y

- glándulas adrenales: neuroblastoma.

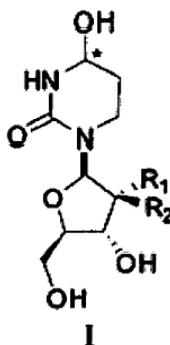
Un aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable

del mismo:



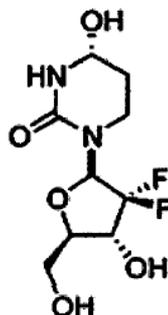
5 en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para su uso en un método para inhibir la citidina desaminasa (CDA).

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



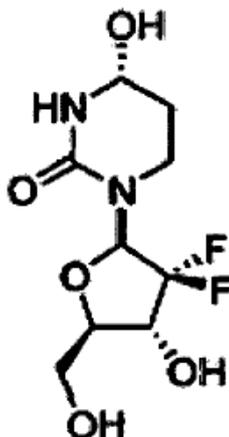
10 en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por CDA.

Un tercer aspecto de la presente invención se refiere al compuesto de Fórmula 1 para el uso como se define en la realización 1 o 2, en la que el compuesto está representado por el Compuesto 1a o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



15 Compuesto 1a.

Un cuarto aspecto de la presente invención se refiere al compuesto de Fórmula 1 para el uso como se define en la realización 1 o 2, en la que el compuesto está representado por el Compuesto 1a:



Compuesto 1a.

- 5 Un quinto aspecto de la invención se refiere a un kit que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las realizaciones 1-4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- Un sexto aspecto de la invención se refiere al kit de la realización 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA seleccionado del grupo que consiste en 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina y citocloro.
- 10 Un séptimo aspecto de la invención se refiere al kit de la realización 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA, en el que el fármaco sustrato de CDA no es decitabina.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de la realización 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA, en el que el fármaco sustrato de CDA es decitabina.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de realizaciones 6 o 7, en las que el fármaco sustrato de CDA es 5-azacitidina, gemcitabina o ara-C.
- 15 Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de una cualquiera de las realizaciones 6-9, en las que el compuesto de Fórmula I y el segundo compuesto están en recipientes separados.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un kit que comprende una forma de dosificación unitaria de un compuesto como se define en una cualquiera de las realizaciones 1-4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de cualquiera de las realizaciones 5-11, que comprende además información.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de cualquiera de las realizaciones 5-11, para uso en un método para inhibir CDA.
- 25 Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de una cualquiera de las realizaciones 5-11, para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por CDA.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere al kit de cualquiera de las realizaciones 6-10, para uso en un método para tratar el cáncer.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende:
- (i) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
- 30 (ii) un fármaco sustrato de CDA; y
- (iii) al menos un agente terapéutico adicional, tal como un fármaco sustrato de CDA o un agente quimioterapéutico.
- Un aspecto adicional de la invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en un método para tratar cáncer, que comprende:
- i) administrar a un mamífero que lo necesite un compuesto de Fórmula 1a o una sal farmacéuticamente aceptable

ii) administrar a un mamífero que lo necesite un fármaco sustrato de CDA; y

iii) administrar a un mamífero que lo necesite, al menos un agente terapéutico adicional.

5 Un aspecto adicional de la invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o (S), y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de pacientes que son tratados con un fármaco sustrato de CDA y al menos un agente terapéutico adicional.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptables:

10 en el que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para uso en el tratamiento de pacientes que son tratados con un fármaco sustrato de CDA y al menos un agente terapéutico adicional.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una forma de dosificación unitaria para tratar el cáncer, que comprende:

15 i) el compuesto de Fórmula I como se define en cualquiera de las realizaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA) seleccionado del grupo que consiste de 5-azacitidina, gemcitabina, arabinosilcitosina (citarabina, ara-C), tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina y citocloro.

Un aspecto adicional de la invención se refiere a una forma de dosificación unitaria para tratar cáncer, que comprende:

20 i) el compuesto de Fórmula I como se define en cualquiera de las realizaciones 1-4 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA);

en el que el fármaco sustrato de CDA no es decitabina.

25 Un aspecto adicional de la invención se refiere a una forma de dosificación unitaria para tratar el cáncer, que comprende:

i) el compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las realizaciones 1-4 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y

ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA);

en el que el fármaco sustrato de CDA es decitabina.

30 Un aspecto adicional de la invención se refiere al compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las realizaciones 1-4, en la que el compuesto y el fármaco sustrato de CDA se administran en una forma de dosificación unitaria individual.

35 El fármaco sustrato de CDA puede ser cualquier fármaco que pueda ser desamidado por CDA. Los ejemplos no limitantes de un sustrato de CDA incluyen citosina y análogos de citosina, tales como decitabina, 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, troxacitabina, tezacitabina, 5'-fluoro-2'-desoxicitidina, citocloro, y los compuestos descritos en la publicación US No. 2006/0014949. En algunas realizaciones, el fármaco sustrato de CDA es decitabina. En otras realizaciones, el fármaco sustrato de CDA es 5-azacitidina. En aún otras realizaciones, el fármaco sustrato de CDA es gemcitabina. En aún otras realizaciones, el fármaco sustrato de CDA es ara-C.

Ejemplos de agentes quimioterapéuticos incluyen, sin limitación:

40 - agentes alquilantes (por ejemplo, doxorubicina, ciclofosfamida, estramustina, carmustina, mitomicina, bleomicin y similares);

- antimetabolitos (por ejemplo, 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, nelarabina, fludarabina, metotrexato y similares);

- agentes platinizantes (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino y similares);

45 - inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, topotecano, irinotecano, etopósido y similares);

- agentes de tubulina (por ejemplo, paclitaxel, docetaxel, vinorelbina, vinblastina, vincristina, otros taxanos, epotilonas, y similares);

- inhibidores de la señalización (por ejemplo, inhibidores de quinasas, anticuerpos, inhibidores de farnesiltransferasa, y similares); y

- otros agentes quimioterapéuticos (por ejemplo, tamoxifeno, agentes antimetabólicos, tales como inhibidores de quinasas de tipo polo o inhibidores de aurora quinasas, y similares).

5 La "cantidad efectiva" del compuesto de la invención puede variar del 0,1% en peso a aproximadamente 100% en peso. En algunas realizaciones, la cantidad efectiva del compuesto es del 0,1% al 20% en p/p. En otras realizaciones, la cantidad efectiva es del 1-10% en p/p. En otras realizaciones, la cantidad efectiva es del 2-5% en p/p.

10 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse para la administración en una forma sólida o líquida, incluyendo las adaptadas para lo siguiente: (1) la administración oral, por ejemplo, bebidas (por ejemplo, disoluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos (por ejemplo, los dirigidos a la absorción bucal, sublingual y sistémica), comprimidos oblongos, píldoras grandes, polvos, gránulos, pastas para la aplicación a la lengua, cápsulas de gelatina dura, cápsulas de gelatina blanda, pulverizados bucales, trociscos, pastillas para chupar, gránulos, jarabes, suspensiones, elixires, líquidos, emulsiones y microemulsiones; (2) la administración parenteral, por ejemplo mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural en forma, por ejemplo, de una disolución o una suspensión estéril; (3) la aplicación tópica, por ejemplo en forma de una crema, ungüento, parche, almohadilla o pulverizado aplicado a la piel; (4) por vía intravaginal o intrarrectal, por ejemplo en forma de un pesario, crema o espuma; (5) por vía sublingual; (6) por vía ocular; (7) por vía transdérmica; o (8) por vía nasal. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse para la liberación inmediata, sostenida o controlada.

20 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan para la administración oral. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas se formulan para la administración oral en forma sólida.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden prepararse utilizando materiales y técnicas conocidos que pueden incluir, pero no se limitan a mezclar y/o combinar el compuesto de la invención con el excipiente farmacéuticamente aceptable y el agente o agentes terapéuticos opcionales.

25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos para uso en un método para inhibir la citidina desaminasa, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad efectiva de un compuesto o una composición farmacéutica de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa.

En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En realizaciones adicionales, el sujeto es un ser humano.

30 Otro aspecto de la presente invención se refiere a compuestos para uso en un método para tratar el cáncer,

En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona de cánceres hematológicos y cánceres sólidos. En otras realizaciones, el cáncer hematológico se selecciona de MDS y leucemia. En otras realizaciones, el cáncer sólido se selecciona de cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón no microcítico, y cáncer de mama. En otras realizaciones, la leucemia es la leucemia mieloide aguda (AML) o la leucemia mieloide crónica (CML).

35 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por la citidina desaminasa, que comprende administrar una cantidad efectiva de un compuesto o de una composición farmacéutica de la invención según se describe en la presente, que incluye pero no se limita a cada realización expresa, a un sujeto que está sometido a un tratamiento con el fármaco sustrato de CDA. El fármaco sustrato de CDA incluye pero no se limita a cada realización expresa descrita en la presente.

En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En otras realizaciones, el sujeto es un ser humano.

45 La administración del compuesto o de la composición de la invención puede realizarse a través de cualquier vía aceptada conocida por los expertos en la técnica. por ejemplo por vía oral, parenteral, mediante un pulverizado para inhalación, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal, intraocular, intrapulmonar, o mediante un depósito implantado. La expresión "por vía parenteral" incluye, sin limitación, por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intraesternal, intracraneal, mediante inyección intraósea, y mediante técnicas de infusión.

Puede utilizarse cualquier régimen de administración conocido por los expertos en la técnica para regular el ritmo y la secuencia de la administración del fármaco, y puede repetirse si es necesario para realizar un tratamiento en los métodos de la invención. Por ejemplo, el compuesto o la composición de la invención pueden administrarse 1, 2, 3 o 4 veces diarias, en una única dosis, en múltiples dosis discretas o en una infusión continua.

50 El compuesto o la composición de la invención pueden administrarse antes, sustancialmente al mismo tiempo o después de la administración del fármaco sustrato de CDA. El régimen de administración puede incluir un pretratamiento y/o coadministración con al menos otro agente terapéutico. En este caso, el compuesto o la

composición de la invención, el fármaco sustrato de CDA y al menos otro agente terapéutico pueden administrarse de modo simultáneo, por separado o de modo secuencial.

Los ejemplos de regímenes de administración incluyen, sin limitación:

5 - la administración de cada compuesto, composición, fármaco sustrato de CDA y/o agente terapéutico de una manera secuencial; y

- la coadministración de cada compuesto, composición, fármaco sustrato de CDA y/o agente terapéutico de una manera sustancialmente simultánea (por ejemplo, en una forma de dosificación unitaria individual) o en múltiples formas de dosificación unitaria separadas para cada compuesto, composición, fármaco sustrato de CDA y/o agente terapéutico.

10 Los expertos en la técnica apreciarán que la “cantidad efectiva” o “nivel de dosis” dependerá de diversos factores, tales como la vía de administración concreta, el régimen de administración, el compuesto y la composición seleccionados, y la enfermedad concreta y el paciente concreto que se está tratando. Por ejemplo, el nivel de dosis apropiado puede variar dependiendo de la actividad, la velocidad de excreción y la posible toxicidad del compuesto o de la composición específicos utilizados; la edad, el peso corporal, la salud general, el género y la dieta del paciente
15 que se está tratando; la frecuencia de la administración; el otro u otros agentes terapéuticos que se están coadministrando; y el tipo y la gravedad de la enfermedad.

La presente invención contempla unos niveles de dosis del orden de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10.000 mg/kg/d. En algunas realizaciones, el nivel de dosis es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1.000 mg/kg/d. En otras realizaciones, el nivel de dosis es de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg/kg/d. En otras realizaciones, el nivel de dosis es de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/kg/d. En otras realizaciones, el nivel de dosis es de aproximadamente 1 a aproximadamente 25 mg/kg/d. Los niveles de dosis apropiados, la vía de administración, y el régimen de administración pueden ser determinados por los expertos en la técnica utilizando técnicas conocidas.
20

25 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit que comprende al menos una forma de dosificación unitaria, cuya forma de dosificación unitaria comprende un compuesto o composición farmacéutica de la invención.

El kit puede comprender además un recipiente y/o un empaque adecuado para la venta comercial. El recipiente puede estar en cualquier forma o forma convencional como se conoce en la técnica que está hecha de un material farmacéuticamente aceptable, tal como una caja de papel o de cartón, una botella o frasco de vidrio o de plástico, una bolsa resellable o un empaque blíster con dosificaciones individuales para presionar fuera del empaque de acuerdo con un programa terapéutico. Más de un recipiente pueden usarse juntos en un solo empaque. Por ejemplo, las tabletas pueden estar contenidas en un empaque blíster que a su vez está contenido dentro de una caja.
30

El kit puede comprender además información. La información puede proporcionarse en un medio legible. El medio legible puede comprender una etiqueta. La información puede dirigirse a un médico, farmacéutico o paciente. La información puede indicar que la forma de dosificación unitaria puede causar uno o más efectos adversos. La información puede comprender instrucciones para administrar la forma de dosificación unitaria, tal como de una manera descrita en la presente memoria. Estas instrucciones pueden proporcionarse de diversas maneras. Por ejemplo, la información puede incluir una tabla que incluya una variedad de pesos o intervalos de peso y dosificaciones apropiadas para cada peso o intervalo de peso.
35

La información puede estar asociada con el recipiente, por ejemplo, estando: escrita en una etiqueta (por ejemplo, la etiqueta de prescripción o una etiqueta separada) fijada de manera adhesiva a un recipiente; Incluido dentro de un recipiente como un inserto de paquete escrito; aplicada directamente al recipiente tal como se imprime en la pared de una caja o empaque blíster; por ejemplo como una tarjeta de instrucción colocada en el cuello de una botella por medio de una cuerda, cordón u otra línea, un cordel o un dispositivo del tipo de correa.
40

45 Será evidente para los expertos en la técnica que las realizaciones específicas de la presente invención pueden dirigirse a uno, a alguno o a todos los aspectos indicados anteriormente, así como a otros aspectos, y pueden incluir una, alguna o todas las realizaciones indicadas anteriormente y a continuación, así como a otras realizaciones.

En otros puntos que no sean los ejemplos de trabajo, o cuando se indique de otra manera, debe entenderse que todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc. utilizados en la descripción y en las reivindicaciones, están modificados por el término “aproximadamente”. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, dichos números son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que quieren obtenerse mediante la presente invención. Como mínimo, y no como un intento de limitar la aplicación de la doctrina de los equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe considerarse a la luz del número de dígitos significativos y de las técnicas de redondeo habituales.
50

55 Aunque los parámetros e intervalos numéricos que indican el alcance amplio de la invención son aproximaciones, los valores numéricos indicados en los ejemplos de trabajo se indican con la mayor precisión posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene de forma inherente ciertos errores que surgen siempre de la desviación estándar

que existe en sus respectivas mediciones de ensayo.

Ejemplos

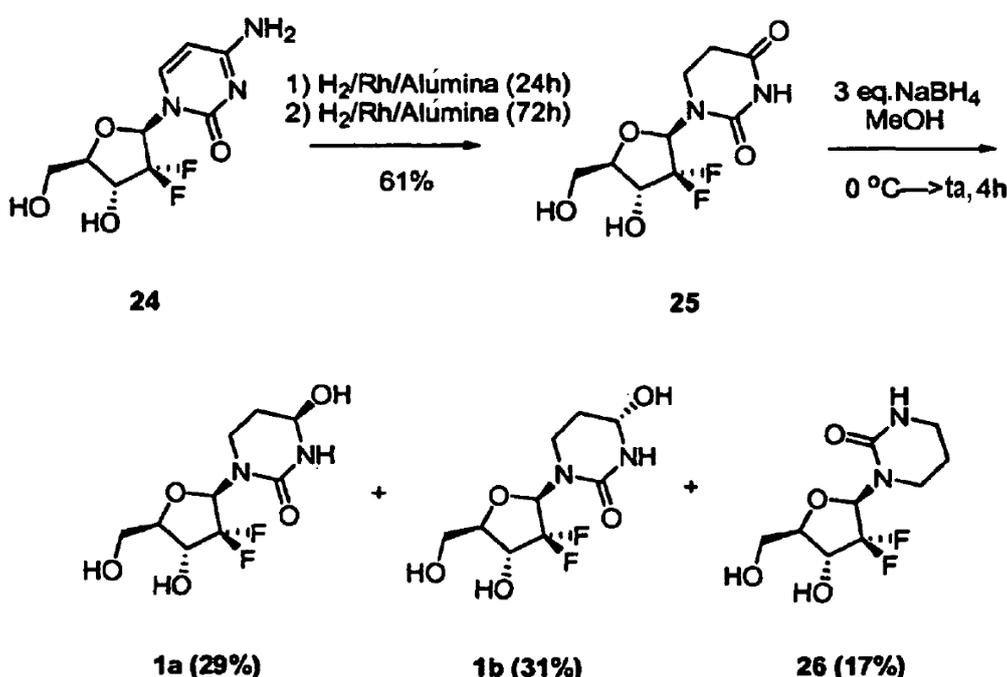
Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la presente invención y no pretenden ser limitaciones.

Síntesis de compuestos

- 5 Los compuestos usados en la invención pueden prepararse según se describe en la presente y/o mediante la aplicación o la adaptación de métodos conocidos. Los expertos en la técnica apreciarán que uno o más de los reactivos, etapas y/o condiciones descritos en los esquemas de reacción pueden requerir un ajuste para alojar otros sustituyentes en R₁ y R₂.

Ejemplo 1:

- 10 Esquema 1. Síntesis de derivados de difluorotetrahidouridina (compuestos 1a y 1b)



- 15 2',2'-difluorodihidouridina (DFDHU, 25). Se disuelve gemcitabina 24 (3,0 g, 11,4 mmol) en H₂O (50 ml). Se añade rodio sobre alúmina (900 mg) a la disolución y la mezcla se hidrogena durante la noche a 275,79 kPa. Al día siguiente la mezcla se filtra, el agua se retira al vacío y el sólido pegajoso resultante se disuelve de nuevo en H₂O. Se añade rodio sobre alúmina a la disolución (900 mg) y el material se hidrogena durante la noche a 275,79 kPa. El rodio se retira mediante filtración y el filtrado resultante se concentra para producir una mezcla bruta de difluorodihidouridina (5, DFDHU) y aproximadamente 10% de difluorotetrahidouridina 1a y 1b (DFTHU). La mezcla bruta se purifica en una HPLC en fase inversa (fase inversa C₁₈ a CH₃CN al 5%/H₂O) para producir 1,84 g (61%, 14,5 minutos) de DFDHU 25 y 175 mg (17%, 1a, 9,5 minutos, y 1b, 13,9 minutos) de los epímeros de DFTHU. La configuración absoluta de C-4 para el compuesto 1a se determina mediante difracción de rayos X de un solo cristal, y es coherente con los precedentes bibliográficos sobre la estructura cristalina de la citidina desaminasa complejada con un único epímero de tetrahidouridina. RMN de ¹H de 5: 6,00 (dd, 1H), 4,20 (q, 1H), 3,92-3,72 (m, 3H), 3,64 (m, 1H), 3,43 (m, 1H), 2,68 (t, 2H).

- 25 2',2'-difluorotetrahidouridina (DFTHU, 1a y 1b). Se disuelve DFDHU 25 (1,2 g, 4,9 mmol) en 30 ml de MeOH y se enfría hasta 0 °C. Se añade borohidruro de sodio (540 mg, 14,6 mmol) de forma discontinua a la disolución, y la reacción se calienta lentamente hasta la temperatura ambiente. Después de 4 horas de agitación a temperatura ambiente (ta), el MeOH se retira al vacío y el residuo se disuelve en 15 ml de H₂O. La disolución se neutraliza con HCl 2,0 N hasta pH 7. La disolución entonces se purifica a través de una HPLC preparativa (fase inversa C₁₈ a CH₃CN al 5%/H₂O). Las sales salen a los 5,2 minutos. Un pico es aparente a los 7,5 minutos (12%). Un epímero de la DFTHU 1a sale a los 9,5 minutos (350, 29%). El otro epímero 1b sale a los 14,3 minutos (370 mg, 31%). El producto desoxigenado 26 eluye a los 17 minutos (200 mg, 17%).

- 30 1a: RMN de ¹H (D₂O, 9,5 minutos): 6,03 (dd, 1H), 5,04 (sa, 1H), 4,20 (q, 1H), 3,90-3,71 (m, 3H), 3,53 (dt, 1H), 3,30

(dt, 1H), 1,92-1,75 (m, 2H). Anal. calc. para $C_9H_{14}N_2O_5F_2$ (0,15 H_2O): C, 39,90; H, 5,32; N, 10,34. Encontrado: C, 39,87; H, 5,41; N, 10,26.

5 1b: RMN de 1H (D_2O , 14,3 minutos): 5,97 (dd, 1H), 5,03 (ta, 1H), 4,16 (q, 1H), 3,91-3,68 (m, 3H), 3,41 (dt, 1H), 3,20 (dt, 1H), 1,95-1,80 (m, 2H). Anal. calc. para $C_9H_{14}N_2O_5F_2$ (0,60 H_2O): C, 38,74; H, 5,49; N, 10,04. Encontrado: C, 38,55; H, 5,36; N, 9,87. 2b: RMN de 1H (D_2O) δ 5,99 (dd, J = 15 Hz, 6 Hz, 1H), 4,17 (m, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,42 (m, 1H), 3,21 (t, J = 6 Hz, 2H), 3,18 (m, 1H), 1,86 (m, 2H).

Ejemplo 4:

Actividad enzimática de CDA

10 Puede demostrarse la capacidad de los compuestos para uso en la invención para inhibir la actividad enzimática de CDA utilizando el siguiente método de ensayo.

15 El procedimiento para determinar la actividad enzimática de CDA se basa en metodologías publicadas (por ejemplo, Cacciamani, T. et al., Arch. Biochem. Biophys., 1991, 290, 285-292; Cohen R. et al., J. Biol. Chem., 1971, 246, 7566-7568; Vincenzetti S. et al., Protein Expr. Purif., 1996, 8, 247-253). El ensayo sigue el cambio en la absorbancia a 286 nm de la desaminación catalizada por CDA de la citidina para formar uridina. La reacción se realiza en tampón fosfato de potasio (pH 7,4, 20 mM, que contiene DTT 1 mM) en un volumen total de 200 μ l en un formato de placa de 96 pocillos. La mezcla de reacción final contiene citidina (50 μ M) y CDA humana recombinante purificada. La enzima purificada se diluye para producir un cambio en la absorbancia de aproximadamente 2 unidades de miliabsorbancia/minuto. Las mediciones en la línea de base del cambio en la absorbancia a lo largo del tiempo se realizan antes de la adición de CDA para asegurarse de que no exista cambio en la absorbancia en ausencia de CDA. Después de la adición de CDA se controla el cambio en la absorbancia durante 20-30 minutos. Cuando están presentes inhibidores potenciales, se ensayan ocho concentraciones de cada en el intervalo de 0,1 nM-1 mM para obtener valores de CI_{50} . La pendiente del cambio de absorbancia a lo largo del tiempo para muestras que contienen citidina y CDA pero sin inhibidor (totales) se normaliza a 100%. La actividad enzimática de CDA que queda en presencia de un compuesto expresada como porcentaje de actividad total se resta del 100% para obtener el porcentaje de inhibición a concentraciones variables de compuesto.

25 Utilizando el ensayo descrito anteriormente se evalúa la potencia inhibidora de los compuestos 1, 1a y 1b. Los valores de CI_{50} de los compuestos se indican en la tabla 1. "1a" y "1b" indican estereoisómeros individuales; "1" indica una mezcla epimérica.

Tabla 1. Potencia inhibidora de los compuestos de ensayo

Compuesto	CI_{50} (nM)
1a	400 \pm 60
1b	5000 \pm 1000
1	400 \pm 60

30 Potenciación de la eficacia de fármacos sustrato de CDA

Puede demostrarse la capacidad de los compuestos de la invención para potenciar la eficacia de fármacos sustratos de CDA en el modelo de linfoma de ratón L1210.

Ejemplo 5:

35 El efecto del inhibidor de CDA, compuesto 1, sobre la supervivencia inducida por decitabina (0,1 mg/kg) en el modelo de supervivencia de L1210

Métodos

Treinta ratones hembra CD2F1 de 6-7 semanas se separaron aleatoriamente en 6 grupos:

Grupo No.	
1	L1210 i.v. y vehículo + vehículo p.o. x 2 durante 4 días
2	L1210 i.v. y vehículo + compuesto 1 10 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
3	L1210 i.v. y vehículo + decitabina 0,1 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días

ES 2 616 566 T3

4	L1210 i.v. y compuesto 1 1 mg/kg + decitabina 0,1 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
5	L1210 i.v. y compuesto 1 10 mg/kg + decitabina 0,1 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
6	L1210 i.v. y vehículo + decitabina 0,1 mg/kg i.p. x 2 durante 4 días

5 Inyección intravenosa (i.v.) de L1210: Antes del experimento, se realizan al menos 3 pases de células L1210 en ratones hembra CD2F1. Los ratones reciben inyecciones intraperitoneales (i.p.) con líquido de ascitis de L1210 una semana antes del sacrificio con CO₂. Cada ratón se coloca sobre la espalda, la superficie de la barriga se limpia con toallitas de alcohol y se realiza una pequeña incisión en su cavidad peritoneal. Se inyectan en la cavidad peritoneal 2 ml de albúmina de suero bovino (BSA) al 2,1% enfriada en hielo, en disolución salina. El fluido se extrae de la cavidad, se traslada con una jeringa de 3 cc 18G a un tubo estéril limpio y se mantiene en hielo. El fluido se diluye 1:10 en BSA al 2,1% en disolución salina y se añade una gota de zap-o-globina a 2 ml del líquido de ascitis diluido. El líquido de ascitis diluido (diluido de nuevo 1:10) se cuenta en un hematocitómetro y se calcula el número de células/ml. Una disolución madre de líquido de ascitis en disolución BSA se diluye hasta 1×10^4 células/0,1 ml. Los ratones se inyectan con 0,1 ml de la disolución de células con una aguja 27G.

10 Preparación de la disolución de dosis: Cuando resulte apropiado, los ratones se dosifican con un vehículo o con el compuesto 1 p.o. 30 minutos antes de la decitabina.

15 El compuesto 1 se prepara a 1 mg/ml en disolución salina con tampón fosfato (PBS) y después se diluye hasta 0,1 mg/ml en PBS para la dosis menor.

La decitabina se prepara como una disolución madre 1 mg/ml en PBS y se diluye de forma apropiada para lograr una disolución de dosificación de 0,01 y 0,02 mg/ml.

20 Esquema de dosificación: La decitabina se prepara fresca dos veces al día. Todas las disoluciones de dosis se conservan en hielo durante la dosificación. Los ratones se dosifican i.p. o por vía oral (p.o.) dos veces diarias (con un intervalo de 8 horas) durante 4 días consecutivos. El esquema de dosificación final y las dosis totales de decitabina y compuesto 1 se indican en la tabla 2.

Tabla 2. Esquema de dosificación

Grupo No.	Fármaco	Dosis de decitabina (vía administrada)	Dosis acumulada de decitabina	Dosis del compuesto 1	Dosis acumulada del compuesto 1
1	Vehículo	Vehículo	0 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
2	Compuesto 1	Vehículo	0 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg
3	Decitabina	0,1 mg/kg p.o.	0,8 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
4	Decitabina/compuesto 1	0,1 mg/kg p.o.	0,8 mg/kg	1 mg/kg	40 mg/kg
5	Decitabina/compuesto 1	0,1 mg/kg p.o.	0,8 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg
6	Decitabina	0,1 mg/kg i.p.	0,8 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg

25 Supervivencia y autopsia: Los ratones se observan para la supervivencia y se pesan a diario (de lunes a viernes) durante la duración del estudio (30 días). Los ratones muertos se someten a una autopsia y se observa la presencia de tumores en los órganos. Las muertes por tumor se determinan mediante pesos del hígado mayores que 1,6 g y pesos del bazo mayores que 150 mg según Covey et al., Eur. J. Cancer Oncol., 1985.

30 Los ratones dosificados con decitabina o decitabina más compuesto 1 viven más tiempo que los ratones dosificados con control de vehículo o sólo compuesto 1 (figura 1 y tabla 3; $p < 0,05$). Se observa una tendencia a una respuesta a la dosis con el compuesto 1 en combinación con decitabina.

La decitabina (0,1 mg/kg) p.o. es menos efectiva que decitabina 0,1 mg/kg i.p., pero no es significativamente diferente (tabla 3; figura 1, $p = 0,052$).

35 La coadministración del compuesto 1 10 mg/kg con decitabina 0,1 mg/kg p.o. potencia significativamente la supervivencia comparado con decitabina 0,1 mg/kg p.o. sola ($p = 0,0031$) y decitabina 0,1 mg/kg i.p. ($p = 0,016$; tabla 3, figura 1). La coadministración del compuesto 1 1 mg/kg con decitabina 0,1 mg/kg p.o. potencia significativamente la supervivencia comparado con decitabina 0,1 mg/kg p.o. sola ($p = 0,0031$), pero no comparado

con decitabina 0,1 mg/kg i.p. ($p = 0,13$; tabla 3, figura 1).

La tabla 3 lista la supervivencia media de cada grupo de tratamiento y el porcentaje de ATV (aumento en el tiempo de vida) comparado con el grupo con vehículo. Todos los grupos tratados viven significativamente más que los controles con vehículo y los grupos con inhibidor de CDA solo ($p < 0,05$).

5 La tabla 3 lista los pesos de los hígados y de los bazo de los ratones tras la autopsia. Todos los ratones, excepto un ratón con decitabina 0,1 mg/kg i.p., perecieron por una muerte relacionada con la "carga tumoral", según indican unos pesos del hígado mayores que 1 g y unos pesos del bazo mayores que 80 mg (Covey et al., supra). Los pesos del hígado y del bazo de 3 ratones control fueron de $0,97 \pm 0,08$ g, y $0,08 \pm 0,02$ g. Se registran las observaciones generales acerca del aspecto global de las cavidades peritoneal y torácica.

10

Tabla 3. Efecto de la decitabina y del compuesto 1 sobre la supervivencia y los pesos del hígado y del bazo en el modelo de supervivencia IV L1210

Grupo No.	Células L1210	Supervivencia media (días) \pm DE	*% ATV (aumento en el tiempo de vida)	Peso medio del hígado (g) \pm DE	Peso medio del bazo (g) \pm DE
1	1×10^4	$7,40 \pm 0,55$	n/a	$1,81 \pm 0,13$	$0,31 \pm 0,05$
2	1×10^4	$7,40 \pm 0,55$	0,00	$1,99 \pm 0,22$	$0,39 \pm 0,07$
3	1×10^4	$10,6 \pm 0,56$	43,24	$2,05 \pm 0,17$	$0,33 \pm 0,06$
4	1×10^4	$12,8 \pm 0,45$	72,97	$2,03 \pm 0,08$	$0,29 \pm 0,03$
5	1×10^4	$14,2 \pm 0,45$	91,89	$2,02 \pm 0,27$	$0,29 \pm 0,07$

15

* % ATV = $\frac{\text{supervivencia media del experimento (días)} - \text{supervivencia media del control (días)}}{\text{supervivencia media del control (días)}} \times 100$

La figura 1 es una gráfica que muestra el efecto del compuesto 1 sobre la supervivencia inducida por decitabina (DAC) en el modelo de linfoma de ratón L1210.

Ejemplo 6:

20

El efecto del inhibidor de CDA, compuesto 1a, sobre la supervivencia inducida por decitabina (0,1 mg/kg) en el modelo de supervivencia L1210

El compuesto 1a se evalúa en el modelo L1210 siguiendo el protocolo del ejemplo 5. Los ratones dosificados con decitabina ("DAC") y con DAC más el compuesto 1a viven más tiempo que los que reciben control con vehículo y sólo inhibidor de CDA (figura 2; $p < 0,05$). En combinación con DAC, el compuesto 1a 10 mg/kg es más efectiva para extender la supervivencia que las dosis menores.

25

Ejemplo 8:

El efecto del inhibidor de CDA, compuesto 1, sobre la supervivencia inducida por citarabina (ara-C) en el modelo de supervivencia L1210

Cincuenta ratones hembra CD2F1 de 6-7 semanas se separaron aleatoriamente en 10 grupos (N = 5 ratones/grupo):

Grupo No.	
1	L1210 i.v. y veh. + veh. (PBS) p.o. x 2 durante 4 días
2	L1210 i.v. y veh. + Ara-C 200 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
3	L1210 i.v. y veh. + Ara-C 100 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
4	L1210 i.v. y veh. + Ara-C 50 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
5	L1210 i.v. y veh. + Ara-C 25 mg/kg p.o. x 2 durante 4 días
6	L1210 i.v. y comp. 1 10 mg/kg + Ara-C 200 mg/kg x 2 durante 4 días

ES 2 616 566 T3

7	L1210 i.v. y comp. 1 10 mg/kg + Ara-C 100 mg/kg x 2 durante 4 días
8	L1210 i.v. y comp. 1 10 mg/kg + Ara-C 50 mg/kg x 2 durante 4 días
9	L1210 i.v. y comp. 1 10 mg/kg + Ara-C 25 mg/kg x 2 durante 4 días
10	L1210 i.v. y comp. 1 10 mg/kg + veh. p.o. x 2 durante 4 días

5 Inyección IV de L1210: Ratones hembra CD2F1 se inyectaron i.p. con líquido de ascitis de L1210 una semana antes del sacrificio (CO₂). Se realizan al menos 3 pases de células L1210 in vivo antes del experimento. El ratón se coloca sobre la espalda, la superficie de la barriga se limpia con toallitas de alcohol y se realiza una pequeña incisión en su cavidad peritoneal. Se inyectan en la cavidad 2 ml de BSA al 2,1% enfiada en hielo, en disolución salina, y después se extrae el fluido, se traslada con una jeringa de 3 cc 18G a un tubo estéril limpio y se mantiene en hielo. El fluido se diluye 1:10 en BSA al 2,1% en disolución salina y se añade una gota de zap-o-globina a 2 ml del líquido de ascitis diluido. El líquido de ascitis diluido (diluido de nuevo 1:10) se cuenta en un hematocitómetro y se calcula el número de células/ml. Una disolución madre de líquido de ascitis en disolución BSA se diluye hasta 1 x 10⁴ células/0,1 ml. 10 Los ratones se inyectan con 0,1 ml de la disolución de células con una aguja 27G. Todas las inyecciones i.v. se realizan en aproximadamente 50 minutos.

Preparación de la disolución de dosis: Cuando resulte apropiado, los ratones se dosifican con un vehículo o con el compuesto 1 p.o. 30 minutos antes de Ara-C. El compuesto 1 se prepara a 1 mg/ml en PBS y Ara-C se prepara a disolución madre 20 mg/ml en PBS y después se diluyen de forma apropiada para las dosis menores.

15 Esquema de dosificación: El compuesto 1 se prepara al comienzo del estudio y se conserva 4 °C. Ara-C se prepara fresco dos veces al día. Todas las disoluciones se conservan en hielo durante la dosificación. Los ratones se dosifican por vía oral dos veces diarias (con un intervalo de 8 horas) durante 4 días consecutivos. El esquema de dosificación final y las dosis totales de Ara-C y compuesto 1 se indican en la tabla 4.

Tabla 4. Esquema de dosificación

Grupo No.	Fármaco	Dosis de Ara-C (vía administrada)	Dosis acumulada de Ara-C	Dosis del compuesto 1	Dosis acumulada del compuesto 1
1	Vehículo	Vehículo	0 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
2	Compuesto 1	Vehículo	0 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg
3	Ara-C	200 mg/kg p.o	800 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
4	Ara-C	100 mg/kg p.o	400 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
5	Ara-C	50 mg/kg p.o	200 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
6	Ara-C	25 mg/kg p.o.	100 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
7	Ara-C	200 mg/kg p.o	800 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg
8	Ara-C	100 mg/kg p.o	400 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg
9	Ara-C	50 mg/kg p.o	200 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg
10	Ara-C	25 mg/kg p.o.	100 mg/kg	10 mg/kg	40 mg/kg

20 Supervivencia y autopsia: Los ratones se observan para la supervivencia y se pesan a diario (de lunes a viernes) durante la duración del estudio (45 días). Los ratones muertos se someten a una autopsia y se observa la presencia de tumores en los órganos. Las muertes por tumor se determinan mediante pesos del hígado mayores que 1,6 g y pesos del bazo mayores que 150 mg según Covey et al., supra.

25 Los ratones dosificados sólo con Ara-C (50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg) y con Ara-C más compuesto 1 viven tiempo que los ratones dosificados con control de vehículo e inhibidor de CDA solo (figuras 4-7, p<0,05). El compuesto 1 solo no tiene efecto sobre la supervivencia comparado con los controles de vehículo (figura 4).

Ara-C 25 mg/kg solo no tiene efecto en la extensión de la supervivencia comparado con ratones tratados con vehículo y compuesto 1 10 mg/kg. Ara-C 50, 100 y 200 mg/kg aumenta significativamente la supervivencia (días) de

una manera dependiente de la dosis, comparado con los ratones en el grupo control. La coadministración de compuesto 1 10 mg/kg con Ara-C p.o. aumenta significativamente la supervivencia, comparado con el tiempo de supervivencia de ratones tratados con la misma dosis de Ara-C solo (figuras 4-7).

Ejemplo 9:

- 5 Efecto del compuesto 1 sobre la reducción del volumen tumoral inducida por gemcitabina en el modelo de xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780 en ratón

10 Se ensaya la eficacia oral de la gemcitabina en combinación con el compuesto 1 en el xenoinjerto de cáncer de ovario humano A2780. Ratones hembra NCr nu/nu de 5-6 semanas se implantan por vía subcutánea con fragmentos tumorales de 30 a 60 mg. En el día 11, cuando los tumores tienen aproximadamente 200 mm³, el tratamiento comienza como se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Esquema de dosificación

Grupos	Tratamiento	Programa de gemcitabina	Programa del compuesto 1
1	Vehículo (disolución salina)	p.o.; q3dx4	
2	Compuesto 1		p.o. 10 mg/kg; q3dx4
3	Gemcitabina	p.o. 10 mg/kg; q3dx4	
4	Gemcitabina/Compuesto 1*	p.o. 10 mg/kg; q3dx4	p.o. 10 mg/kg; q3dx4
5	Gemcitabina	p.o. 30 mg/kg; q3dx4	
6	Gemcitabina/Compuesto 1*	p.o. 30 mg/kg; q3dx4	p.o. 10 mg/kg; q3dx4

* El compuesto 1 se dosifica aproximadamente 30 min antes de la gemcitabina.

15 El volumen tumoral se sigue a lo largo del experimento. El volumen tumoral se mide tres veces a la semana. La carga tumoral (mg = mm³) se calcula a partir de mediciones con calibrador mediante la fórmula para el volumen de un elipsoide prolatado (L x A²)/2, siendo L y A las respectivas mediciones de longitud ortogonal y anchura (mm).

20 Los principales criterios de valoración utilizados para evaluar la eficacia en el modelo de A2780 son las regresiones tumorales completa y parcial, el retraso en el crecimiento tumoral, y el número de supervivientes exentos de tumores al final del estudio. Una respuesta completa (RC) se define como una disminución en el tamaño del tumor hasta un tamaño indetectable (<50 mm³). Una respuesta parcial (RP) se define como una disminución >50% en la masa tumoral desde un tamaño tumoral de partida. Un tumor que alcanza una RC o RP durante el estudio pero que comienza a crecer de nuevo sigue considerándose como una RC o RP. La supervivencia exenta de tumores (SET) al final del estudio se define como sin tumores detectables (<50 mm³) al final del estudio (día 74). El retraso en el crecimiento tumoral (RCT) se define en este experimento como la mediana del número de días hasta alcanzar 750 mm³ para el grupo de tratamiento comparado con el grupo control.

25 La administración oral de gemcitabina 10 mg/kg p.o. q3dx4 no es muy efectiva en este modelo, con un retraso en el crecimiento tumoral de 6,1 días (no es estadísticamente significativo), sin RC, RP ni supervivientes exentos de tumores al final del experimento en el día 74. Cuando se dosifica gemcitabina 10 mg/kg en combinación con el compuesto 1 se observa un retraso significativo en el crecimiento tumoral comparado con esta misma dosis de gemcitabina sola (19,2 días; p<0,05 comparado con gemcitabina sola), con 75% de tumores que muestran RC, pero sin SET al final del experimento. En la figura 8 (volumen tumoral frente a tiempo (días) después del inicio del tratamiento), resulta evidente que el compuesto 1 por sí solo no tiene efecto sobre el crecimiento tumoral, mientras que el tratamiento de combinación con el compuesto 1 y gemcitabina es más efectiva que la gemcitabina por sí sola.

35 La administración oral de gemcitabina 30 mg/kg p.o. q3dx4 es efectiva para producir un retraso en el crecimiento tumoral estadísticamente significativo de 22 días con 63% de RC pero sin SET. La quimioterapia de combinación con gemcitabina (30 mg/kg P.O.) más compuesto 1 produce un retraso en el crecimiento tumoral estadísticamente significativo de >57 días, y 100% de RC y una incidencia del 50% de SET en el día 74 de fin del experimento.

Tabla 6. Efecto del tratamiento de combinación de gemcitabina y compuesto 1 sobre el retraso en el crecimiento tumoral en el modelo de cáncer de ovario A2780

Tratamiento	RCT	Valor p
Control sin tratar	NA	

Compuesto 1 10 mg/kg	0,4 días	
Gemcitabina 10 mg/kg	6,1 días	
Gemcitabina 10 mg/kg + compuesto 1	19,2 días	<0,05 comparado con sólo gemcitabina 10 mg/kg
Gemcitabina 30 mg/kg	22 días	<0,05 comparado con el control sin tratar
Gemcitabina 30 mg/kg + compuesto 1	>57 días	<0,05 comparado con sólo gemcitabina 30 mg/kg

Ejemplo 10:

Caracterización en estado sólido del compuesto 1a

Recogida de datos

- 5 Un prisma de cristal incoloro del compuesto 1a ($F_2O_5N_2C_9H_{14}$) que tiene una dimensionas aproximadas de 0,48 x 0,43 x 0,32 mm se monta en un asa. Todas las mediciones se realizan en un detector de áreas de formación de imágenes de placas Rigaku RAXIS SPIDER con radiación Cu-K α monocromática de grafito.

La indexación se realiza a partir de 5 oscilaciones que se exponen durante 60 segundos. La distancia del cristal al detector es de 127,40 mm.

- 10 Las constantes celulares y una matriz de orientación para la recogida de datos se corresponden con una célula trigonal primitiva (grupo de Laue: -3m) con dimensiones:

$$a = 9,78961(18) \text{ \AA}$$

$$c = 20,4588(7) \text{ \AA}$$

$$V = 1698,02(7) \text{ \AA}^3$$

- 15 Para $Z = 6$ y $F.W. = 268,22$, la densidad calculada es de $1,574 \text{ g/cm}^3$. Basándose en las ausencias sistemáticas de:

$$0,001: 1 \pm 3n$$

y la disolución satisfactoria y el refinamiento de la estructura, se determina que el grupo espaciador es:

$$P3_121 (\# 152).$$

- 20 Los datos se recogen a una temperatura de $-123 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ hasta un valor 2θ máximo de $136,4^\circ$. Se recogió un total de 111 imágenes de oscilación. Se realiza un barrido de datos utilizando barridos ω de $20,0$ a $200,0^\circ$ en etapas de $5,0^\circ$ a $\chi = 0,0^\circ$ y $\phi = 180,0^\circ$. Se realiza un segundo barrido de $20,0$ a $200,0^\circ$ en etapas de $5,0^\circ$ a $\chi = 54,0^\circ$ y $\phi = 180,0^\circ$. Se realiza un tercer barrido de $20,0$ a $185,0^\circ$ en etapas $5,0^\circ$ a $\chi = 54,0^\circ$ y $\phi = 90,0^\circ$, y se realiza un barrido final utilizando barridos ω de $20,0$ a $50,0^\circ$ en etapas de $5,0^\circ$ a $\chi = 0,0^\circ$ y $\phi = 0,0^\circ$. La tasa de exposición es de $12,0 \text{ [seg./}^\circ]$. La distancia del cristal al detector es de 127,40 mm. La lectura de salida se realiza en el modo de píxeles de $0,100 \text{ mm}$.

- 25 Reducción de los datos

De las 11772 reflexiones que se recogen, 2025 son exclusivas ($R_{int} = 0,038$); las reflexiones equivalentes se fusionan.

- 30 El coeficiente de absorción lineal, μ , para la radiación Cu-K α es de $13,035 \text{ cm}^{-1}$. Se aplica una corrección de la absorción empírica que resulta en factores de transmisión que varían de 0,540 a 0,659. Los datos se corrigen para los efectos de Lorenz y de polarización. Se aplica una corrección para la extinción secundaria (Larson, A.C., Crystallographic Computing, 1970, 291-294, ecuación 22, sustituyéndose V por el volumen celular) (coeficiente = 0,005900).

Disolución de la estructura y refinamiento

- 35 La estructura se disuelve mediante métodos directos (SIR92: Larson, A.C., J. Appl. Cryst., 1994, 27, 435) y se expande utilizando técnicas de Fourier (DIRDIF99: Beurskens, P.T. et al., The DIRD-99 Program System. Technical Report of the Crystallography Laboratory, 1999, Universidad of Nijmegen, Países Bajos). Los átomos que no son hidrógeno se refinan anisotrópicamente. Algunos átomos de hidrógeno se refinan isotrópicamente y el resto se refina utilizando el modelo de cabalgata. El ciclo final del refinamiento de mínimos cuadrados de matriz completa (mínimos cuadrados ponderados = $\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2$) en F^2 se basa 2052 reflexiones observadas y 181 parámetros variables y
- 40

ES 2 616 566 T3

convergencias (el mayor desplazamiento de parámetro es <0,01 veces su des) con unos factores de concordancia no ponderados y ponderados de:

$$R_1 = \frac{\sum ||F_o| - |F_c||}{\sum |F_o|} = 0,0303$$

$$wR2 = [\frac{\sum(w(F_o^2 - F_c^2)^2)}{\sum w(F_o^2)^2}]^{1/2} = 0,0733$$

- 5 La desviación estándar de una observación de peso unitario (desviación estándar = $[\sum w(F_o^2 - F_c^2)^2 / (N_o - N_v)]^{1/2}$, N_o = número de observaciones, N_v = número de variables) es de 1,10. Se emplean pesos unitarios. Los picos máximos y mínimos sobre el mapa de Fourier de diferencia final se corresponden con 0,22 y -0,22 e/Å³, respectivamente. La estructura absoluta se deduce basándose en el parámetro de Flack, 0,0(1), refinado utilizando 839 pares de Friedel (Flack, H. D., *Acta Cryst.*, 1983, A39, 876-881).
- 10 Los factores de dispersión de átomos neutros se toman de Cromer, D.T. et al., *International Tables for X-ray Crystallography*, 1974, IV, tabla 2.2 A. Los efectos de dispersión anómalos se incluyen en F_{calc} (Ibers, J.A. et al., *Acta Crystallogr.*, 1964, 17, 781); los valores de $\Delta f'$ y $\Delta f''$ son los de Creagh, D.C. et al., *International Tables for Crystallography*, 1992, C, tabla 4.2.6.8, 219-222. Los valores para los coeficientes de atenuación de masas son los de Creagh, D.C. et al., *International Tables for Crystallography*, 1992, C, tabla 4.2.4.3, 200-206. Todos los cálculos se realizan utilizando el paquete informático cristalográfico CrystalStructure 3.8 excepto para el refinamiento, que se realiza utilizando SHELXL-97.

Detalles experimentales

A. Datos cristalinos

	Fórmula empírica:	F ₂ O ₅ N ₂ C ₉ H ₁₄
20	Peso de la fórmula:	268,22
	Color del cristal, hábito:	incoloro, prisma
	Dimensiones del cristal:	0,48 x 0,43 x 0,32 mm
	Sistema cristalino:	trigonal
	Tipo de red cristalina:	primitiva
25	Imágenes de indexación:	5 oscilaciones a 60,0 segundos
	Posición del detector:	127,40 mm
	Tamaño del píxel:	0,100 mm
	Parámetros de la red cristalina:	a = 9,78961(18) Å c = 20,4588(7) Å
30		V = 1698,02(7) Å ³
	Grupo espaciador:	P3 ₁ 21 (# 152)
	Valor Z:	6
	D _{calc.} :	1,574 g/cm ³
	F ₀₀₀ :	840,00
35	μ(CuKα):	13,035 cm ⁻¹
	B. Mediciones de intensidad	
	Difractómetro:	Rigaku RAXIS-SPIDER
	Radiación:	CuKα (λ = 1,54187 Å) monocroma de grafito
	Apertura del detector:	460 mm x 256 mm
40	Imágenes de datos:	111 exposiciones
	Intervalo de oscilación ω (χ = 0,0, φ = 180,0):	20,0-200,0°

ES 2 616 566 T3

	Intervalo de oscilación ω ($\chi = 54,0$, $\phi = 180,0$):	20,0-200,0°
	Intervalo de oscilación ω ($\chi = 54,0$, $\phi = 90,0$):	20,0-185,0°
	Intervalo de oscilación ω ($\chi = 0,0$, $\phi = 0,0$):	20,0-50,0°
	Tasa de exposición:	12,0 seg./°
5	Posición del detector:	127,40 mm
	Tamaño del píxel:	0,100 mm
	$2\theta_{\max}$:	136,4°
	No. de reflexiones medidas:	Total: 11772
		Exclusivas: 2052 ($R_{\text{int}} = 0,038$)
10		Pares de Friedel: 839
	Correcciones:	Polarización de Lorentz
		Absorción (factores de trans.: 0,540-0,659)
		Extinción secundaria (coeficiente: 5,90000e-003)
	C. Disolución de la estructura y refinamiento	
15	Disolución de la estructura:	métodos directos (SIR92)
	Refinamiento:	mínimos cuadrados de matriz completa en F^2
	Función minimizada:	$\Sigma w(F_o^2 - F_c^2)^2$
	Mínimos cuadrados ponderados:	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0,0317 \cdot P)^2 + 0,6904 \cdot P]$, en el que $P = (\max(F_o^2, 0) + 2F_c^2)/3$
20	Límite de exclusión de $2\theta_{\max}$:	136,40
	Dispersión anómala:	todos los átomos que no son hidrógeno
	No. de observaciones (todas las reflexiones):	2052
	No. de variables:	181
	Proporción reflexión/parámetro:	11,34
25	Residuales: R_1 ($l > 2,00\sigma(l)$):	0,0303
	Residuales: R (todas las reflexiones):	0,0329
	Residuales: wR2 (todas las reflexiones):	0,0733
	Bondad del indicador de ajuste:	1,099
	Parámetro de Flack (pares de Friedel = 839):	0,0(1)
30	Desplazamiento max./error en el ciclo final:	<0,001
	Pico máximo en el mapa de dif. final:	0,22 e ⁻ /Å ³
	Pico mínimo en el mapa de dif. final:	-0,22 e ⁻ /Å ³

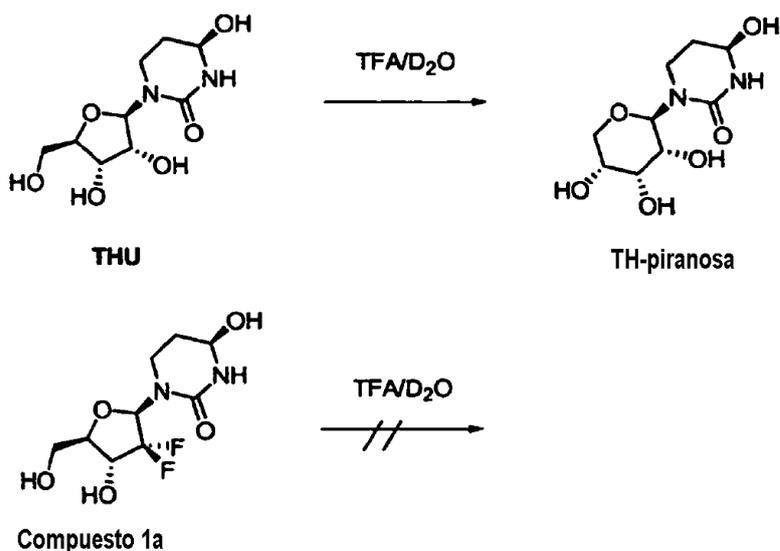
En la figura 9 se muestra un diagrama ORTEP (Michael N. Burnett y Carroll K. Johnson, ORTEP-III: Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot Program for Crystal Structure Illustrations, Oak Ridge National Laboratory Report ORNL-6895,

1996) de la estructura determinada del compuesto 1a.

Ejemplo 11:

Potenciación de la estabilidad frente a ácidos del compuesto 1a comparado con la THU

5 Se evaluó la estabilidad del compuesto 1 y de la tetrahidouridina (THU) en una disolución ácida mediante espectroscopía de RMN de ^1H .



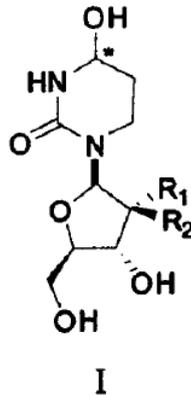
10 Se disuelve tetrahidouridina (THU, 5 mg) en D_2O (0,75 ml). El espectro de RMN de ^1H (D_2O , 300 MHz, 27 °C) se muestra en la figura 10. A esta muestra se le añade una gota de TFA deuterado, seguido de un espectro inmediato de RMN de ^1H (figura 10). Incluso en el momento temprano, el pico a 5,4 ppm (aproximadamente 10% de conversión mediante integración) es indicativo de la expansión del anillo a la TH-piranos. A lo largo de las siguientes horas se registran espectros (D_2O , 300 MHz, 27 °C) tal como se muestra en la figura 11. Después de 4 horas, la TH-piranos está más extendida, indicando una conversión de aproximadamente 60%. A las 72 horas, la conversión es casi totalmente completa (>80%). Unos cambios notables en la región de 4,0-4,5 también son indicativos de la descomposición de THU y la formación de TH-piranos.

15 El compuesto 1a (5 mg) se disuelve en D_2O (0,75 ml). El espectro de RMN de ^1H (D_2O , 300 MHz, 27 °C) se muestra en la figura 12. A esta misma muestra se le añade una gota de TFA deuterado, seguido de un espectro inmediato de RMN de ^1H (figura 12). Después del primer momento del tiempo, el único cambio notable es la epimerización del aminal, que se advierte por los picos adicionales a 5,92 y 5,93. Después de 4 horas y 72 horas (figura 13) no se producen más cambios notables en los espectros (D_2O , 300 MHz, 27 °C). Estos resultados indican que no se produce formación de piranos con el compuesto 1a bajo estas condiciones.

20

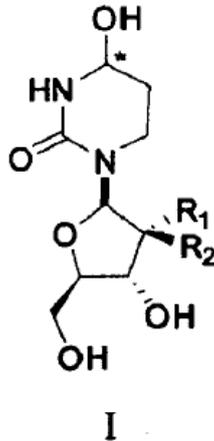
Reivindicaciones

1.- Un compuesto de fórmula I, o su sal farmacéuticamente aceptable:



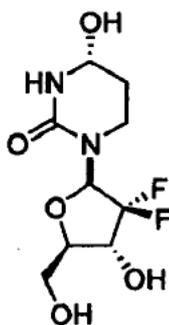
5 en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o (S), y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para uso en un método para inhibir la citidina desaminasa (CDA)

2. Un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



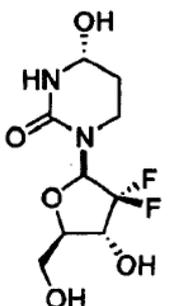
en la que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por CDA.

10 3. El compuesto de Fórmula 1 para el uso como se define en la reivindicación 1 o 2, en el que el compuesto está representado por el Compuesto 1a o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



Compuesto 1a

4. El compuesto de Fórmula 1 para el uso como se define en la reivindicación 1 ó 2, en el que el compuesto está representado por el Compuesto 1a:



Compuesto 1a

- 5
5. Un kit que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10
6. El kit de la reivindicación 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA seleccionado del grupo que consiste en 5-azacitidina, gemcitabina, ara-C, tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina y citocloro.
7. El kit de la reivindicación 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA, en el que el fármaco sustrato de CDA no es decitabina.
- 15
8. El kit de la reivindicación 5, que comprende además un segundo compuesto que es un fármaco sustrato de CDA, en el que el fármaco sustrato de CDA es decitabina.
9. El kit de la reivindicación 6 o 7, en el que el fármaco sustrato de CDA es 5-azacitidina, gemcitabina o ara-C.
10. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en el que el compuesto de Fórmula I y el segundo compuesto están en recipientes separados.
- 20
11. Un kit que comprende una forma de dosificación unitaria de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
12. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, que comprende además información.
13. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, para uso en un método para inhibir CDA.
14. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 5-11, para uso en un método para inhibir la degradación de un fármaco sustrato de CDA por CDA.
- 25
15. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 6-10, para uso en un método para tratar el cáncer.

16. Una composición farmacéutica que comprende:

(i) un compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

(ii) un fármaco sustrato de CDA; y

5 (iii) al menos un agente terapéutico adicional.

17. Un compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para tratar cáncer, que comprende:

(i) administrar a un mamífero que lo necesite un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 (ii) administrar a un mamífero que lo necesite un fármaco sustrato de CDA; y

(iii) administrar a un mamífero que lo necesite al menos un agente terapéutico adicional.

18. Uso de un compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

15 en el que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de pacientes tratados con un fármaco sustrato de CDA y al menos un agente terapéutico adicional.

19. Un compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

20 en el que el carbono marcado con un asterisco puede tener una configuración (R) o una (S); y en la que R₁ y R₂ son fluoro, para uso en el tratamiento de pacientes tratados con un fármaco sustrato de CDA y al menos un agente terapéutico adicional.

20. Una forma de dosificación unitaria para tratar el cáncer, que comprende:

i) el compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

25 ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA) seleccionado del grupo que consiste en 5-azacitidina, gemcitabina, arabinosilcitosina (citarabina, ara-C), tezacitabina, 5-fluoro-2'-desoxicitidina y citocloro.

21. Una forma de dosificación unitaria para tratar el cáncer, que comprende:

i) el compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

30 ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA);

en el que el fármaco sustrato de CDA no es decitabina.

22. Una forma de dosificación unitaria para tratar el cáncer, que comprende:

(i) el compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y

35 (ii) un fármaco sustrato de citidina desaminasa (CDA);

en el que el fármaco sustrato de CDA es decitabina.

23. El compuesto de Fórmula I como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el compuesto y el fármaco sustrato de CDA se administran en una forma de dosificación unitaria única.

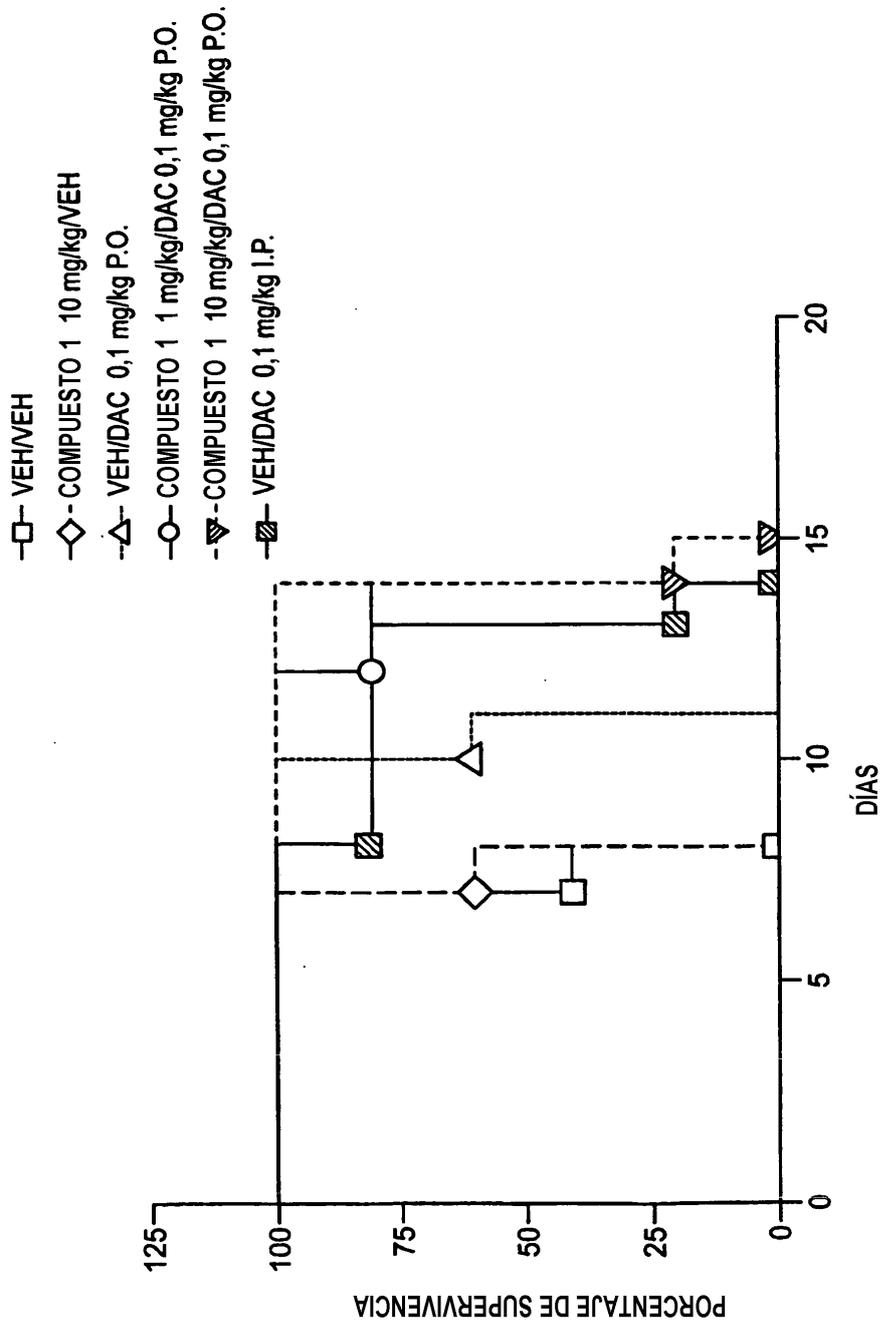


FIG. 1

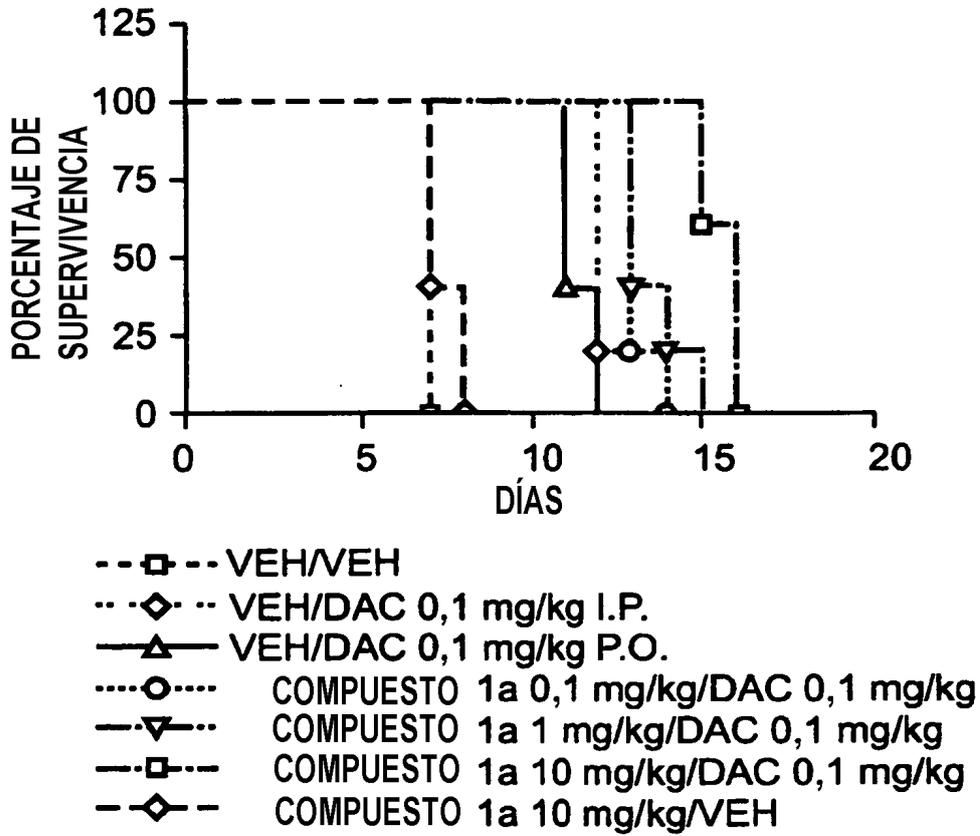


FIG. 2

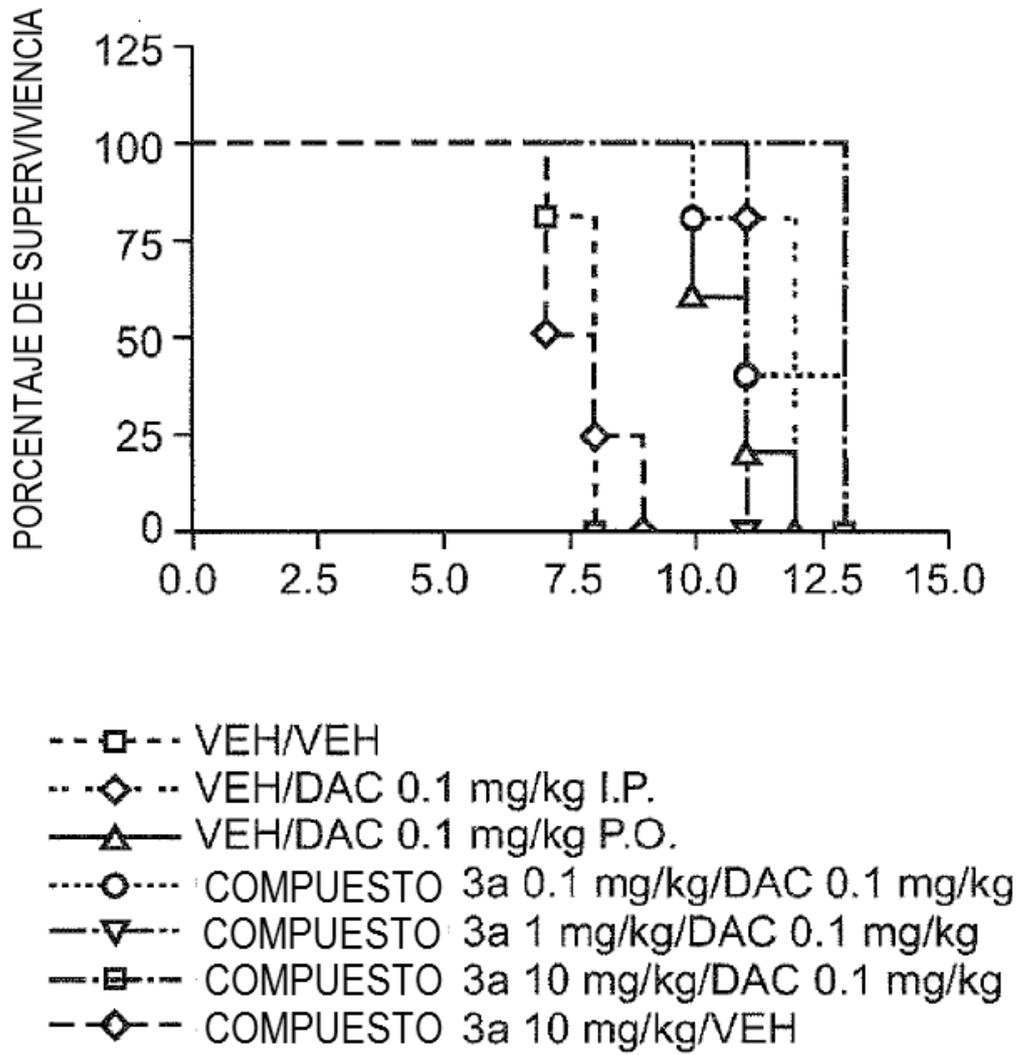


FIG. 3

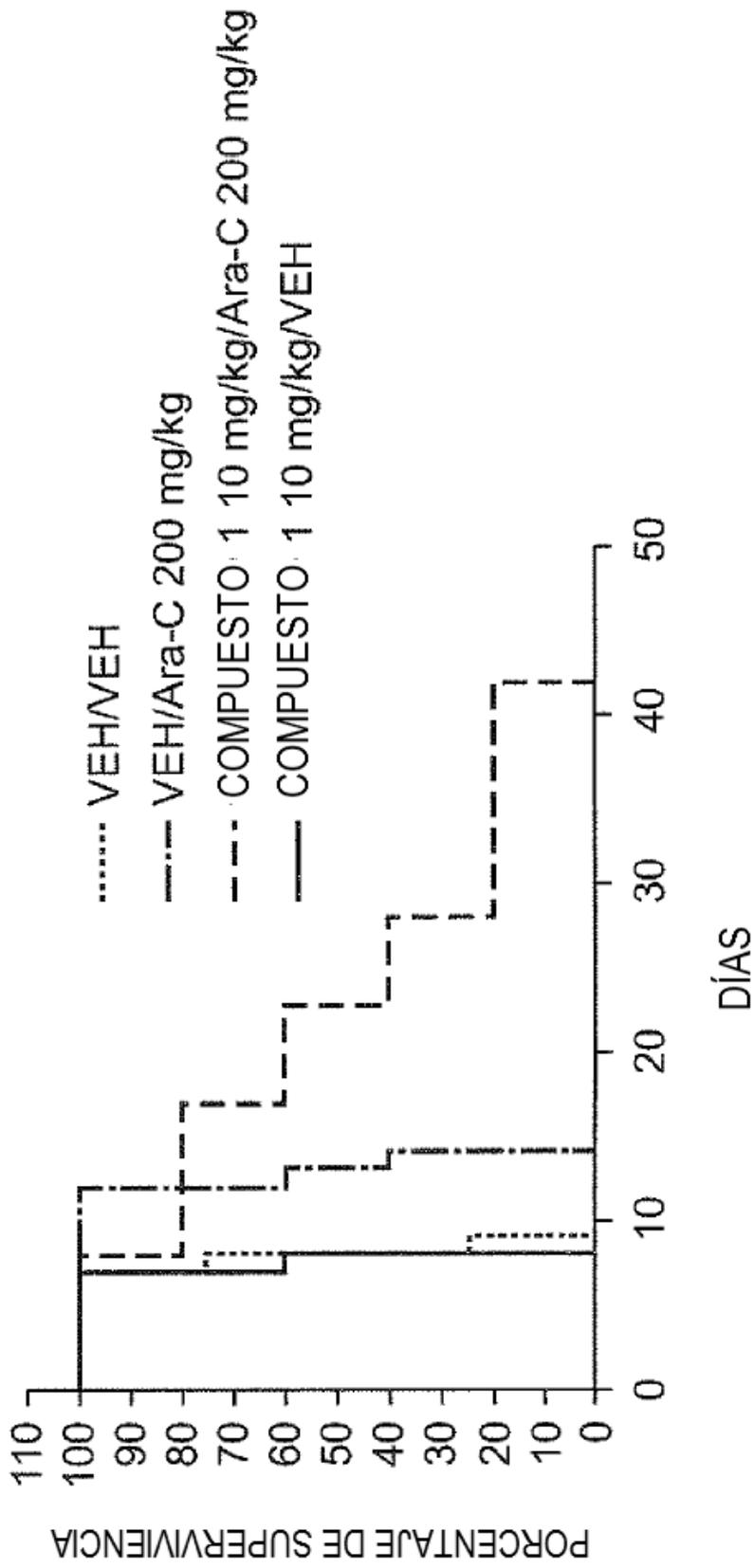


FIG. 4

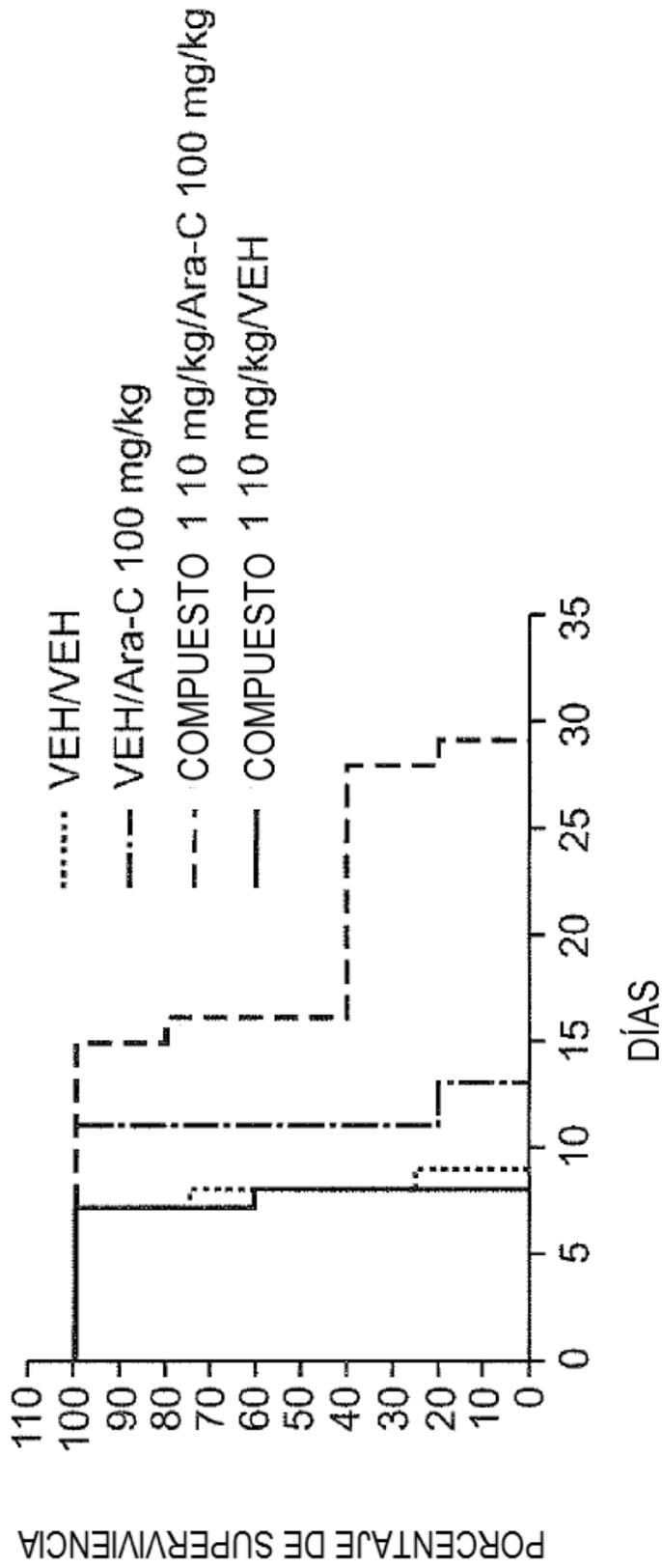


FIG. 5

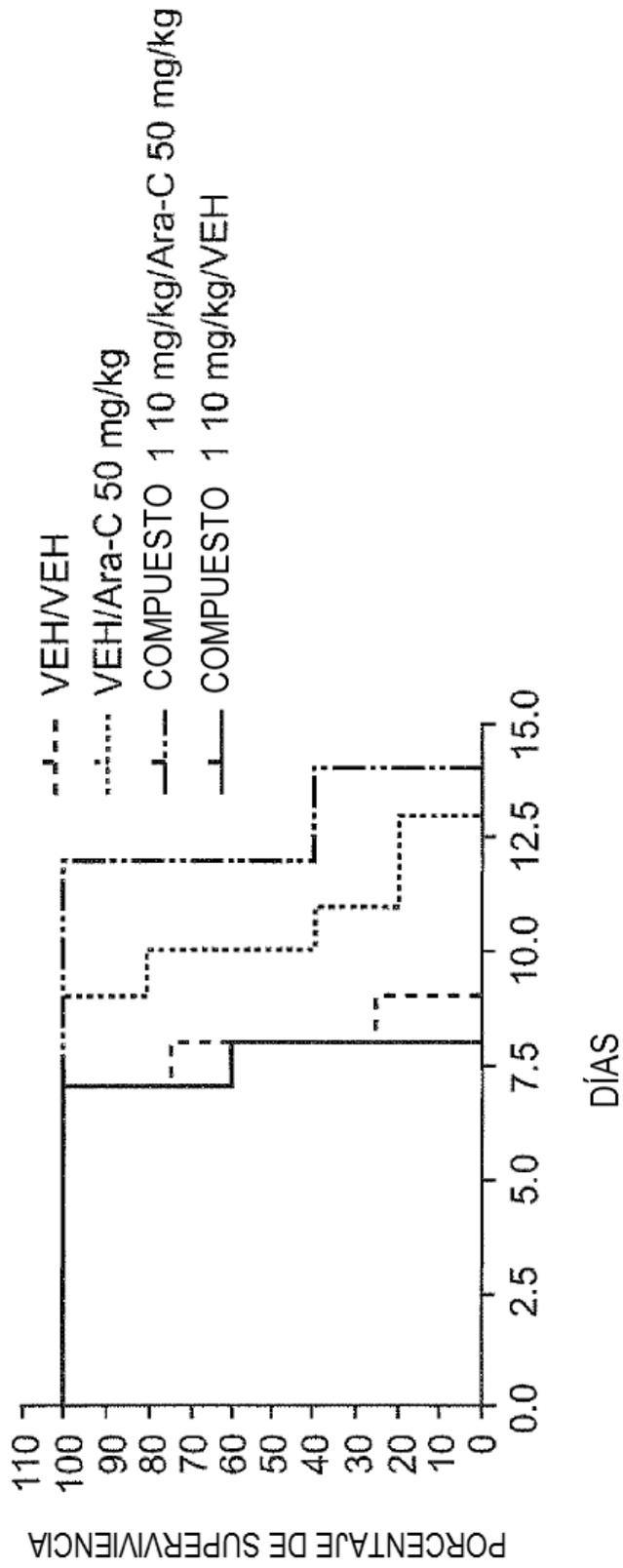


FIG. 6

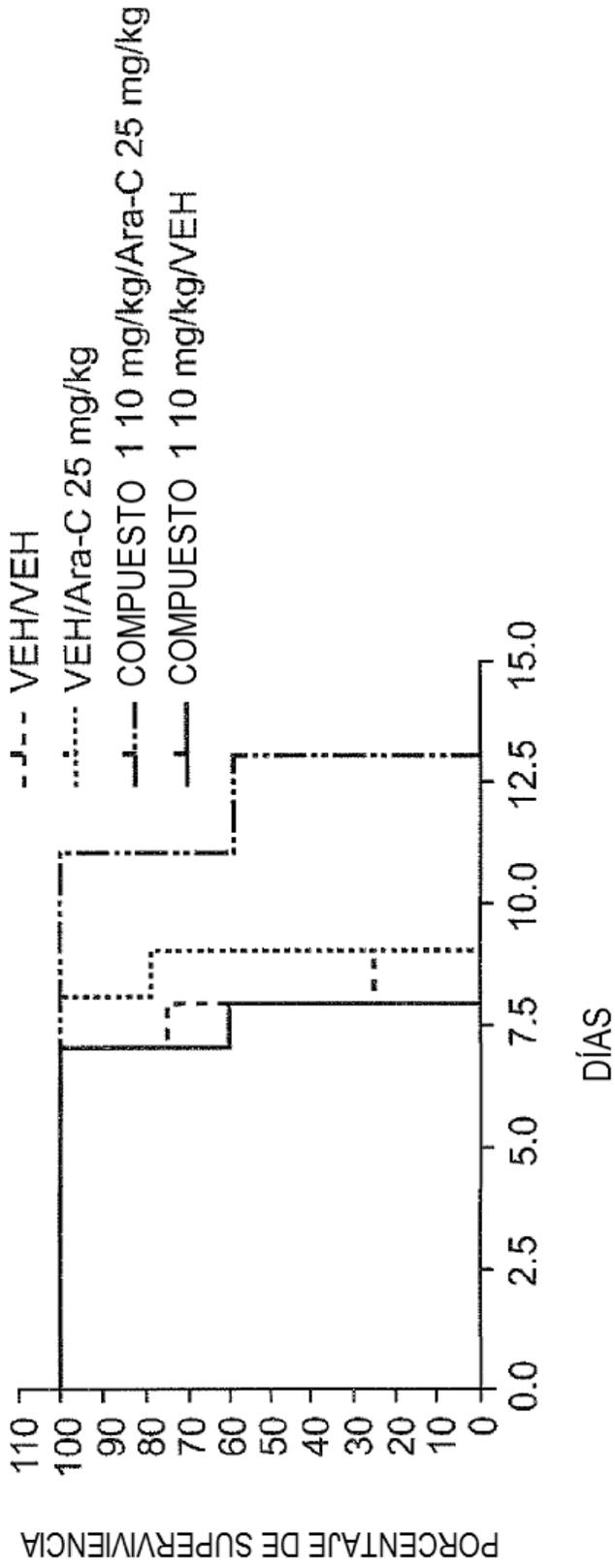


FIG. 7

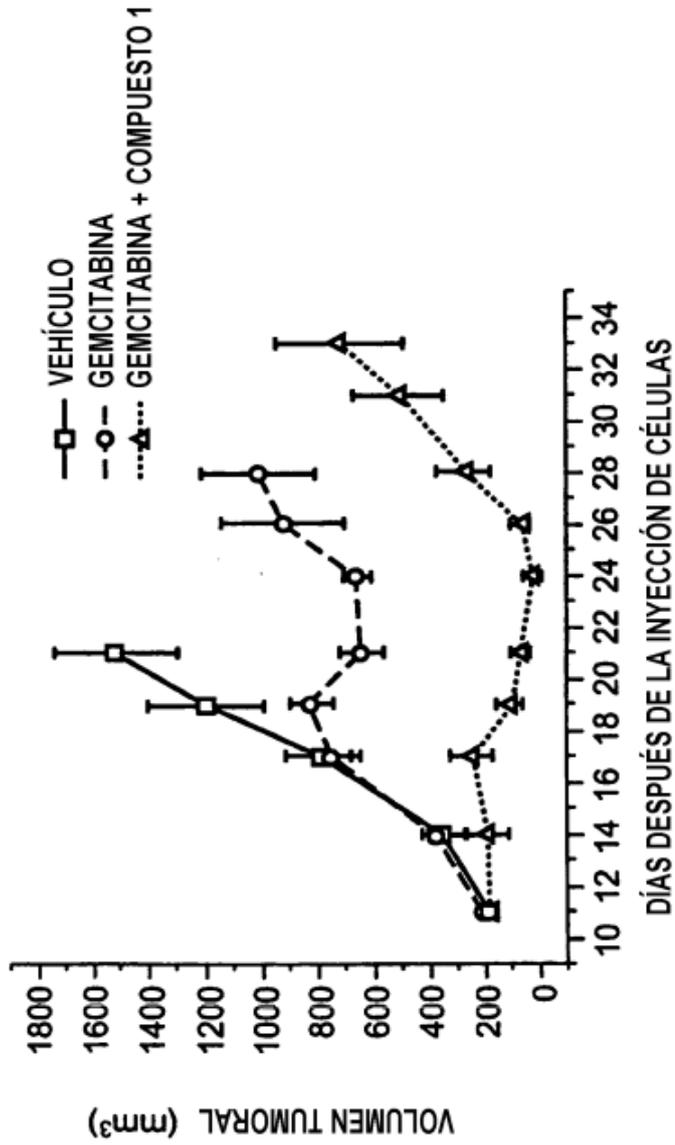


FIG. 8

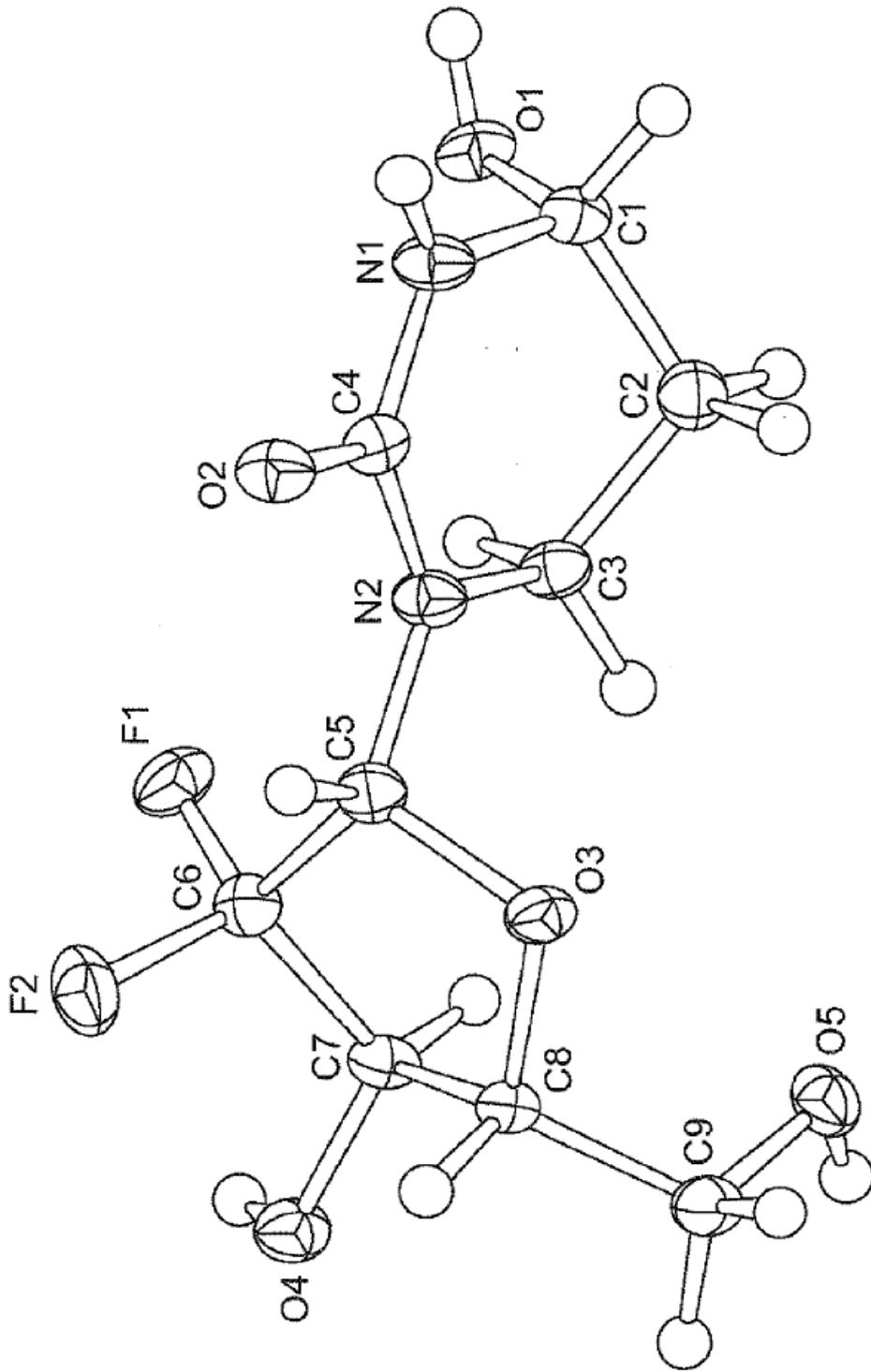


FIG. 9

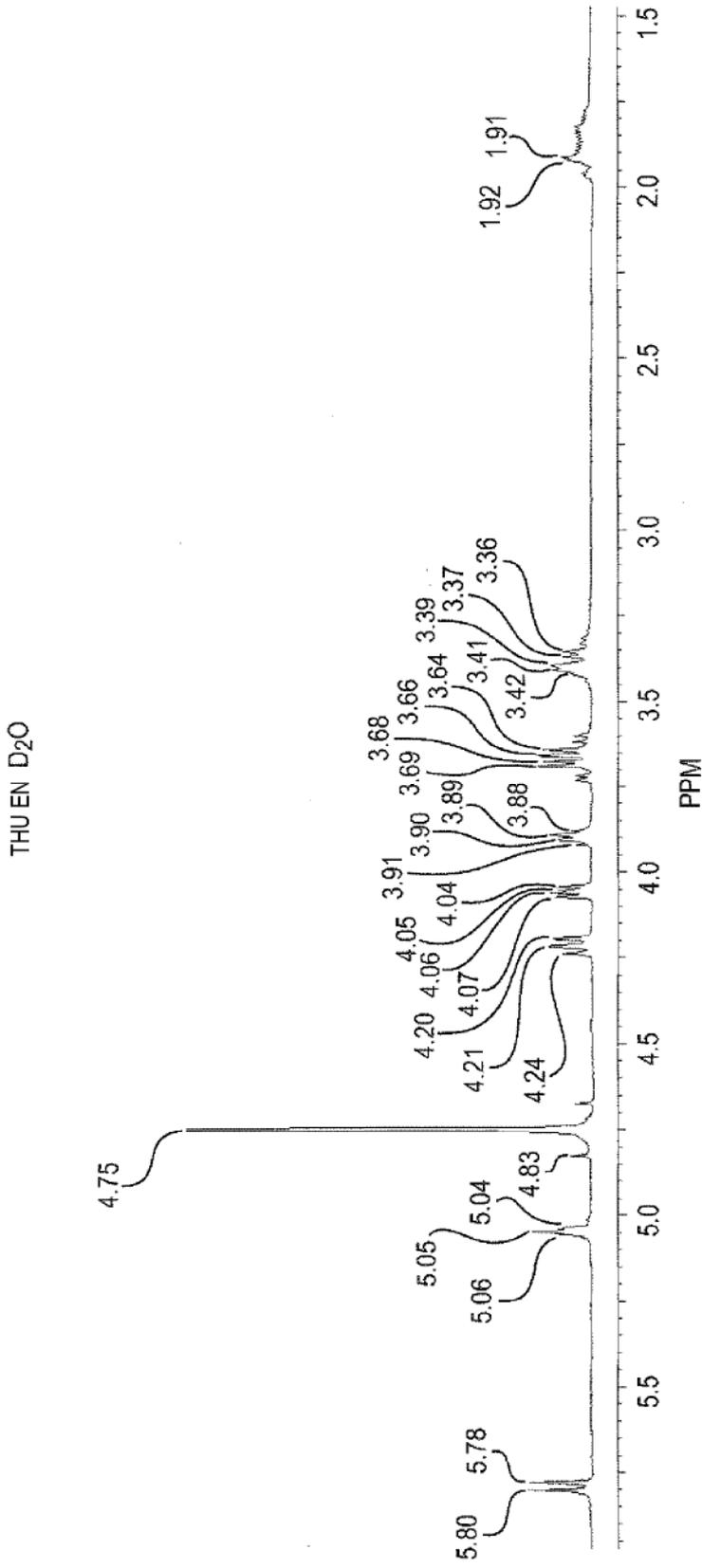


FIG. 10

THUEN D₂O CON d-TFA (t = 0h)

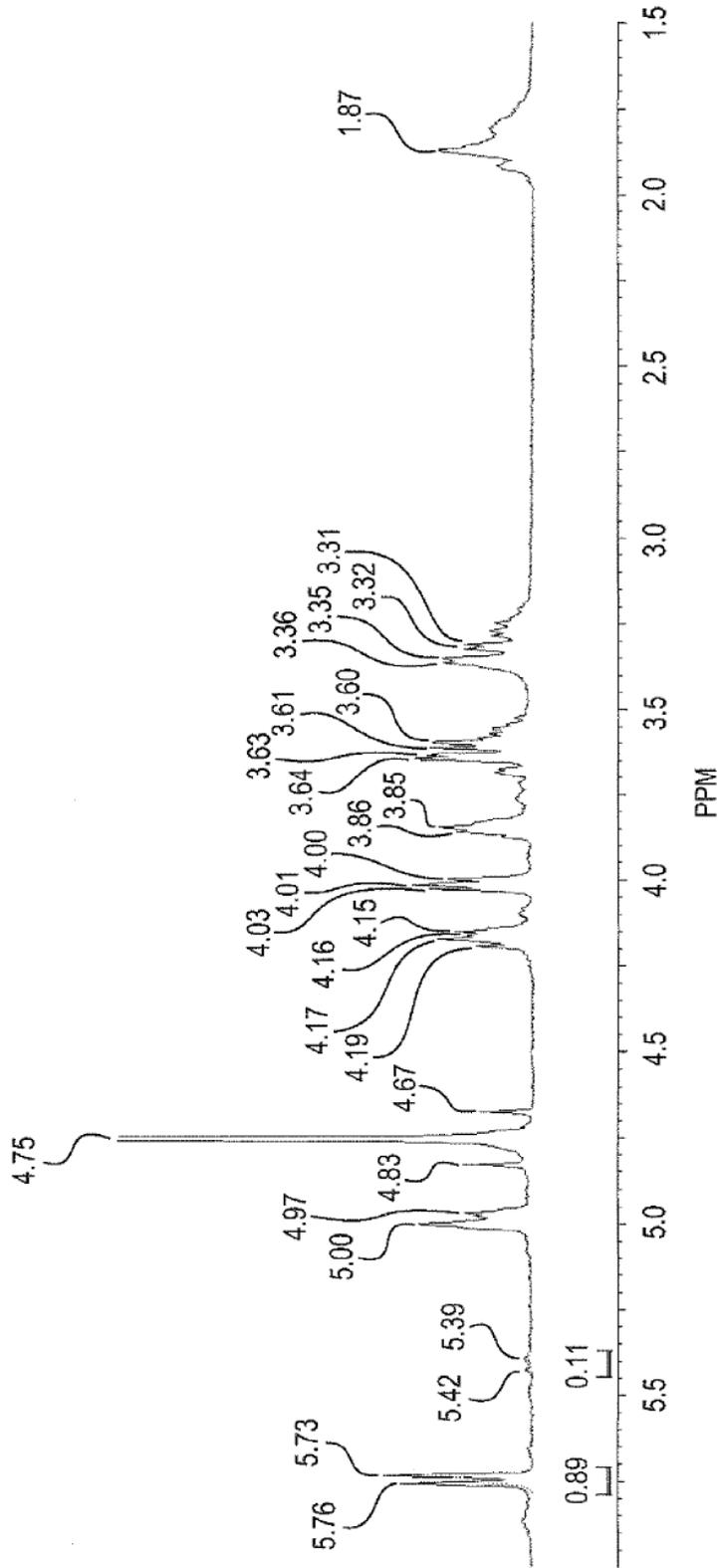


FIG. 11A

THUEN D₂O CON d-TFA (t = 4h)

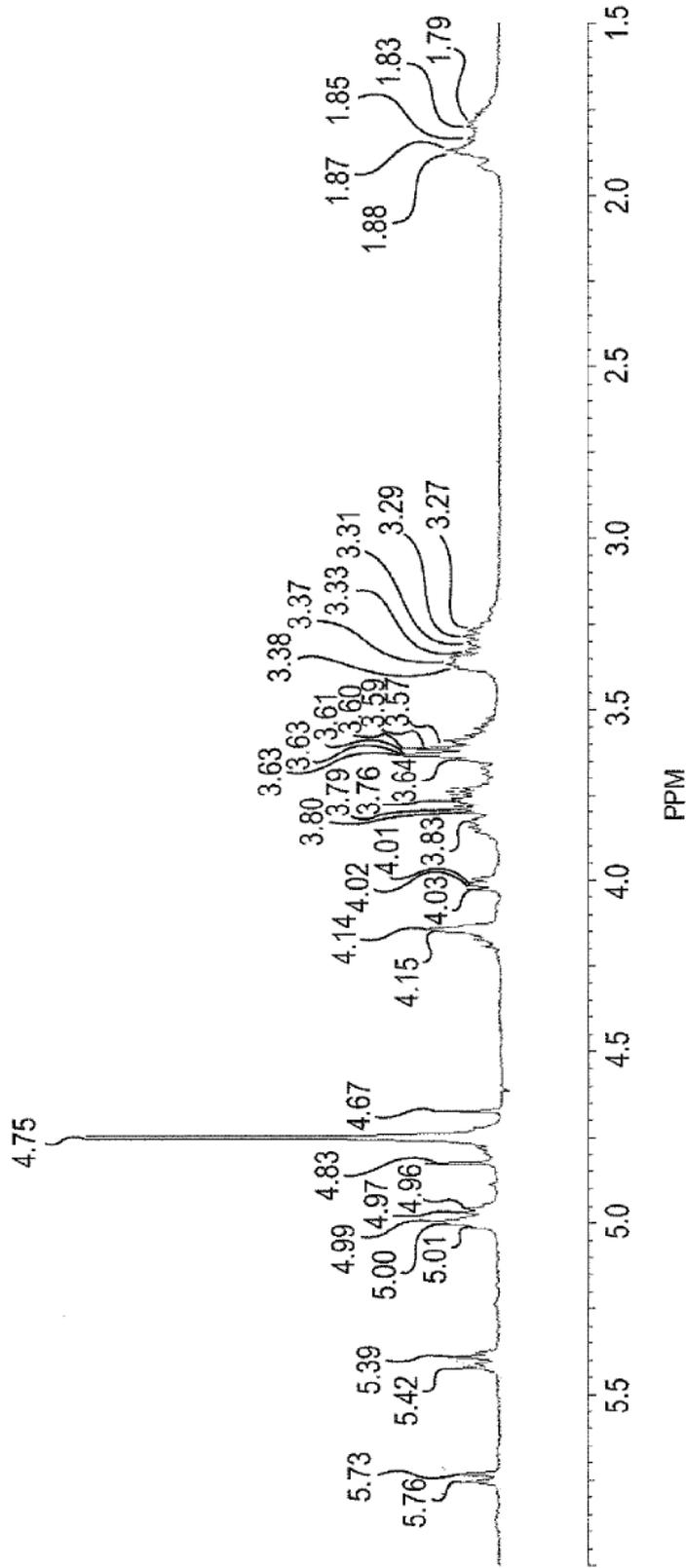


FIG. 11B

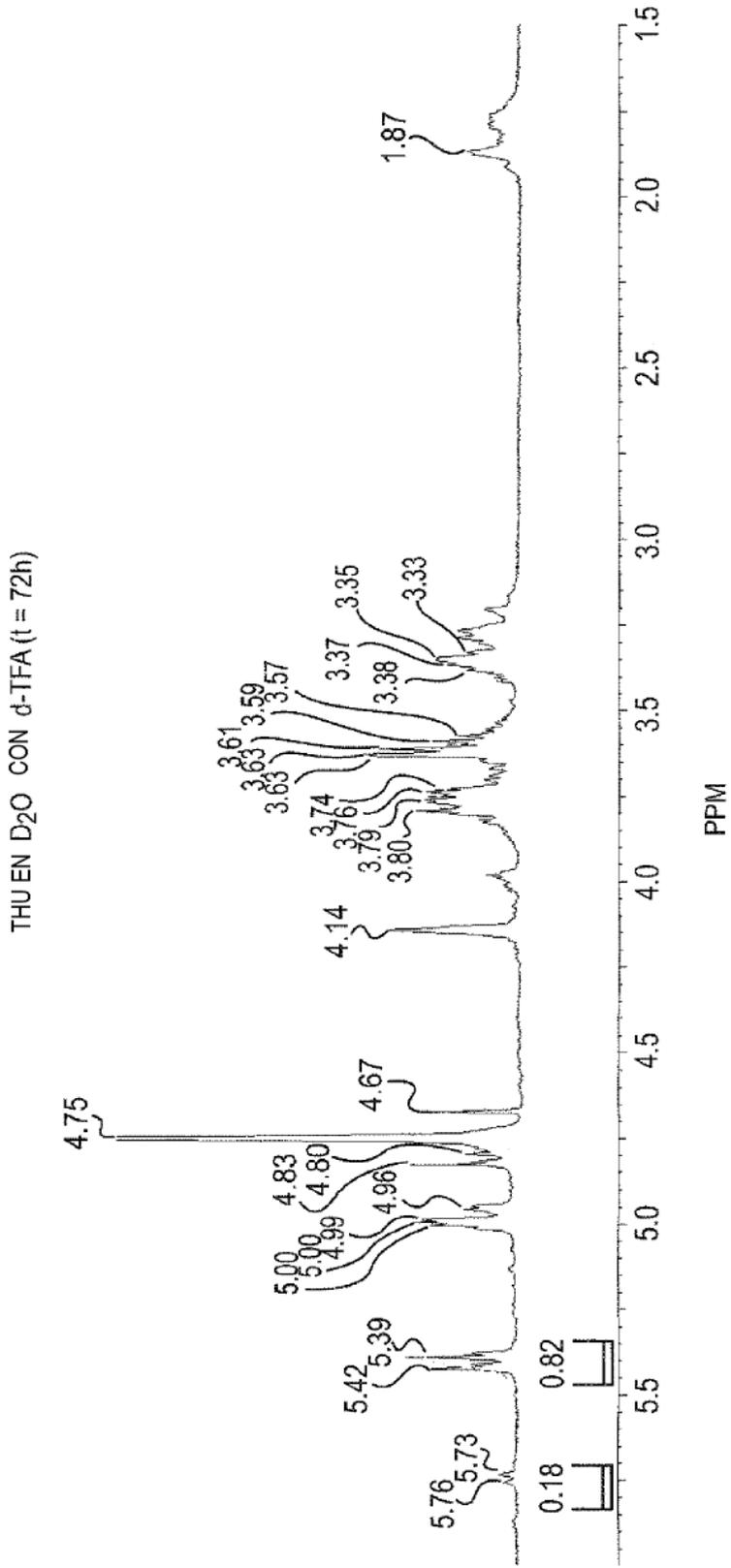


FIG. 11C

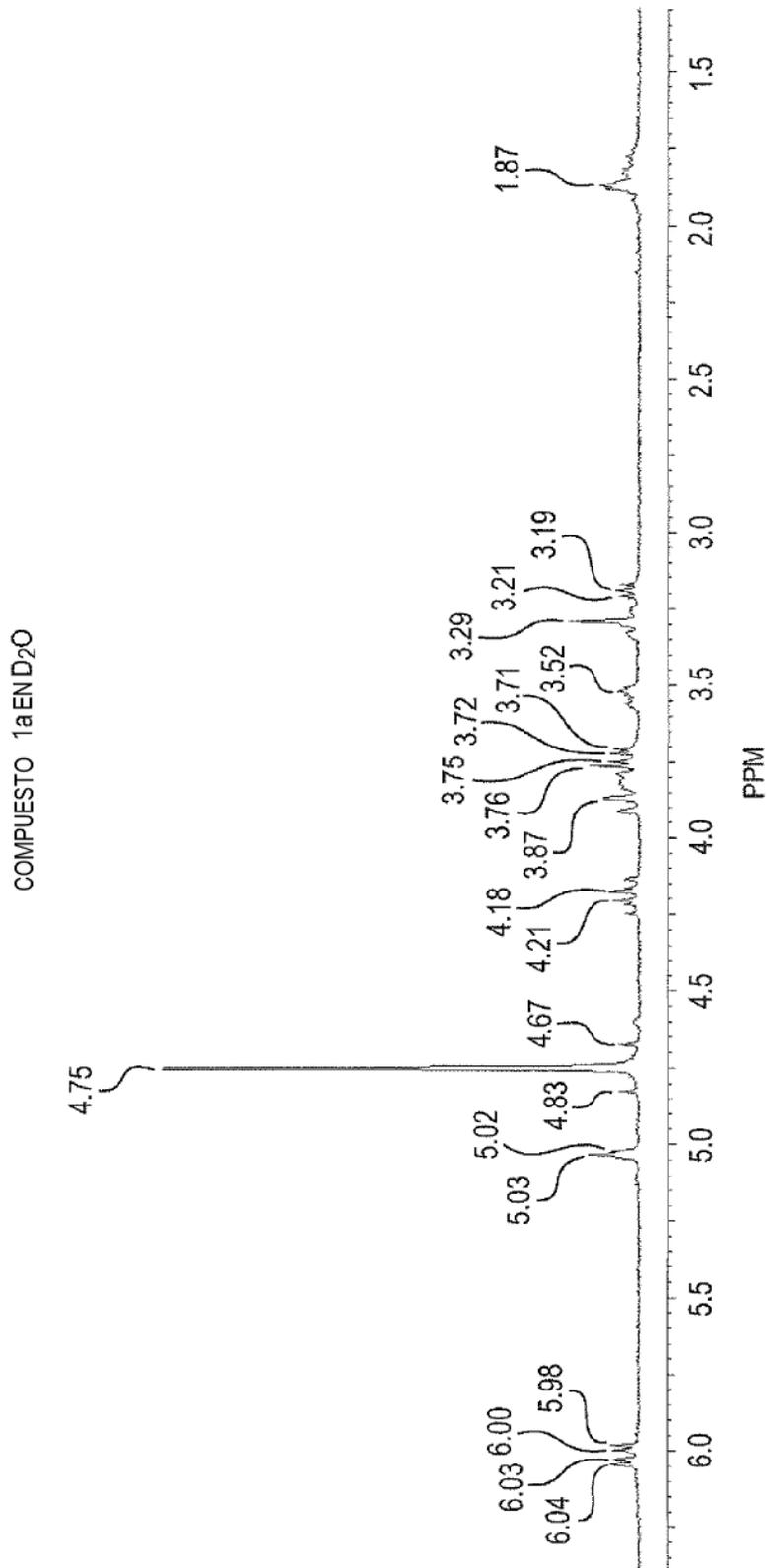


FIG. 12

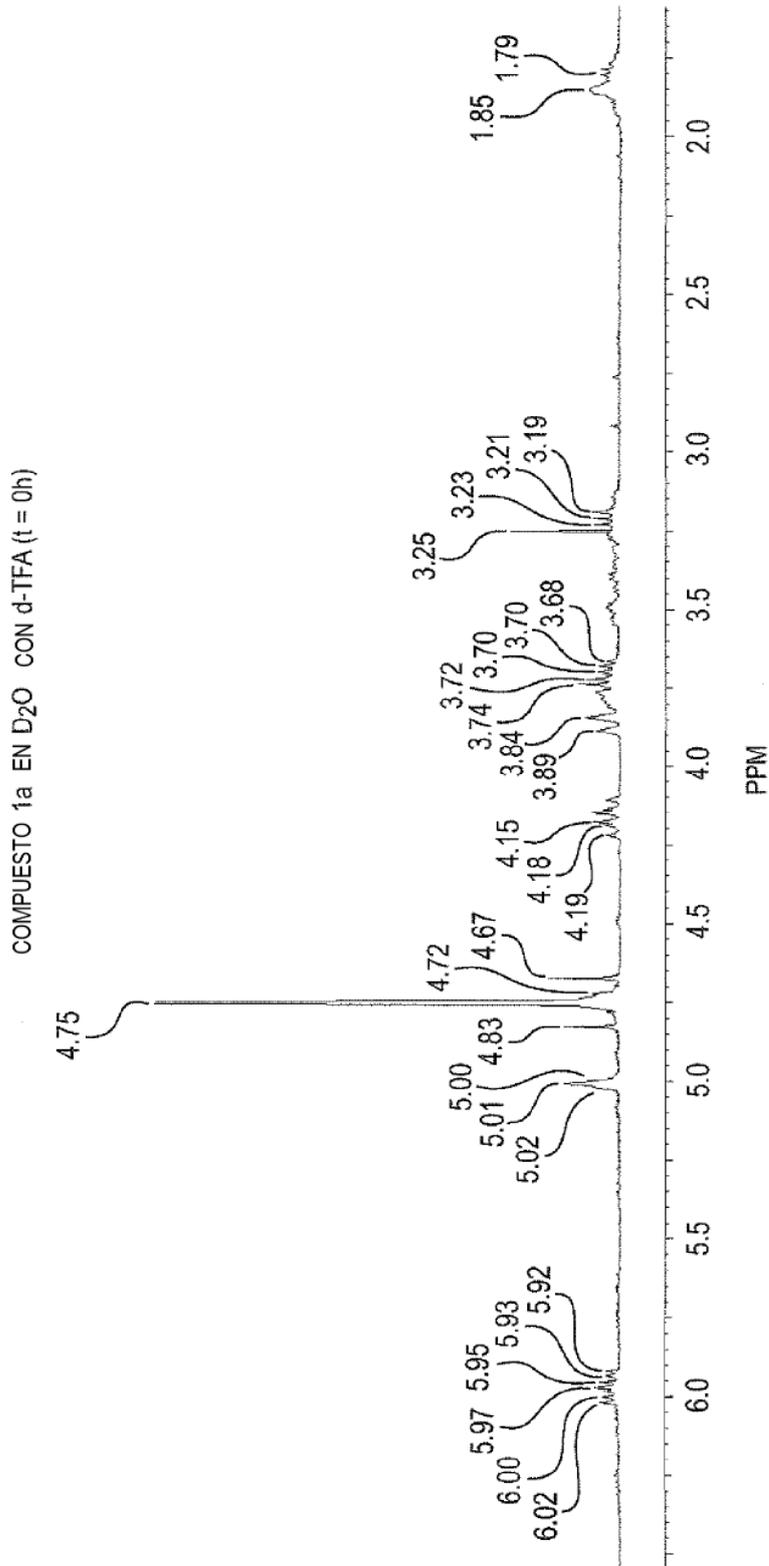


FIG. 13A

COMPUESTO 1a EN D₂O CON d-TFA (t = 4h)

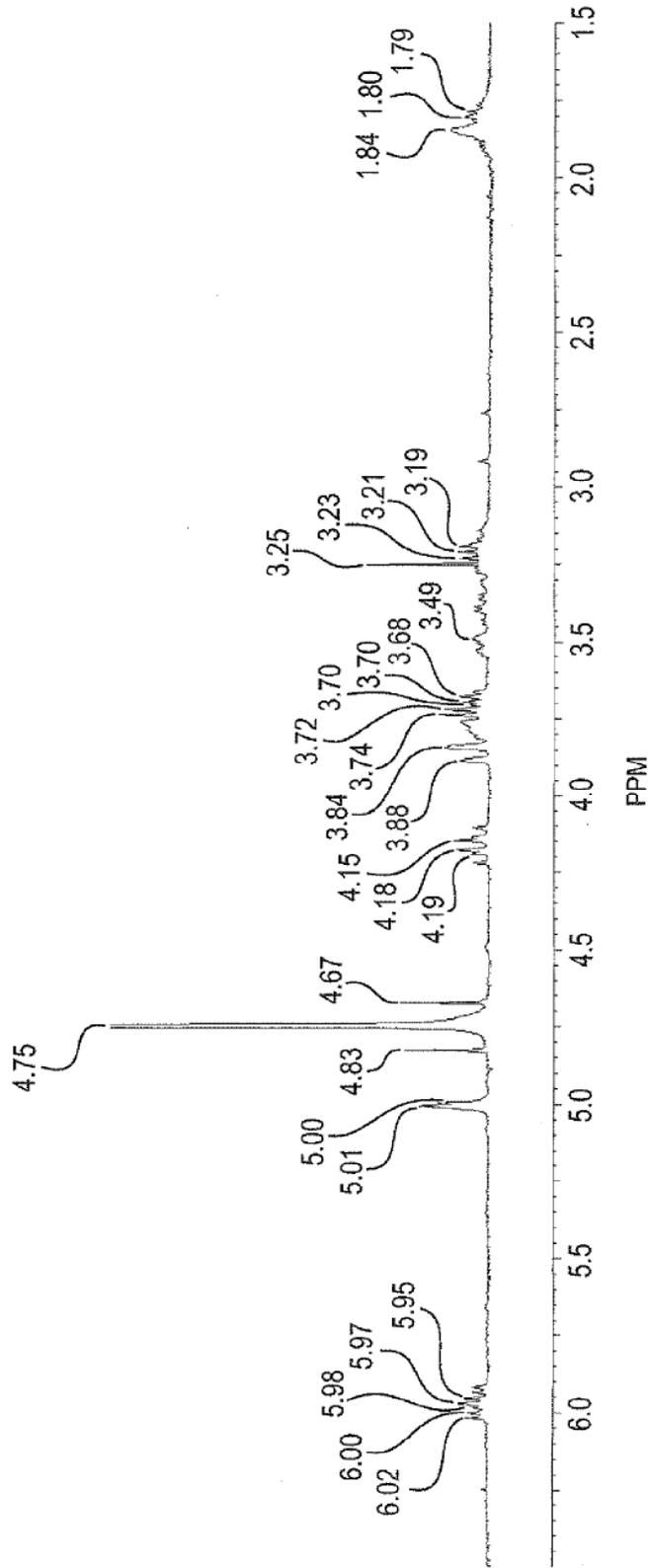


FIG. 13B

COMPUESTO 1a EN D₂O CON d-TFA (t = 72h)

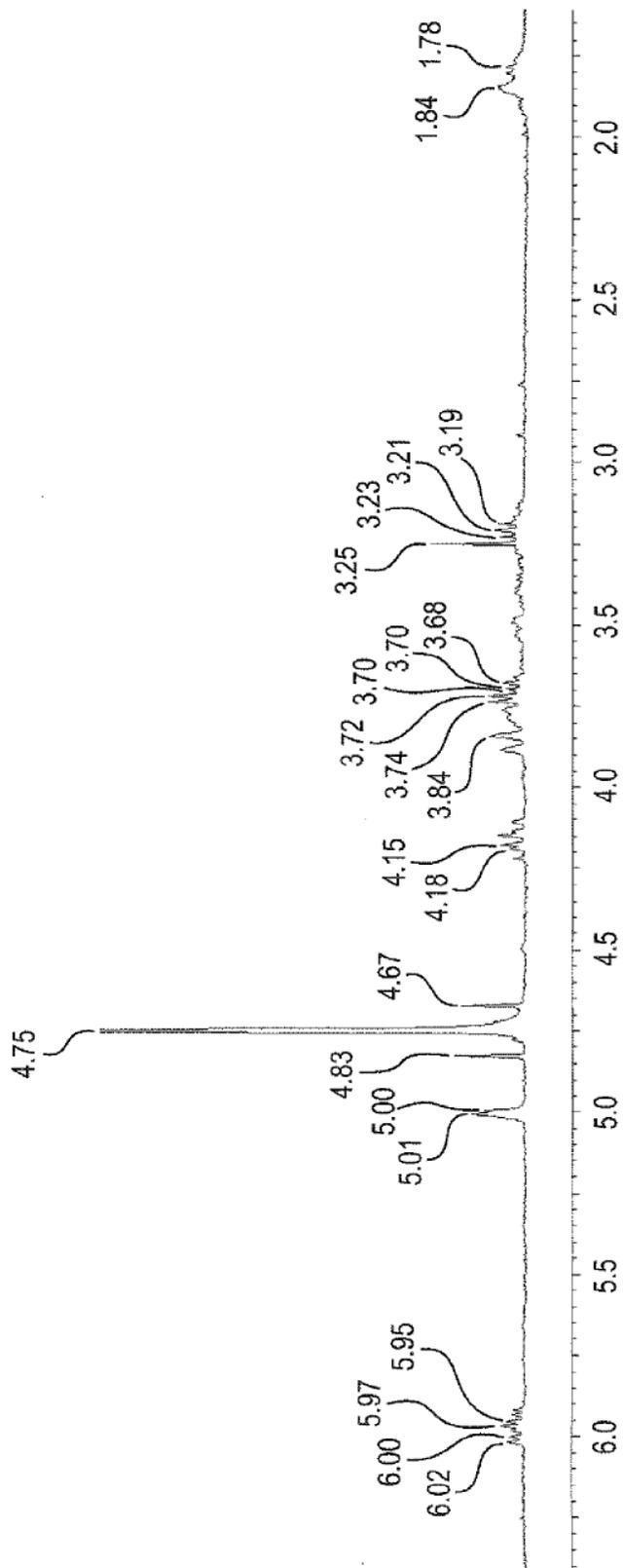


FIG. 13C