

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 628 580**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/551** (2006.01)

**A61K 31/7052** (2006.01)

**A61K 31/7068** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**A61P 35/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.04.2010 PCT/US2010/030078**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.10.2010 WO10118010**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.04.2010 E 10713755 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.03.2017 EP 2416780**

54 Título: **Combinación de decitabina con inhibidor de citidina deaminasa y uso del mismo en el tratamiento de cáncer el tratamiento de cáncer**

30 Prioridad:

**06.04.2009 US 167119 P**

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

**03.08.2017**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 628 580 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

Combinación de decitabina con inhibidor de citidina deaminasa y uso del mismo en el tratamiento de cáncer

Antecedentes de la invención

5 El cáncer es la segunda causa más común de muerte en los EE.UU., sólo es superada por la enfermedad cardíaca, y representa 1 de cada 4 muertes. Desde 1990, sólo en los EE.UU., casi cinco millones de vidas se han perdido debido a alguna forma de cáncer.

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

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

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

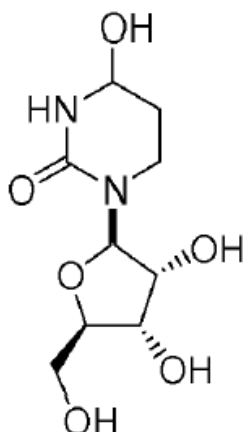
25 La incidencia de cáncer de páncreas ha aumentado constantemente en los últimos veinte años en la mayoría de los países industrializados, que exhibe las características de un problema epidemiológico en crecimiento.

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

35 Además, algunos fármacos contra el cáncer son metabolizados por enzimas de origen natural de un organismo tales como la adenosina deaminasa (ADA, EC 3.5.4.4) y citidina deaminasa (CDA, también denominada nucleósido de citosina deaminasa, aminohidrolasa citidina, o EC 3.5.4.5). Estas enzimas funcionan para desaminar la aminopurina natural y los nucleósidos de aminopirimidina, respectivamente, en los organismos humanos y otros. Estas enzimas también convierten los fármacos contra el cáncer con base en nucleósidos activos en metabolitos inactivos. Por ejemplo, el fármaco de nucleósido de purina arabinosiladenina (fludarabina, ara-A) se desamina por ADA; el compuesto resultante, con el grupo amino progenitor sustituido con hidroxilo, es inactivo como un agente antitumoral en comparación con el compuesto progenitor.

40 La CDA es un componente de la vía de ahorro de pirimidina. Esta convierte la citidina y desoxicitidina a uridina y desoxiuridina, respectivamente, mediante 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 (Cancer Chemother. Pharmacol. 1998, 42, 373-378; Cancer Res. 1989, 49, 3015-3019; Antiviral Chem. Chemother. 1990, 1, 255-262). La conversión de los compuestos de citosina a los derivados de uridina usualmente confiere pérdida de actividad terapéutica o adición de efectos secundarios. También se ha mostrado que los cánceres que adquieren resistencia a los fármacos análogos de citosina a menudo sobreexpresan CDA (Leuk. Res. 1990, 14, 751-754). Las células leucémicas que expresan un alto nivel de CDA pueden manifestar resistencia a antimetabolitos de citosina y de ese modo limitan la actividad antineoplásica de dichos agentes terapéuticos (Biochem. Pharmacol. 1993, 45, 1857-1861).

50 Se ha conocido la tetrahidrouridina (THU, o 1(β-D-ribofuranosil)-4-hidroxitetrahidropirimidin-2(1H)-ona) como un inhibidor de la citidina deaminasa durante un número de años.



**Tetrahydrouridina  
(THU)**

5 Diversos informes han sugerido que la coadministración con THU aumenta la eficacia y actividad oral de fármacos a base de citidina. Véase por ejemplo, Cancer Chemotherapy Reports 1975, 59, 459-465 and Blood 1985, 66, 527-532. Sin embargo, los primeros inhibidores de CDA tales como THU sufren de inconvenientes que incluyen la inestabilidad del ácido (J. Med. Chem. 1986, 29, 2351) y una pobre biodisponibilidad (J. Clin. Pharmacol. 1978, 18, 259).

10 La 5-Aza-2'-desoxicitidina (también denominada decitabina o el agente activo en el producto de marca Dacogen®) es un agente antineoplásico para el tratamiento del síndrome mielodisplásico (SMD), con utilidad potencial para el tratamiento de la LMA y la CML también. Al igual que los otros fármacos basados en citidina, su biodisponibilidad y eficacia oral están limitadas por la desactivación por CDA. THU ha demostrado mejorar la potencia de decitabina en un modelo de enfermedad de células falciformes en babuinos (Am. J. Hematol., 1985, 18, 283-288). Además, se ha demostrado que otro inhibidor CDA conocido, la zebularina, mejora la eficacia de decitabina en ratones con leucemia L1210 (Anticancer Drugs 2005, 16, 301-308).

Por lo tanto, subsiste la necesidad continua de inhibidores nuevos, potentes y terapéuticamente útiles de la CDA que se pueden usar con decitabina para el tratamiento de cáncer o enfermedad neoplásica.

#### 15 Resumen de la invención

Sigue subsistiendo la necesidad de nuevos tratamientos y terapias para el cáncer y trastornos asociados con el cáncer. También subsiste la necesidad de compuestos útiles en el tratamiento o mejora de uno o más síntomas de cáncer. Además, hay una necesidad de métodos para inhibir la actividad de la enzima citidina deaminasa.

20 La invención se limita a la materia objeto como se define en las reivindicaciones adjuntas. La siguiente descripción está sujeta a esta limitación.

25 De esta manera, se proporcionan aquí composiciones que comprenden (i) decitabina y (ii) un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII, o VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres alquenilo C<sub>2-6</sub> de los mismos. En un aspecto de la invención, se proporcionan aquí composiciones que comprenden (i) decitabina y (ii) un compuesto de la fórmula VIII o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres alquenilo C<sub>2-6</sub> de los mismos. En otro aspecto, se proporciona aquí un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar a un sujeto una composición que comprende decitabina; y administrar a un sujeto una composición que comprende un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII o VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres alquenilo C<sub>2-6</sub> de los mismos. En otro aspecto, se proporciona aquí un método para tratar cáncer que comprende: administrar a un sujeto una composición que comprende decitabina; y administrar a un sujeto una composición que comprende un compuesto de la fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII o VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres alquenilo C<sub>2-6</sub> de los mismos.

30 En otro aspecto, se proporciona aquí un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar a un sujeto una composición que comprende decitabina, y administrar a un sujeto una composición que comprende un compuesto de fórmula I, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub>, o ésteres de alquenilo C<sub>2-6</sub> de los mismos. En una realización de este método, la composición que comprende decitabina y la composición que comprende un compuesto de fórmula I se administran simultáneamente. En otra realización, se administra secuencialmente la composición que comprende decitabina y la composición que comprende un compuesto de fórmula I.

35 En otro aspecto, se proporciona aquí un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar a un sujeto una composición que comprende decitabina; y administrar a un sujeto una composición que comprende un compuesto de

fórmula VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres de alquenilo C<sub>1-6</sub> de los mismos. En una realización de este método, la composición que comprende decitabina y la composición que comprende un compuesto de fórmula VIII se administran simultáneamente. En otra realización, la composición que comprende decitabina y la composición que comprende un compuesto de fórmula VIII se administran secuencialmente.

- 5 En otro aspecto, se proporcionan aquí composiciones farmacéuticas que comprenden (i) decitabina; (ii) un compuesto de fórmula I, II, III, IV, V, VI, VII o VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres de alquenilo C<sub>1-6</sub> de los mismos; y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 10 En otro aspecto, se proporcionan aquí composiciones farmacéuticas que comprenden (i) decitabina; (ii) un compuesto de fórmula VIII, o sales farmacéuticamente aceptables, ésteres de alquilo C<sub>1-6</sub> o ésteres de alquenilo C<sub>1-6</sub> de los mismos; y (iii) un excipiente farmacéuticamente aceptable. En cualquiera de estas realizaciones, el cáncer puede ser un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser síndrome mielodisplásico o leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de mama metastásico.

- 15 En otro aspecto, se proporciona aquí un método de tratamiento de cáncer que comprende administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende decitabina; y administrar a un sujeto una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula VIII, o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alquenilo C<sub>1-6</sub> del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 20 En una realización, el cáncer es un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser síndrome mielodisplásico o leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de mama metastásico.

En aún otro aspecto, se proporciona aquí un uso del compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alquenilo C<sub>1-6</sub> del mismo; para la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer en un sujeto que se trata con una composición que comprende decitabina.

- 25 En una realización, el cáncer es un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser síndrome mielodisplásico o leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de mama metastásico.

- 30 En todavía otro aspecto, se proporciona aquí un uso del compuesto de fórmula VIII, o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alquenilo C<sub>1-6</sub> del mismo; para la fabricación de un medicamento para tratar el cáncer en un sujeto que se trata con una composición que comprende decitabina. En una realización, el cáncer es un cáncer hematológico o un cáncer sólido. El cáncer hematológico puede ser síndrome mielodisplásico o leucemia. La leucemia puede ser leucemia mieloide aguda o leucemia mieloide crónica. El cáncer sólido puede ser cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas o cáncer de mama metastásico.

- 35 En otro aspecto, se proporciona aquí un método para prevenir la desaminación de decitabina, que comprende utilizar una cantidad efectiva de cualquier compuesto de las fórmulas I-VIII. En una realización particular de este método, el compuesto es un compuesto dado por la fórmula VIII.

#### Breve descripción de los dibujos

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

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

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

La Figura 3 muestra el espectro UV de demcitabina y ER-876437.

- 50 La Figura 4 muestra cromatogramas de HPLC de decitabina en la presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

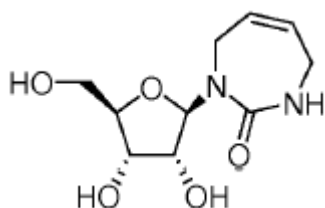
La Figura 5 muestra cromatogramas de HPLC de decitabina en la presencia de CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl a 37°C en puntos de tiempo seleccionados.

La Figura 6 muestra el efecto de ER-876437 sobre los niveles de decitabina en la presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C.

Descripción detallada de la invención

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

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



IX.

15 (Aquí y en cualquier parte, donde existan discrepancias entre un nombre de compuesto y una estructura del compuesto, controlará la estructura química).

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

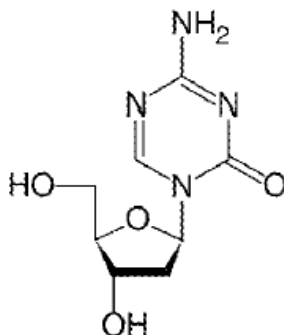
25 Se proporciona aquí una nueva clase de inhibidores de citidina deaminasa ("CDA"). Como se describe aquí, estos compuestos tienen una vida media mejorada sobre otros compuestos conocidos. En una realización, los compuestos de la invención tienen una vida media mejorada en fluido gástrico simulado en comparación a ER-876400. Estos compuestos pueden ser administrados en combinación con decitabina para propósitos de tratar cáncer (por ejemplo, síndrome mielodisplásico, leucemia, cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de célula no microcítica, o cáncer de mama metastásico).

Definiciones

Las siguientes definiciones se utilizan en toda esta especificación:

30 Como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones, las formas singulares "un", "una" y "el" incluyen referencias plurales a menos que el contenido indique claramente lo contrario. De esta manera, por ejemplo, la referencia a una composición farmacéutica que comprende "un compuesto" puede abarcar dos o más compuestos.

El término "decitabina", el agente activo en el fármaco de marca conocido como "DACOGEN®" o "5-aza-2'-desoxicitidina" se refiere a un compuesto que tiene la fórmula:



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

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

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

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

A menos que se indique lo contrario, cuando se describe un grupo bivalente por su fórmula química, que incluye dos grupos funcionales de enlace terminal indicados por “-”, se entenderá que la unión se lee de izquierda a derecha.

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

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

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

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

55 “Inhibir”, “inhibidor”, y “inhibición” en referencia a cualquiera de los compuestos dados por las fórmulas I-VIII (o los inhibidores de CDA descritos aquí que incluyen, sin limitación cualquiera de sus sales, ésteres de alquilo o ésteres de alqueno) se refiere a la reducción de la capacidad de las CDA para unir una decitabina, reduciendo de esta manera la capacidad de las CDA para desaminar enzimáticamente decitabina. Sin estar limitado por ninguna teoría, la capacidad

de un compuesto para inhibir la CDA se puede deber a la capacidad del compuesto para unirse al sitio activo de una proteína de CDA particular reduciendo de esta manera la capacidad de esa proteína de CDA particular de unirse a decitabina. “Inhibir”, “inhibidor”, e “inhibición” en este contexto no se refiere a una prevención completa de todas las proteínas de CDA de unirse a decitabina. Más bien, en este contexto, “inhibir”, “inhibidor”, e “inhibición” se refieren a la capacidad de los inhibidores de CDA para reducir la desaminación enzimática de decitabina mediante CDA. En un aspecto, los métodos de la presente invención comprenden poner en contacto una célula con una cantidad efectiva de un compuesto inhibidor de CDA, es decir, un compuesto de la invención, inhibiendo de esta manera la actividad de CDA.

“Paciente” o “sujeto”, como se utiliza aquí, significa un sujeto animal, preferiblemente un sujeto mamífero (por ejemplo, perro, gato, caballo, vaca, oveja, cabra, mono, etc.), y particularmente sujetos humanos (que incluyen sujetos de ambos sexos, y que incluyen pacientes neonatales, infantiles, juveniles, adolescentes, adultos y geriátricos). “Sujeto” también se puede referir a una célula o tejido, in vitro o in vivo, de un animal o un humano.

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

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

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

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

“Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de ácido o base de un compuesto de la invención, cuya sal posee la actividad farmacológica deseada y no es ni biológicamente ni de otro modo indeseable. La sal se puede formar con ácidos que incluyen sin limitación, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, butirato de bisulfato, citrato, canforato, canforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietano-sulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, tiocianato, tosilato y undecanoato. Ejemplos de una sal de base incluyen, sin sales de limitación de amonio, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio y de potasio, sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas tales como sales de dicitclohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos tales como arginina y lisina. En algunas realizaciones, los grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden cuaternizar con

agentes que incluyen haluros de alquilo inferior tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo 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.

5 “Animal” se refiere a un organismo vivo que tiene la sensación y el poder de movimiento voluntario, y que requiere para su existencia oxígeno y alimento orgánico.

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

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

- cardíaco: sarcoma (por ejemplo, tales como angiosarcoma, fibrosarcoma, rhabdomyosarcoma, liposarcoma y similares), rhabdomioma y teratoma;

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

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

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

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

30 - hueso: sarcoma osteogénico (por ejemplo, tal como osteosarcoma y similares), fibrosarcoma, histiocitoma fibrosa maligna, condrosarcoma, sarcoma de Ewing, linfoma maligno (por ejemplo, tal como sarcoma celular de retículo), mieloma múltiple, cordoma de tumor maligno de células gigantes (por ejemplo, tales como exostosis osteocartilaginosas), condroblastoma, y tumores de células gigantes;

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

- cáncer de mama;

40 - ginecológicos: útero (por ejemplo, tales como carcinoma endometrial y similares), cuello del útero (por ejemplo, tal como carcinoma cervical, y similares), ovarios (por ejemplo, tales como carcinoma de ovario [cistadenocarcinoma seroso, cistadenocarcinoma mucinoso, carcinoma no clasificado], tumores celulares Sertoli-Leydig, disgerminoma, teratoma maligno, y similares), vulva (por ejemplo, tales como carcinoma de células epidermoides, carcinoma intraepitelial, adenocarcinoma, fibrosarcoma, melanoma y similares), vagina (por ejemplo, tal como carcinoma de células claras, carcinoma de células epidermoides, sarcoma botriode (rhabdomyosarcoma embrionario), trompas de Falopio (carcinoma) y similares);

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

- piel: melanoma maligno, carcinoma de células basales, carcinoma de células epidermoides, sarcoma de Kaposi, y similares; y glándulas suprarrenales: neuroblastoma.

50 Como se utiliza aquí, “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad suficiente para provocar la respuesta biológica deseada. Una cantidad terapéuticamente efectiva de decitabina, por ejemplo, es una cantidad suficiente para tratar una enfermedad o trastorno como se describe aquí. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto dado por las fórmulas I-VIII es una cantidad suficiente para aumentar la exposición in vivo de decitabina.

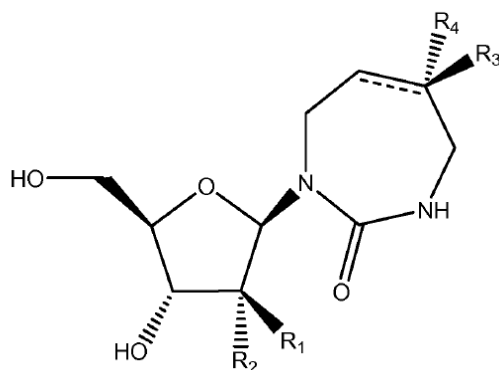


A lo largo de la especificación, cuando existen discrepancias entre el compuesto nombrado y la estructura que se muestra, deberá controlarse la estructura. Cuando cualesquiera sinónimos nombrados (por ejemplo, abreviaturas, nombres de la IUPAC, nombres genéricos u otros nombres químicos, o números de registro) proporcionados para cualquier compuesto particular en realidad se refieren a diferentes compuestos, entonces la especificación se interpretará para referirse a estos compuestos en la alternativa.

Compuestos de la Invención

La presente invención proporciona compuestos que inhiben la actividad de CDA. En otra realización, estos compuestos se pueden administrar en combinación con decitabina para propósitos de tratar cáncer (por ejemplo, síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda, leucemia mielocítica crónica, cáncer de pulmón de célula no microcítica, cáncer pancreático, cáncer de ovario y cáncer de mama).

La presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula I:



I

en la que:

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

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

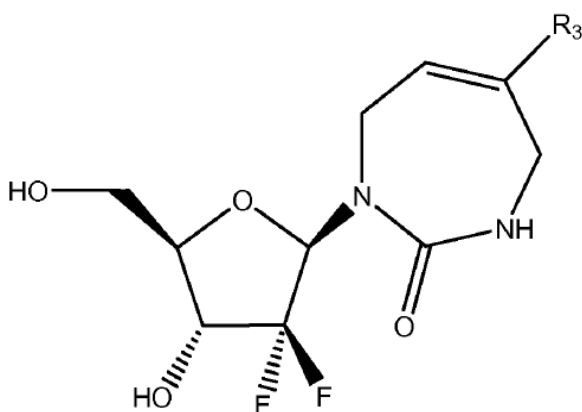
en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y R<sub>4</sub> está ausente y R<sub>3</sub> es plano cuando ----- es un enlace covalente;

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

Como se utiliza en toda la especificación, la expresión "R<sub>3</sub> es plano" significa que R<sub>3</sub> reside en el mismo plano que el plano que contiene el carbono al cual se une R<sub>3</sub>, así como los dos átomos de carbono inmediatamente adyacentes al carbono al cual se une R<sub>3</sub>.

En una realización de la fórmula I, R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno F.

En otra realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula II:

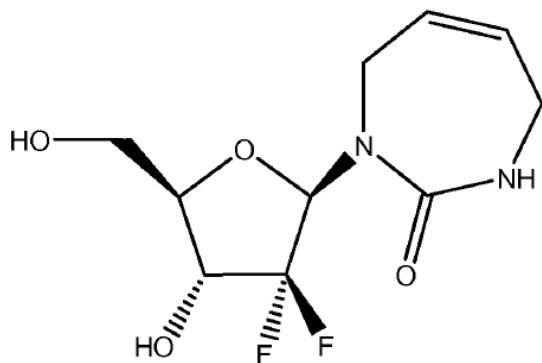


II

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

5 En otro aspecto, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y ER-876437 (o, 2H-1,3-Diazepin-2-ona, 1,3,4,7-tetrahidro- 1-β-(D-2-desoxi-2,2-difluororibofuranosil)-; o 1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-3,4-dihidro-1H-1,3-diazepin-2(7H)-ona, mostrada como la fórmula VIII). Aquí y en cualquier parte, cuando existan discrepancias entre un nombre químico del compuesto y su representación estructural, controlará la representación estructural. Cuando existan discrepancias entre la representación estructural y datos de <sup>1</sup>H RMN, controlarán los datos de <sup>1</sup>H RMN.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula VIII:

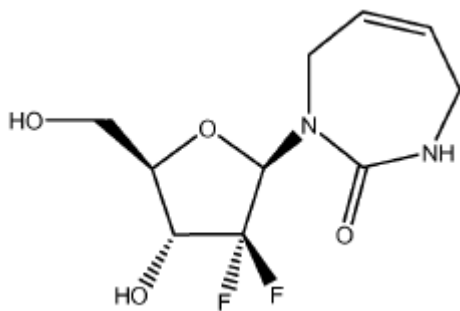


VIII

10

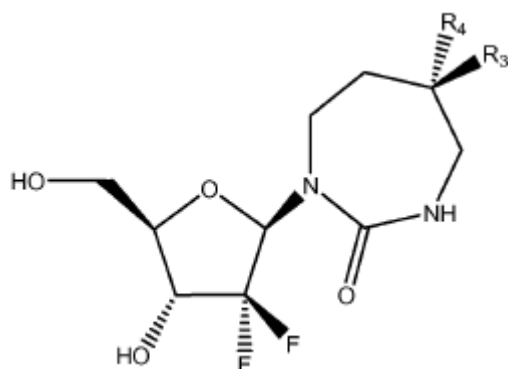
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

En otro aspecto, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a compuestos de la fórmula VIII:



VIII.

15 En otra realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula III:



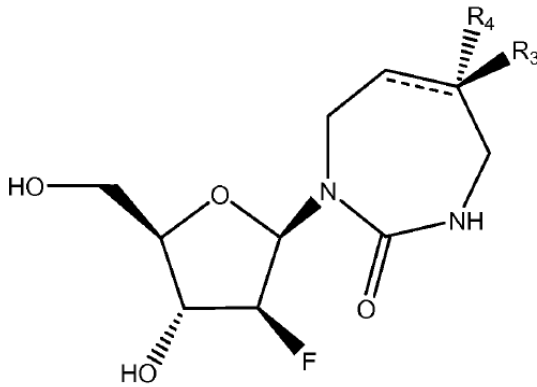
III

en la que:

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

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

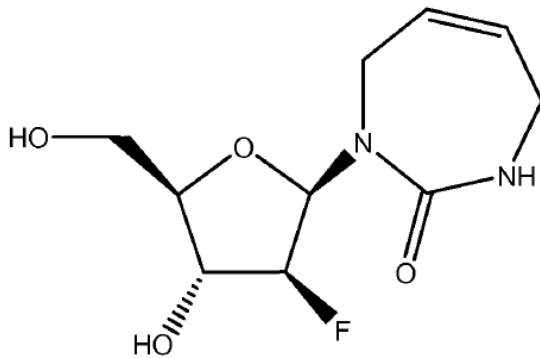
En otra realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula IV:



IV

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

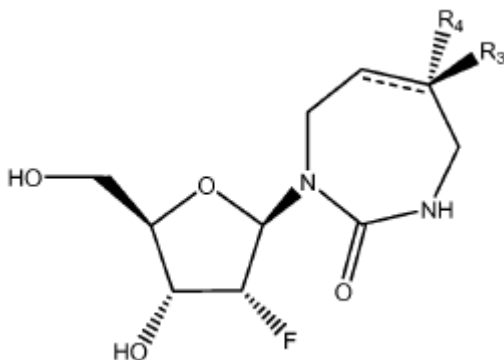
- 5 En una realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula V:



V

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

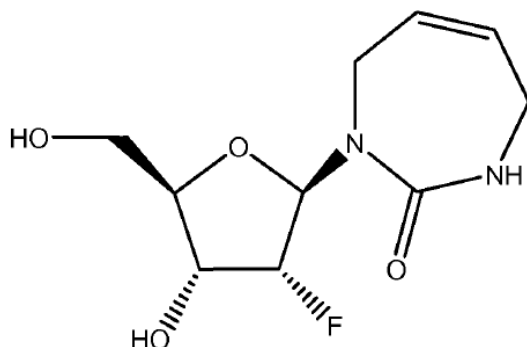
- 10 En otra realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula VI:



VI

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

En otra realización, la presente invención se dirige a una composición farmacéutica que comprende decitabina y a un compuesto de la fórmula VII:



VII

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

En otra realización de la invención, una composición farmacéutica puede comprender (a) un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII y también (b) decitabina

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

Cuando la administración involucra la administración separada (por ejemplo, administración secuencial) del primer compuesto (por ejemplo, un compuesto de la fórmula I) y un segundo compuesto (por ejemplo, decitabina), como se describe aquí, los compuestos se administran suficientemente cerca en tiempo para tener el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, el periodo de tiempo entre cada administración, que puede resultar en el efecto terapéutico deseado,  
20 puede variar desde minutos a horas a días y se puede determinar con base en las propiedades de cada compuesto tales como potencia, solubilidad, biodisponibilidad, vida media en plasma y perfil cinético. Por ejemplo, los compuestos se pueden administrar en cualquier orden dentro de 24 a 72 horas uno del otro o dentro de cualquier momento de menos de 24 horas de diferencia. Alternativamente, los compuestos se pueden administrar en cualquier orden dentro de una semana de la otra.

25 Cuando la decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se administran de forma secuencial, se pueden formular de forma separada y se puede proporcionar en cualquier orden. Cuando la decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se administran de forma simultánea, sin embargo, se pueden formular de forma separada o combinar en la misma formulación. Cuando se combina en la misma formulación, la decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se puede formular con el fin de ser liberado en el sujeto al mismo  
30 tiempo o en diferentes tiempos. El perfil de liberación de una formulación que comprende la decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII incluye lo siguiente:

A) liberación y biodisponibilidad de la decitabina seguido por liberación y biodisponibilidad del compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII;

35 B) liberación y biodisponibilidad del compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII seguido por liberación y biodisponibilidad de la decitabina;

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

De esta manera, se proporciona aquí un método para tratar cáncer, que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una composición que comprende decitabina y un compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII. El cáncer que se va a tratar puede ser leucemia mielocítica crónica, melanoma, mielodisplasia, leucemia  
40 recidivante, cáncer de colon (incluyendo cáncer colorrectal), cáncer gastrointestinal, cáncer ovárico, leucemia linfocítica aguda, leucemia mieloide aguda, leucemia linfocítica, carcinoma de próstata, leucemia mieloide crónica, cáncer de pulmón de células pequeñas, tumor de próstata, carcinoma de células renales, cáncer testicular, cáncer de mama, cáncer de trompas de falopio, tumor de ovario, tumor peritoneal, neuroblastoma, linfoma no Hodgkin, tumor de cabeza y  
45 cuello, cáncer de intestino delgado, tumor de esófago, tumor pulmonar (o, cáncer de pulmón), cáncer de pulmón de

células pequeñas o mesotelioma. En una realización particular, el cáncer que se va a tratar es síndrome mielodisplásico, leucemia mielógena aguda o leucemia mielocítica crónica.

5 En otra realización, se proporciona aquí un método para tratar cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende decitabina y ER-876437. En todavía otra realización, se proporciona aquí un método para tratar cáncer en un sujeto en necesidad del mismo, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende decitabina y ER-876437, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en síndrome mielodisplásico, leucemia, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de células no pequeñas y cáncer de mama metastásico. En todavía otra realización, se proporciona aquí un método para tratar la leucemia mielógena aguda, el síndrome mielodisplásico o la leucemia mielocítica crónica en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende decitabina y ER-876437.

10 En todavía otra realización, se proporciona aquí un método para tratar la anemia de células falciformes en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto una composición que comprende decitabina y ER-876437.

15 En otra realización de la invención, la decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se puede administrar de forma secuencial (en cualquier orden) o de forma simultánea con otros agentes farmacéuticos normalmente administrados a sujetos que se tratan por cáncer. Dichos otros agentes farmacéuticos incluyen sin limitación antieméticos, agentes que aumentan el apetito, otros agentes citotóxicos o quimioterapéuticos, y agentes que alivian el dolor. La decitabina y el compuesto de una cualquiera de las fórmulas I-VIII se puede formular junto con o de forma separada de dichos otros agentes farmacéuticos.

20 Una combinación con dichos otros agentes farmacéuticos puede resultar ya sea en aumento sinérgico en la actividad contra el cáncer, o dicho un aumento puede ser aditivo. Las composiciones descritas aquí normalmente incluyen dosificaciones más bajas de cada compuesto en una composición, evitando de esta manera interacciones adversas entre compuestos o efectos secundarios peligrosos, tales como unos que se han reportado para compuestos similares. Adicionalmente, las cantidades normales de cada compuesto cuando se da en combinación podría proporcionar mayor eficacia en sujetos quienes ya sea son insensibles o mínimamente sensibles a cada compuesto cuando se utiliza solo.

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

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

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

#### Procedimiento sintético

45 Dentro del alcance de este texto, un grupo fácilmente removible que no es un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa un "grupo protector". La protección de grupos funcionales mediante dichos grupos protectores, los grupos protectores en sí mismos y sus reacciones de división se describen por ejemplo en trabajos de referencia estándar, tales como por ejemplo, Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformation. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Alemania. 2005. 41627 pp. (URL: <http://www.science-of-synthesis.com> (Electronic Version, 48 Volumes)); J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, in T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, and in Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden retirar fácilmente (es decir, sin la ocurrencia de reacciones secundarias no deseadas) por ejemplo mediante solvolisis, reducción, fotólisis o alternativamente bajo condiciones fisiológicas (por ejemplo, por división enzimática).

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

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

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

Las mezclas de isómeros obtenibles de acuerdo con la invención se pueden separar de una manera conocida per se en los isómeros individuales; los diastereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, el dividir mediante partición entre mezclas de solventes polifásicas, recristalización o separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o mediante, por ejemplo, cromatografía líquida de media presión sobre una columna de fase inversa, y se pueden separar los racematos, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sales ópticamente puros y separación de la mezcla de diastereoisómeros obtenibles de esta manera, por ejemplo por medio de cristalización fraccionada, o mediante cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activos.

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

Se conocen en la técnica métodos de preparación de decitabina.

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

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

Formas de Dosificación

En ciertas realizaciones, las composiciones de la presente invención (por ejemplo, un compuesto de la fórmula I en combinación con decitabina, por ejemplo, ER-876437 en combinación con decitabina) se puede administrar a un sujeto en necesidad del mismo utilizando las formulaciones y métodos descritos en la Patente Estadounidense No. 7,144,873,

Patente Estadounidense No. 7,135,464, Patente Estadounidense No. 6,982,253, Patente Estadounidense No. 6,905,669, y Patente Estadounidense No. 6,613,753.

5 En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de los compuestos (o combinaciones) de la invención pueden estar en forma de dosificación unitaria adecuada para la administración mediante inyección por vía oral, rectal o parenteral. Por ejemplo, en la preparación de composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares, como en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas 10 representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean portadores farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, los portadores comprenden usualmente agua estéril, por lo menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, que ayudan a la solubilidad. Las soluciones inyectables, por ejemplo, se preparan utilizando un portador que comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y solución de glucosa. Las suspensiones inyectables también se pueden preparar en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En caso de las 15 composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador opcionalmente comprende un agente potenciador de penetración o un agente humectante adecuado, que se puede combinar con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, cuyos aditivos no provocan un efecto perjudicial significativo a la piel. Los aditivos pueden facilitar la administración a la piel o pueden ser útiles para la preparación de composiciones 20 deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, como un unción dorsal puntual, o como un ungüento.

Es especialmente ventajoso formular composiciones farmacéuticas descritas aquí en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma de dosificación unitaria, como se utiliza aquí, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas unitarias de dosificación son comprimidos (que incluyen comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de los mismos. 25

En general, se contempla que una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer o un segundo compuesto sería de 0.0001 mg/kg a 0.001 mg/kg; 0.001 mg/kg a 10 mg/kg de peso o de 0.02 mg/kg a 5 mg/kg de peso corporal. En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer o un segundo compuesto es desde 0.007 mg hasta 0.07 mg, 0.07 mg a 700 mg, o desde 1.4 mg hasta 350 mg. Un método de tratamiento profiláctico o curativo también puede incluir la administración de la composición en un régimen de entre uno y cinco tomas al día. 30

En algunas realizaciones, una cantidad terapéuticamente efectiva de un primer compuesto o un segundo compuesto incluye, pero no se limita a, la cantidad de menos de 0.01 mg/dosis, o menos de 0.5 mg/dosis, o menos de 1 mg/dosis, o menos de 2 mg/dosis, o menos de 5 mg/dosis, o menos de 10 mg/dosis, o menos de 20 mg/dosis, o menos de 25 mg/dosis, o menos de 50 mg/dosis, o menos de 100 mg/dosis, o menos de 500 mg/dosis. El número de veces en un día en el que un primero o segundo compuesto se administra a un sujeto se puede determinar con base en diversos criterios utilizados comúnmente en la técnica o aquellos descritos aquí. 35

También pueden estar presentes agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes en las composiciones. 40

Ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato de sodio, metabisulfito de sodio, sulfito de sodio y similares; antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo,  $\alpha$ -tocoferol, y similares; y agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares. 45

Las formulaciones de la presente invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica, bucal, sublingual, rectal, vaginal o parenteral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria y se pueden preparar mediante cualesquier métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con un material portador para producir una sola forma de dosificación generalmente será aquella cantidad de la composición que produce un efecto terapéutico. Generalmente, de un cien por ciento, esta cantidad variará desde aproximadamente 1 por ciento hasta aproximadamente noventa y nueve por ciento de ingrediente activo, preferiblemente desde aproximadamente 5 por ciento hasta aproximadamente 55 70 por ciento, más preferiblemente desde aproximadamente 10 por ciento hasta aproximadamente 30 por ciento.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de poner en asociación una composición de la presente invención con el portador y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan al colocar uniforme e íntimamente en asociación una composición de la presente

invención con portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto.

5 Las formulaciones de la invención adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, comprimidos oblongos (utilizando una base aromatizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto), polvos, gránulos, o como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida aceite en agua o emulsión líquida agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (utilizando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia) o como enjuagues bucales y similares, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de una composición de la presente invención como ingrediente activo. Una composición de la presente invención también se puede administrar como un bolo, electuario o pasta.

10 En las formas de dosificación sólidas de la invención para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el ingrediente activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, o cualquiera de los siguientes: rellenos o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa o acacia; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de papa o tapioca, ácido alginico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; agentes retardando de solución, tales como parafina; aceleradores de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; absorbentes, tales como caolín y arcilla de bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes de regulación. Las composiciones sólidas de un tipo similar también se pueden emplear como rellenos en cápsulas de gelatina llenas blandas y duras utilizando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

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

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

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

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

55 Las suspensiones, además de las composiciones activas, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas de la invención para administración rectal o vaginal se pueden presentar como un supositorio, que se pueden preparar al mezclar una o más composiciones de la invención con uno o más excipientes o portadores adecuados no irritantes que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol,



una cera de supositorio o un salicilato, y que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a temperatura corporal y, por lo tanto, se fundirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará la composición activa.

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

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de una composición de esta invención incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhalantes. La composición activa se puede mezclar bajo condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, reguladores, o propelentes que se puedan requerir.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

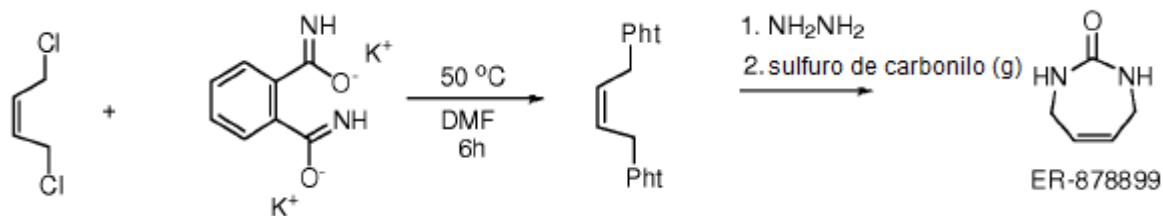
55 Las preparaciones de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral, tópica, o rectal. Por supuesto se dan por formas adecuadas para cada vía de administración. Por ejemplo, se administran en comprimidos o cápsulas, mediante inyección, inhalación, loción ocular, ungüento, supositorio,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

- 5 Las expresiones “administración parenteral” y “administrado parenteralmente” como se utiliza aquí significa modos de administración diferentes de administración enteral y tópica, normalmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal e infusión.
- 10 Las expresiones “administración sistémica”, “administrado sistémicamente”, “administración periférica” y “administrado periféricamente” como se utiliza aquí significa la administración de un compuesto, fármaco u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso central, de tal manera que entra en el sistema del paciente y, por tanto, está sujeto al metabolismo y otros procesos como, por ejemplo, administración subcutánea.
- 15 Estos compuestos se pueden administrar a humanos y otros animales para terapia mediante cualquier ruta de administración adecuada, que incluye por vía oral, nasal, como mediante, por ejemplo, un pulverizador, por vía rectal, intravaginal, parenteral, intracisternal y tópica, en forma de polvos, ungüentos o gotas, que incluyen por vía bucal y por vía sublingual.
- Independientemente de la ruta de administración seleccionada, los compuestos de la presente invención, que se pueden utilizar en una forma hidratada adecuada, o las composiciones farmacéuticas de la presente invención, se formulan en formas de dosificación farmacéuticamente aceptables mediante métodos convencionales.
- Los niveles de dosificación reales de los ingredientes activos en las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden variar para obtener una cantidad del ingrediente activo que es efectiva para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente particular, composición y modo de administración, sin ser tóxico para el paciente.
- 20 El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención empleado, o el éster, sal o amida del mismo, ruta de administración, tiempo de administración, velocidad de excreción del compuesto particular que se emplea, duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos o materiales utilizados en combinación con el compuesto particular empleado, edad, sexo, peso, condición, salud general e historial médico previo del paciente que se está tratando, y factores bien conocidos en las técnicas médicas.
- 25 Un médico o veterinario puede determinar y prescribir la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, el médico o veterinario podría comenzar con dosis de los compuestos de la invención empleados en la composición farmacéutica a niveles más bajos que los requeridos con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosificación hasta que se consiga el efecto deseado.
- 30 En general, una dosis diaria adecuada de un compuesto de la invención será la cantidad del compuesto que es la dosis más baja eficaz para producir un efecto terapéutico. Dicha dosis efectiva dependerá generalmente de los factores descritos anteriormente. Generalmente, las dosis intravenosas y subcutáneas de los compuestos de esta invención para un paciente, cuando se utiliza para los efectos analgésicos indicados, variarán desde aproximadamente 0.0001 hasta aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, más preferiblemente desde aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 50 mg por kg por día, y aún más preferiblemente desde aproximadamente 1.0 hasta aproximadamente 100 mg por kg por día. Una cantidad efectiva es esa cantidad que trata una infección viral.
- 35 Si se desea, la dosis diaria efectiva del compuesto activo se puede administrar como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más subdosis administradas por separado a intervalos apropiados durante todo el día, opcionalmente, en formas de dosificación unitarias.
- 40 Aunque es posible para un compuesto de la presente invención ser administrado solo, es preferible administrar el compuesto como una composición farmacéutica.
- Ejemplos
- Los métodos generales y experimentales para la preparación de compuestos de la presente invención se exponen a continuación.
- 45 Ejemplo I: Síntesis químicas
- A menos que se indique lo contrario, para los Ejemplos I.B.-I.C., la eliminación del solvente se llevó a cabo utilizando un evaporador rotatorio Büchi. La cromatografía analítica se llevó a cabo utilizando una HPLC 1100 serie Hewlett Packard y se llevó a cabo cromatografía preparativa utilizando ya sea instrumento Biotage SP4 o un instrumento Aguas 4000 utilizando columnaas Chiralpak IA bajo condiciones neutras, a menos que se indique lo contrario. Los espectros de masas se registraron utilizando sistema Aguas Acquity UPLC/MS. Se utilizó equipo similar comparable para los ejemplos restantes.
- 50 Los espectros de RMN se registraron utilizando un espectrómetro Varian 400 MHz (Ejemplos I.B.-I.C.) o utilizando un espectrómetro de Fluka 400 MHz (Ejemplos I.A. y I.D.).
- Ejemplo I.A.: ER-876437

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

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

## Esquema I



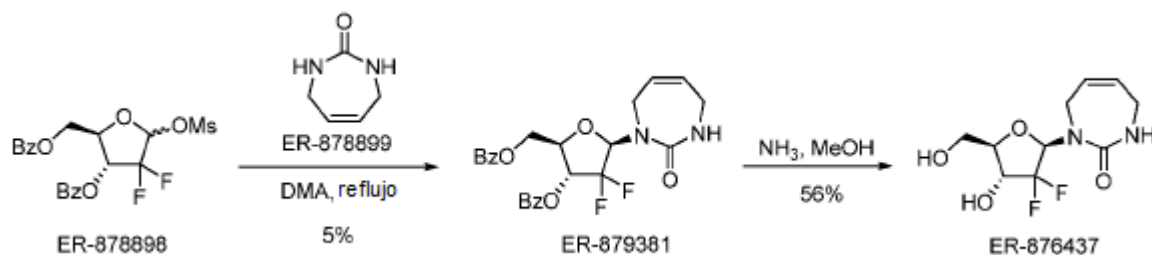
5

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

## 10 I.A.2.: Preparación de ER-876437

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

## Esquema II



15

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

20

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

25

30

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

35

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

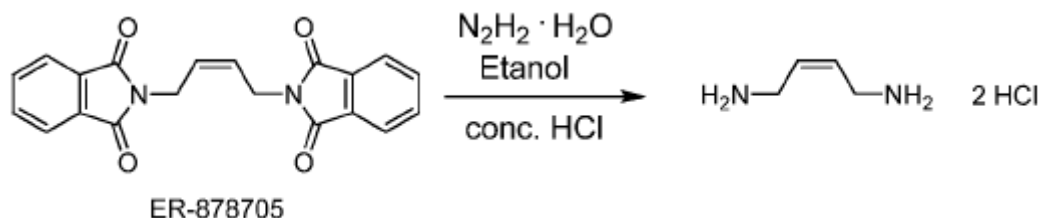
Se pueden obtener de mejoras marginales al rendimiento de la reacción de acompañamiento de ER-878899 al mesilato al cambiar el solvente de reacción. Cuando se utiliza diglima como el solvente, se puede observar una mejora del 15% de rendimiento.

Ejemplo I.B.: ER-876437

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

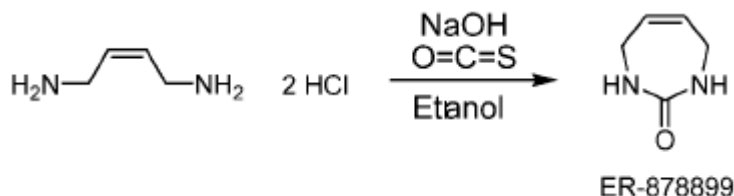
El ER-878705 (mostrado adelante) se preparó siguiendo el procedimiento descrito en Feigenbaum, A. and Lehn, J.M., Bull. Soc. Chim. Fr., 1973, 198-202 y Liu, P.S., Marquez, V.E., Driscoll, J.S. and Fuller, R.W., J. Med. Chem., 1981, 24, 662-666.

Esquema III



A una suspensión blanca de ER-878705 (79.7 g, 230 mmol) en etanol (470 mL) en un matraz de 2 L de dos cuellos equipado con agitador mecánico se agregó hidrato de hidrazina (23.5 mL, 483 mmol) a temperatura ambiente. La suspensión blanca resultante se calentó a 50°C durante 30 minutos para obtener una solución clara de color amarillo claro. Cuando empezó a aparecer el precipitado blanco, la mezcla se calentó a 60°C durante 3 horas y la agitación se hace muy difícil. Después de que se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se agregó solución de cloruro de hidrógeno concentrada (40.3 mL, 483 mmol) y la mezcla se agitó fácilmente. Después de agitación durante 30 minutos, la mezcla se filtró y se lavó con 5 x 200 mL de agua. El filtrado se concentró hasta un sólido seco. El sólido seco se suspendió en 200 mL de etanol, y se agitó durante 1 hora para hacer una buena suspensión. La suspensión se filtró y se lavó con 3 x 100 mL de etanol puro. La torta (gránulos blancos similares a cristal) se recolectó y se secó para dar 34.6 (94%) g de sal de di-clorhidrato de 1,4-diamino-2-buteno. La <sup>1</sup>H RMN mostró que el producto contenía ftalhidrazida como una impureza menor en la relación de 5:1. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 5.85 (ddd, J=1.6, 1.8 y 4.4 Hz, 2H), 3.69 (d, J=4.4, 4H).

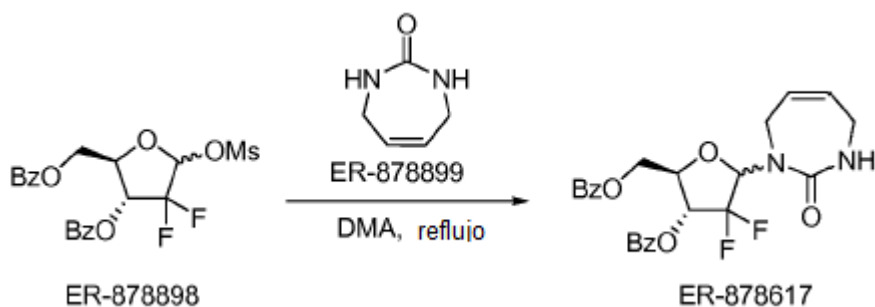
Esquema IV



A una suspensión de sal de diclorhidrato de 1,4-diamino-2-buteno (22.7 g, 143 mmol) en etanol (1.2 L) en un matraz de 2 L de dos cuellos se agregó solución de NaOH 1.0 M (330 mL, 330 mmol). Luego de la adición de NaOH a la suspensión, la mezcla se vuelve una solución transparente e incolora. La solución se calentó a 70°C y se burbujeó sulfuro de carbonilo a través de la mezcla caliente. Después de esto, la mezcla se calentó a 80°C a reflujo. Después de 3 horas, se detiene el burbujeo y la mezcla se calentó 1.5 horas adicionales, se enfrió a temperatura ambiente y se neutralizó mediante adición de HCl 1.0 N (50 mmol). La mezcla se concentró a un sólido gris seco. El sólido se suspendió en 1 L de metanol, se agitó durante 2 horas, se filtró y se lavó con metanol. El filtrado se concentró a aproximadamente 200 mL de volumen, se enfrió a 0°C, se filtró y se lavó con metanol frío. El sólido se recolectó y se secó para dar 5.05 g de producto. El <sup>1</sup>H RMN mostró que contenía muy poca impureza de ftalhidrazida en la relación de 13:1. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 5.91 (ddd, J=0.8, 1.2 y 1.6 Hz, 2H), 3.67 (d, J=4.0, 4H). El licor madre se concentró a aproximadamente 30 mL, se enfrió a -10°C, se filtró y se lavó con MeOH frío (-10°C). El sólido se recolectó y se secó para dar 7.10 g de producto con menor contaminación de ftalhidrazida en la relación de 4:1 según se determina por <sup>1</sup>H RMN.

I.B.2.: Preparación de ER-878617

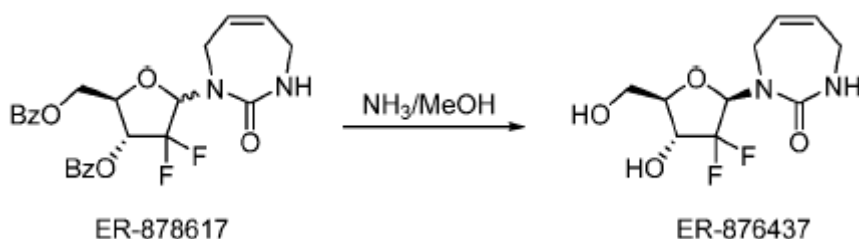
Esquema V



5 Como se representó en el Esquema V anterior, una solución de ER-878898 (1.33 g, 2.92 mmol, disponible de Waterstone o Depew Fine Chemical) y ER-878899 (200.0 mg, 1.78 mmol) en DMA seco (30 mL) se calentó y se agitó a 180-190°C (temperatura de baño de aceite) cuando el DMA se destiló lentamente. 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona azeotropado adicional (800.0 mg, 7.13 mmol) en DMA (50 mL) se agregó con bomba de jeringa más de 2 horas durante esta destilación de DMA. Después de adición de todo el material, la reacción se mantuvo a reflujo durante 30 minutos y se dejó enfriar. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo se purificó con cromatografía para dar ER-878617 (624.8 mg, 45%) como una mezcla de dos epímeros.

I.B.3.: Preparación de ER-876437

10 Esquema VI



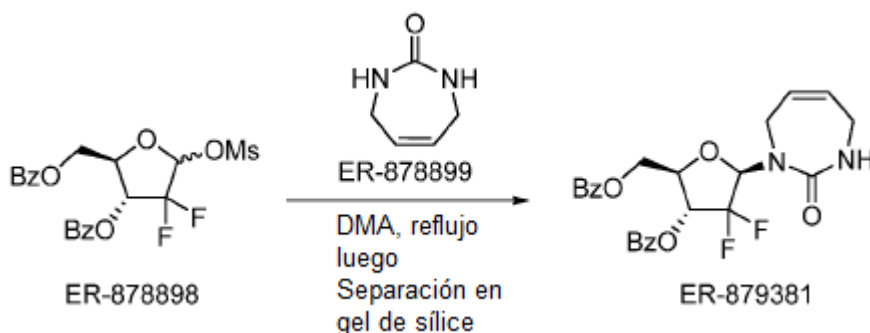
15 Como se representó en el Esquema VI anterior, una solución de ER-878617 (624.8 mg, 1.32 mmol) en amoníaco 7 M/metanol (53 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo se purificó con TLC preparativa para dar un producto crudo (274.2 mg, 78%) como la mezcla de dos epímeros. La mezcla de dos epímeros se separó sobre cromatografía preparativa con columna Chiralpak IA (Daicel Chemical Industries, Ltd., Tokio Japón) para dar ER-876437 (160.2 mg).

Ejemplo I.C.: ER-876437

I.C.1.: Preparación de ER-879381

20 El ER-879381 se elaboró de acuerdo con el Esquema VII como se muestra adelante. ER-878899 se preparó como se describió anteriormente en el Ejemplo I.B.1.

Esquema VII



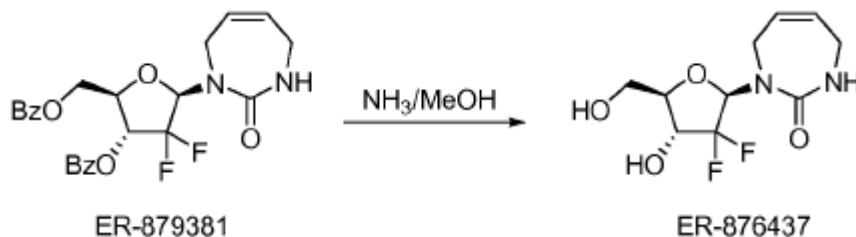
25 Como se representó en el Esquema VII anterior, una solución de ER-878898 (8.0 g, 18 mmol, disponible de Waterstone o Depew Fine Chemical) y ER-878899 (1.2 g, 10.7 mmol) en DMA seco (100 mL) se calentó y se agitó a 200-220°C (temperatura de baño de aceite) cuando el DMA se destiló lentamente. Se agregó. 1,3,4,7-tetrahidro-2H-1,3-diazepin-2-ona azeotropado adicional (4.8 g, 42.9 mmol) en DMA (350 mL) a través de una bomba de jeringa más de 2 horas durante esta destilación de DMA. Después de adición de todo el material, la reacción se mantuvo a reflujo durante 30

minutos y se dejó enfriar. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo se combinó con el residuo desde un experimento separado conducido sobre la misma escala utilizando el mismo procedimiento. El residuo combinado se purificó con cromatografía en gel de sílice (fase móvil: 50-100% AcOEt/Heptano) para dar una mezcla de dos epímeros (9.38 g). La mezcla de dos epímeros se separó adicionalmente con cromatografía en gel de sílice (fase móvil: tolueno:acetonitrilo = 7:1) para producir ER-879381 (3.94 g).

I.C.2.: Preparación de ER-876437

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

Esquema VIII

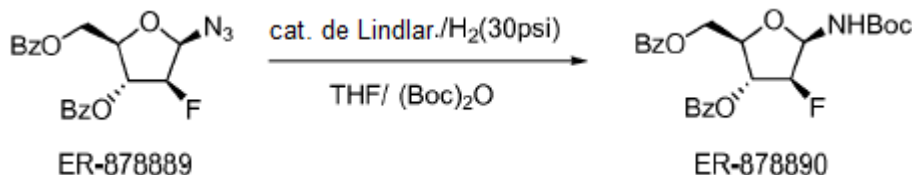


10 Como se representó en el Esquema VIII anterior, una solución de ER-879381 (3.8 g, 8.0 mmol) en amoníaco 7 M/metanol (100 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. La mezcla de reacción se concentró en vacío y el residuo se purificó con cromatografía (fase móvil: 50-100% AcOEt/Heptano)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

Ejemplo I.D.: ER-878895

15 I.D.1.: Preparación de ER-878890

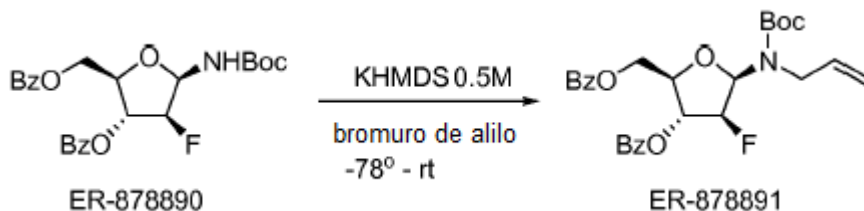
Esquema IX



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

I.D.2.: Preparación de ER-878891

25 Esquema X



30 Como se representó en el Esquema X anterior, a una solución agitada de ER-878890 (1.6 g, 3.48 mmol) en THF/DMF (100 mL/30 mL) se agregó 0.5 M hexametildisilazida de potasio (KHMDS) en tolueno (8.5 mL, 4.25 mmol) en forma de gotas a aproximadamente -78°C (hielo seco/baño de acetona), seguido por adición de bromuro de alilo (0.4 mL, 4.6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a medida que el hielo seco-baño de acetona se calentó lentamente a temperatura ambiente (~25°C). La reacción se apagó con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con solución salina y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La solución seca se filtró y se evaporó. El residuo se purificó con cromatografía radial para dar ER-878891 (0.64 g).

## I.D.3.: Preparación de ER-878892

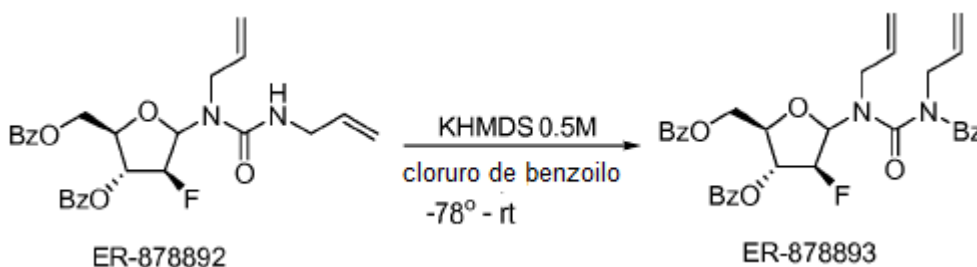
## Esquema XI



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

## 10 I.D.4.: Preparación de ER-878893

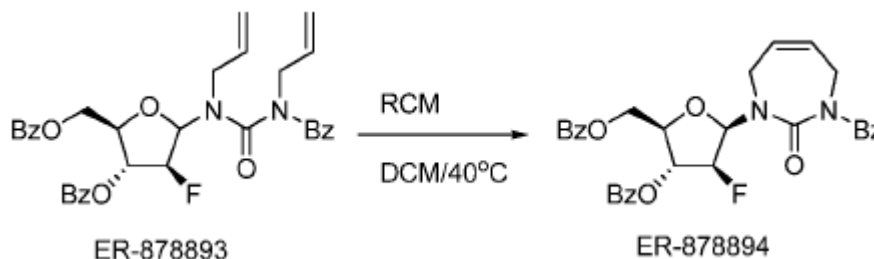
## Esquema XII



15 Como se representó en el Esquema XII anterior, a una solución agitada de ER-878892 (0.27 g, 0.56 mmol) en THF (10 mL) bajo nitrógeno se agregó KHMDS 0.5 M en tolueno (1.5 mL, 0.75 mmol) a aproximadamente -78°C (hielo seco/baño de acetona), seguido por adición de cloruro de benzoilo (0.6 mL, 5.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche y se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. La reacción se apagó con cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se lavó con solución salina, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó. El residuo se purificó con cromatografía radial para dar ER-878893 (0.13 g, 50% de rendimiento) como una mezcla de anómeros.

## 20 I.D.5.: Preparación de ER-878894

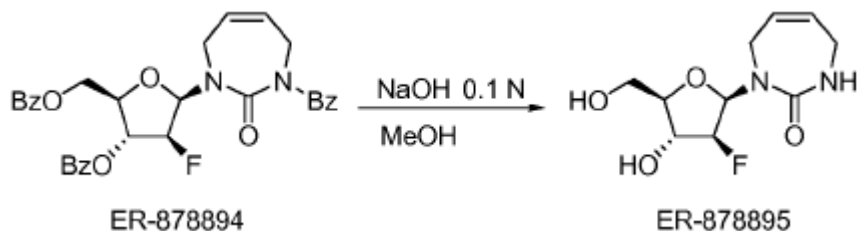
## Esquema XIII



25 Como se representó en el Esquema XIII anterior, a una solución desgasificada de ER-878893 (0.13 g, 0.22 mmol) en DCM (120 mL) se agregó catalizador de Grubbs de 2ª generación (~30 mg, disponible de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) bajo nitrógeno. Este catalizador proporcionó la metátesis de cierre del anillo (RCM). La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 1 hora seguida por evaporación del solvente. Al residuo disuelto en AcOEt (20 mL) se agregó depurador de Siliciclo Si-triamina Pd (Silicycle Inc.) y se agitó vigorosamente durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El aceite viscoso amarillo pálido resultante se purificó con cromatografía radial y se determinó que el compuesto menos polar es ER- 878894 (40 mg) que se cristalizó en reposo.

## 30 I.D.6.: Preparación de ER-878895

## Esquema XIV



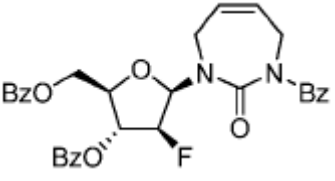
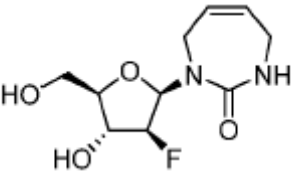
5 Como se representó en el Esquema XIV anterior, una solución de ER-878894 (65 mg, 0.14 mmol) en NaOH 0.1 N /MeOH (3 mL) se agitó durante 30 minutos hasta que todos los puntos activos de UV desaparecieron mediante. El solvente se eliminó en vacío y el sólido crudo se disolvió en agua (2 mL). La solución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

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

Tabla 1. Datos analíticos

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



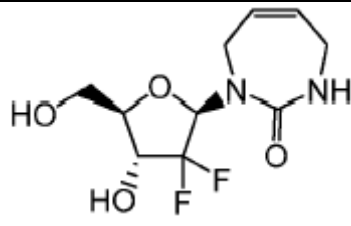
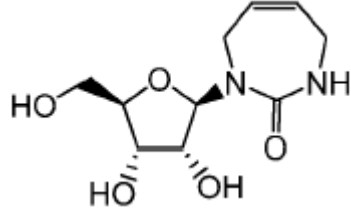
Estructura	ER-#	Datos analíticos
	878894 libre de sal	<sup>1</sup> H RMN: (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ 8.12 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.98 (dd, J=8.2, 1.2 Hz, 2H), 7.6 (m, 5H), 7.45 (m, 6H), 5.93 (dd, J=24.4, 3 Hz, 1H), 5.79 (s, 2H), 5.59 (dd, J=18.6, 3.2 Hz, 1H), 5.14 (dd, J=50.8, 2.8 Hz, 1H), 4.85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

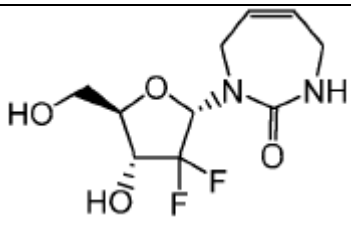
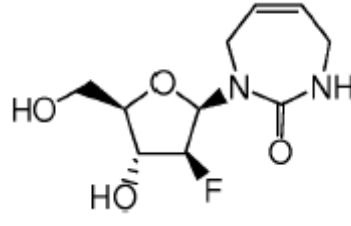
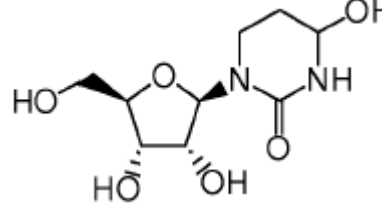
## Ejemplo II: Ensayo para inhibición de Citidina Deaminasa (CDA)

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

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

Tabla 2. Potencia inhibidora de los compuestos de prueba

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

Estructura	Número ER	IC <sub>50</sub> (nM)
	878519	1616 ± 643 n=3
	878895	140 n=1
	876404	113 n=2

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

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

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

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

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

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

Tabla 4. Parámetros PK de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de administración IV

Parámetro	Unidades	ER-876437	ER-876400
Dosis	mg/kg	10.0	10.0
$t_{1/2}$	hr	6.1	16.1
$AUC_{0-t}$	ng•hr/mL	12893	18838
$AUC_{0-\infty}$	ng•hr/mL	13071	20999
$AUC_{0-\infty}/D$	ng•hr/mL/D	1307	2100
$AUC_{Extrap}$	%	1.4	10.3
CL	L/kg/hr	0.77	0.48
Vss	L/kg	1.64	3.2

5 Tabla 5. Parámetros PK de ER-876437 y ER-876400 en ratones después de administración PO

Parámetro	Unidades	ER-876437	ER-876400
Dosis	mg/kg	10.0	10.0
$C_{max}$	ng/mL	8597	7859
$t_{max}$	hr	0.167	0.5
$AUC_{0-t}$	ng•hr/mL	8579	13160
$AUC_{0-\infty}$	ng•hr/mL	9499	NC
$AUC_{0-\infty}/D$	ng•hr/mL/D	950	NC
$AUC_{Extrap}$	%	9.7	NC
$t_{1/2}$	hr	16.3	NC
F	%	66.5 <sup>a</sup>	69.9 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Calculado con base en  $AUC_{0-t}$

NC = No calculado debido a datos insuficientes

10 Los resultados del presente estudio sugieren que los perfiles de PK de ER-876437 y ER-876400 en ratones machos BALB-C son similares. Después de 10 mg/kg IV de PK de ambos ER-876437 y ER-876400 se puede caracterizar por la distribución moderada ( $V_{ss} = 1.64$  y  $3.20$  L/kg, respectivamente), depuración lenta ( $CL = 0.77$  y  $0.48$  L/hr/kg, respectivamente), y eliminación lenta ( $t_{1/2} = 6.1$  y  $16.1$  h, respectivamente).

15 Las exposiciones generales ( $AUC_{0-\infty}$ ) después de administración IV de ER-876437 y ER-876400 a ratones eran  $13071$  y  $20999$  ng•h/ml, respectivamente, que resultó en exposiciones normalizadas de dosis ( $AUC_{0-\infty}/D$ ) de respectivamente  $1307$  y  $2100$  mL/g. Después de  $10$  mg/kg PO, la  $C_{max}$  de ER-876437 y ER-876400 fue, respectivamente,  $8597$  y  $7859$  ng/mL, y se observaron a un  $t_{max}$  de respectivamente,  $1.0$  y  $2.0$  hr. El  $AUC_{0-t}$  después de administración PO de  $10$  mg/kg fue  $8579$  y  $13160$  ng•h/ml para ER-876437 y ER-876400, respectivamente. El  $AUC_{0-\infty}$  de ER-876437 fue  $9499$  ng•h/ml y el  $t_{1/2}$  fue de  $16.3$  h. Debido a datos insuficientes en la fase de eliminación terminal de estos parámetros no se pudieron determinar para ER-876400. Adicionalmente, el  $t_{1/2}$  para ER-876437 después de administración PO fue aproximadamente 2.5 veces mayor que después de administración IV.

Las biodisponibilidades (F%) de ER-876437 y ER-876400 fueron similares:  $66.5$  y  $69.9\%$ , respectivamente.

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

Ejemplo IV: Estabilidad de ER-876400 y ER-876437 en fluido gástrico simulado a 37°C

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

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

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

20 Los análisis de HPLC se realizaron utilizando un sistema de suministro de solvente Waters UPLC con detección CAD Corona. La columna de HPLC (Waters Atlantis HHS T3 2.1 x 100 mm, 1.8 um) se mantuvo a 40°C y equilibrada previamente con una solución que contenía agua al 98% y acetonitrilo al 2%. La temperatura controlada del automuestreador se mantuvo a 37°C. La velocidad de flujo para la fase móvil de agua/MeCN fue 0.65 mL/min, con un gradiente después de la inyección de muestra (5 µL) como sigue:

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

25 Por lo tanto, en estos estudios de degradación HPLC-SGF, una alícuota de 5 µL se tomó de la solución de SGF/analito en diversos momentos y se cargó en la columna de HPLC con las características y condiciones descritas anteriormente. La fase móvil de agua/MeCN se aplicó a la columna con la velocidad de flujo descrita anteriormente y se recogieron el gradiente y los cromatogramas de HPLC. Después de 3.5 minutos, la columna se reequilibró con agua al 98%/MeCN al 2% durante 1.5 minutos.

35 Los cromatogramas de HPLC de cualquiera de ER-876400 o ER-876437 en agua proporcionaron identificación del pico atribuido a ER-876400 o ER-876437. Trazas de HPLC de SGF sin ningún ER-876400 o ER-876437 proporcionaron cromatogramas en blanco (o de fondo) que se podrían utilizar para identificar aquellos picos relacionados con el SGF y distinguir esos picos de los picos de los analitos. Los cromatogramas se recolectaron en los momentos identificados en las Tablas 6 y 7, y el porcentaje correspondiente de la muestra atribuido respectivamente a cualquiera de ER-876400 o ER-876437 se proporcionan para cada tiempo de muestreo. Estos resultados también se representan como diagramas de las Figuras 1 y 2.

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

Tiempo de análisis (horas: minutos: segundos)	% de ER-876400 (tiempo de retención pico: 1.46 min)
0:00:00	84.04
0:00:30	19.59
0:06:08	17.04
0:11:45	16.72
0:17:23	15.17

## ES 2 628 580 T3

0:23:01	14.20
0:28:38	13.23
0:34:16	12.51
0:39:54	14.05
0:45:33	11.42
0:51:10	10.71
0:56:48	8.87
1:02:27	9.14
1:08:07	8.81
1:13:46	7.66
1:19:23	4.05
1:25:01	6.44
1:30:38	5.92
1:36:16	5.72
1:41:53	5.69
1:47:32	4.98
1:53:10	4.51
1:58:49	3.85
2:04:28	3.59
2:21:24	2.82
2:49:37	1.52
3:17:48	0.81
3:23:28	0.62
3:46:00	0.39
3:51:38	0.25

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

Tiempo de análisis (horas: minutos: segundos)	% de ER -876437 (tiempo de retención pico: 2.90 min)
0:00:00	92.18
0:00:30	85.88
0:06:08	85.72
0:11:45	86.46
0:17:24	86.38
0:23:02	83.22
0:28:39	83.48
0:34:17	83.80

# ES 2 628 580 T3

Tiempo de análisis (horas: minutos: segundos)	% de ER -876437 (tiempo de retención pico: 2.90 min)
0:39:54	84.16
0:45:32	82.62
0:51:10	82.41
0:56:47	82.45
1:02:26	82.45
1:08:04	82.55
1:13:41	83.11
1:19:19	81.82
1:24:56	81.24
1:30:33	79.20
1:36:10	79.14
1:41:47	78.47
1:47:24	77.88
1:53:02	78.29
1:58:39	78.56
2:04:16	77.21
2:21:12	76.06
2:26:50	77.34
2:49:21	75.34
3:17:30	72.37
3:51:16	50.13
4:19:26	51.88
4:47:38	48.95
5:21:25	45.19
5:49:35	47.44
6:17:45	44.94
6:51:31	43.29
7:19:40	41.85
7:47:22	41.72
8:21:11	36.89
8:49:19	37.52
9:17:30	36.34
9:51:17	34.61
10:19:29	31.94
10:47:39	32.33

Tiempo de análisis (horas: minutos: segundos)	% de ER -876437 (tiempo de retención pico: 2.90 min)
11:15:53	29.85
11:49:44	29.94
12:17:54	27.99
12:46:10	27.39
13:20:01	26.14

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

Ejemplo V: Efecto de ER-876437 en decitabina en la supervivencia de modelo de linfoma L1210 de murino

- 5 El propósito de este estudio fue determinar si ER-876437 mejora la eficacia oral de decitabina en el modelo de supervivencia L1210 en ratones.

Preparación de células L1210: se prepararon células de ascitis L1210 al pasarlas en ratones por lo menos tres veces de la siguiente manera. Cada ratón hembra CD2F1 fue inyectada por vía intraperitoneal (IP) con aproximadamente 10<sup>5</sup> células de ascitis L1210. Después de una semana, se sacrificó el ratón (asfixia mediante CO<sub>2</sub>). El ratón fue colocado sobre su parte posterior, se limpió su superficie de vientre con toallitas con alcohol, y se hizo una pequeña incisión en la cavidad peritoneal. 2 ml de hielo frío BSA al 2.1% enfriada con hielo en solución salina se inyectaron en la cavidad y luego se retiró el fluido y se transfirió con una jeringa de 3 cc 18G en un tubo estéril limpio y mantener en hielo. El fluido se diluyó 1:10 en BSA al 2.1% en solución salina y se puede agregar una gota de reactivo lítico Zap globin II (disponible de Beckman Coulter, Inc.) a 1 ml de ascitis diluidas. Las ascitis diluidas (diluidas 1:10 de nuevo) se contaron en un hematocitómetro y el número de células por mL se calculó. Alrededor de 10<sup>5</sup> células L1210 se utilizaron para un pasaje posterior para otro pasaje de ratón. O, una solución madre de ascitis L1210 en solución de BSA se diluyó a 1x10<sup>4</sup> células/0.1 ml para su uso en ratones de estudio.

Preparación de los ratones de estudio: 35 ratones hembra CD2F1 de 6-7 semanas de edad se separaron al azar en los 7 grupos identificados en la Tabla 8. Los ratones se prepararon con inyección intravenosa (IV) de la ascitis L1210 (preparada como se describió anteriormente) un día antes de comenzar la dosificación. Los ratones se inyectaron con 0.1 ml de solución de células a través de la vena caudal con una aguja 27G. La inyección IV total para todos los ratones tomó aproximadamente 50 minutos.

Los ratones se dosificaron con vehículo o ER-876437 per os (PO, es decir, por vía oral) 30 minutos antes de la dosificación con sustrato de decitabina. El ER-876437 se preparó a 1 mg/ml en PBS y después se diluyó a 0.1 mg/ml, y 0.01 mg/ml en PBS para las dosis más bajas.

La decitabina se preparó en un 1 mg/ml de solución madre en PBS y diluir adecuadamente para lograr una solución de dosificación de 0.01 mg/ml. Se preparó ER-876437 al comienzo de cada día de dosificación y se almacenó a 4°C. La decitabina se preparó fresco dos veces al día, justo antes de dosificación. Todas las soluciones se almacenaron en hielo, mientras que se dosifican. Los ratones se dosificaron (por vía intraperitoneal (IP) o per os (por vía oral, PO)) dos veces al día (8 horas de diferencia) durante 4 días consecutivos. El esquema de dosificación final y decitabina total y dosis de ER-876437 se describen en la Tabla 8.

Tabla 8: Esquema de dosificación

Grupo #	Fármaco	Dosis de decitabina (rte Adm)	Dosis de decitabina acumulada	Dosis de ER-876437	Dosis de ER-876437 acumulada
1	Vehículo	Veh	0 mg/kg	Veh	0 mg/kg
2	ER-876437	Veh	0 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg
3	Decitabina	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	Veh	0 mg/kg
4	decitabina/ER-876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg
5	decitabina/ER-876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	1 mg/kg	8 mg/kg

6	decitabina/ER-876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	10 mg/kg	80 mg/kg
7	decitabina	0.1 mg/kg IP	0.8 mg/kg	Veh	0 mg/kg

Supervivencia y autopsia: se observaron ratones para supervivencia y pesar diariamente durante la duración del estudio (30 días). Los ratones muertos se sometieron a autopsia y se observaron para presencia de tumores en órganos. Se determinaron las muertes tumorales por pesos del hígado mayores de 1.6 g y pesos de bazo mayores de 150 mg según Covey JM y Zaharko DS, Eur J Cancer Clin Oncol, Vol. 21 p. 109-117, 1985.

Resultados:

Los ratones dosificados con decitabina y decitabina más ER-876437 vivieron más tiempo que los controles de vehículo y ER-876437 solo (Tabla 9 y 10, p <0,05). No se observó respuesta a la dosis con ER-876437 en combinación con decitabina.

10 0.1 mg/kg de decitabina PO fue ligeramente menos efectiva que 0.1 mg/kg de decitabina IP (Tablas 9 y 10, p = 0,0047). La administración conjunta de ER-876437 con 0.1 mg/kg de decitabina independientemente de la dosis de ER-876437 aumentó significativamente la supervivencia (días) en comparación con 0.1 mg/kg de decitabina PO o IP (Tablas 9 y 10, p <0,05), pero no hubo respuesta a la dosis entre dosis de ER-876437.

15 La Tabla 9 enumera la supervivencia media de cada grupo de tratamiento y el porcentaje de ILS (aumento de la vida útil) en comparación con el grupo de vehículos. Todos los grupos tratados vivieron significativamente más tiempo que los controles de vehículo y los grupos de inhibidores CDA solos (p <0,05).

En la tabla 9 se enumeran el peso de los hígados y bazos de ratones en la autopsia. Todos los ratones murieron de una muerte relacionada con la "carga tumoral" como se indica por los pesos de hígado mayores de 1,6 gramos y los pesos de bazo mayores de 150 mg (Covey et al Eur J Cancer Oncol 1985).

20 Se notaron observaciones generales sobre la apariencia general de las cavidades peritoneal y torácica; Sin embargo, no hubo un análisis formal de estas observaciones.

Tabla 9. Efecto de decitabina y ER-876437 sobre la supervivencia y los pesos de hígado y bazo en el Modelo de Supervivencia L1210 IV

Grupo	Supervivencia media (días) ± SD	% ILS (Aumento de la vida útil)	Peso medio del hígado (g) ± SD	Peso medio del bazo (g) ± SD
Veh/Veh	7.4 ± 0.55		1.79 ± 0.34	0.35 ± 0.03
Veh/ decitabina 0.1mg/kg PO	11.2 ± 0.45	51.35	2.17 ± 0.1	0.34 ± 0.04
Veh/ decitabina 0.1mg/kg IP	13.4 ± 0.89	81.08	1.81 ± 0.25	0.37 ± 0.14
ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	15.8 ± 1.48	113.51	1.92 ± 0.16	0.24 ± 0.04
ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	16.6 ± 1.52	124.32	2.2 ± 0.46	0.28 ± 0.13
ER-876437 10mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	17.2 ± 2.39	132.43	2.18 ± 0.31	0.38 ± 0.12
ER-876437 10mg/kg/Veh	7.6 ± 0.89	2.70	2.02 ± 0.07	0.37 ± 0.04

\* %ILS =  $\frac{\text{supervivencia media de experimental (días)} - \text{supervivencia media de controles (días)}}{\text{Supervivencia media de control (días)}} \times 100$

25 Supervivencia media de control (días)



Tabla 10. Análisis estadístico (Registro Rango de prueba según Prism GraphPad)

Comparación	Valor P
Control vs 0.1mg/kg decitabina PO	0.0023
Control vs 0.1mg/kg decitabina IP	0.0023
Control vs ER-876437 solo	0.601
decitabina 0.1mg/kg PO vs. decitabina 0.1mg/kg IP	0.0047
Control vs ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0023
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0016
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0016
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 10mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0016
decitabina 0.1mg/kg IP vs. ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0119
decitabina 0.1mg/kg IP vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0034
decitabina 0.1mg/kg IP vs. ER-876437 10mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0034
ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.4069
ER-876437 1mg/kg/ decitabina 1mg/kg PO vs. ER-876437 10mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.6131

Conclusion:

5 Decitabina más ER-876437 fue más eficaz en el modelo de supervivencia L1210 IV que la decitabina sola independientemente de la administración de la ruta de decitabina (PO o IP). No hubo respuesta a la dosis entre 0.1 mg/kg, 1 mg/kg y 10 mg/kg de los grupos ER-876437 más decitabina. Este experimento se repitió en el Ejemplo VI pero utilizando dosis más bajas de ER-876437 para determinar la dosis mínimamente efectiva.

Ejemplo VI Efecto de ER-876437 sobre Decitabina en el modelo de linfoma de supervivencia murino L1210

10 Este ejemplo siguió todos los métodos y protocolos del Ejemplo V con los siguientes cambios: 40 ratones hembra CD2F1 de 6-7 semanas de edad se separaron aleatoriamente en los 8 grupos identificados en la Tabla 11. La preparación de ratones de estudio con inyección IV de ascitis L1210 tomó aproximadamente 60 minutos. Se preparó ER-876437 a 1 mg/ml en PBS y luego se diluyó a 0.1 mg/ml y 0.01 mg/ml y 0.001 mg/ml en PBS. Todas las soluciones se almacenaron en hielo durante la dosificación. Los ratones se dosificaron (IP o PO) dos veces al día (7 u 8 horas de separación) durante 4 días consecutivos.

15 Tabla 11. Esquema de dosificación

Grupo #	Fármaco	Dosis de Decitabina (rte Adm)	Dosis acumulativa de Decitabina	Dosis de ER-876437	Dosis de ER-876437
1	Vehículo	Vehículo	0 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
2	ER-876437	Vehículo	0 mg/kg	1 mg/kg	8 mg/kg
3	decitabina	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	Veh	0 mg/kg
4	decitabina/ER- 876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	0.01 mg/kg	0.08 mg/kg
5	decitabina/ER- 876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	0.1 mg/kg	0.8 mg/kg
6	decitabina/ER- 876437	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	1 mg/kg	8 mg/kg

7	decitabina	0.1 mg/kg IP	0.8 mg/kg	Vehículo	0 mg/kg
8*	decitabina	0.1 mg/kg PO	0.8 mg/kg	Vehículo	0

\* Dosed dos veces al día, 8 horas aparte. Todos los demás grupos se dosificaron dos veces al día, con 7 horas de intervalo.

Resultados:

Los ratones dosificados con decitabina y decitabina más ER-876437 vivieron más tiempo que los controles vehículo y ER-876437 solo (Tablas 12 y 13, p <0.05). No hubo diferencias en la supervivencia de ratones dosificados con 0.1 mg/kg de decitabina PO cuando se dosificaron 7 u 8 horas de separación (Tablas 12 y 13).

0.1 mg/kg de decitabina PO fue menos efectiva que 0.1 mg/kg de IP decitabina (Tablas 12 y 13, p = 0,0086). La coadministración de 0.01 mg/kg de ER-876437 con 0.1 mg/kg de decitabina PO no tuvo efecto sobre la prolongación de la supervivencia en ratones leucémicos L1210 en comparación con decitabina PO sol. La coadministración de 0.1 mg/kg y 1 mg/kg de ER-876437 con 0.1 mg/kg de decitabina PO mejoró significativamente la supervivencia (días) en comparación con 0.1 mg/kg de decitabina PO solo. La coadministración de 0.1 mg/kg y 1 mg/kg con 0.1 mg/kg de decitabina PO sola no fue estadísticamente diferente de 0.1 mg/kg de decitabina administrada vía IP. ER-876437 tuvo una respuesta de dosis reducida a estas dosis bajas: 0.01 mg/kg fue ineficaz para mejorar el efecto de la decitabina administrada oralmente, mientras que tanto 0.1 mg/kg como 1 mg/kg mejoraron significativamente la supervivencia (p = 0,04 y p= 0,005 respectivamente; Tabla 13). Las dos dosis más altas de ER-876437 en combinación con decitabina PO presentaron una ligera respuesta a la dosis (p = 0,09, Tabla 13).

La Tabla 12 muestra la media de supervivencia de cada grupo de tratamiento y el porcentaje ILS (aumento de la vida útil) en comparación con el grupo Vehículo. Todos los grupos tratados viven significativamente más tiempo que los controles Vehículo y los grupos que recibieron ER-876437 solamente (p <0,05).

En la tabla 12 figuran el peso de los hígados y bazo de ratones en la autopsia. Todos los ratones murieron por una muerte relacionada con la "carga tumoral" como se indica por los pesos de hígado mayores de 1,6 gramos y los pesos de bazo mayores de 150 mg (Covey JM and Zaharko DS, Eur J Cancer Clin Oncol, Vol. 21 p. 109-117, 1985).

Se notaron observaciones generales sobre la apariencia general de las cavidades peritoneal y torácica; Sin embargo, no hubo un análisis formal de estas observaciones.

Tabla 12. Efecto de Decitabina y ER-876437 sobre la supervivencia y los pesos de hígado y bazo en el Modelo de Supervivencia L1210 IV

Grupo	Supervivencia media (días) ± SD	% ILS (Aumento de la vida útil)	Peso medio del hígado (g) ± SD	Peso medio del bazo (g) ± SD
Veh/Veh	8± 0.71		1.95± 0.15	0.35± 0.03
Veh/ decitabina 0.1mg/kg PO	11.8± 0.84	47.50	2.02± 0.31	0.36 ± 0.11
Veh/ decitabina 0.1mg/kg PO (8 hr.)	11.± ± 0.55	45.00	1.81± 0.41	0.33± 0.06
Veh/ decitabina 0.1mg/kg IP	13.6 ± 0.55	70.00	2.01± 0.41	0.31± 0.07
ER-876437 0.01mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	12 ± 0.0	50.00	2.06 ± 0.23	0.32± 0.04
ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	13.2 ± 0.84	± 5.00	2.28± 0.25	0.35± 0.1
ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	14.2 ± 0.84	77.50	2.24± 0.32	0.34± 0.09
ER-876437 1.0 mg/kg/Veh	8.4± 0.55	5.00	2.04 ± 0.15	0.32± 0.02
Veh: Vehículo only				

\*  $\%ILS = \frac{\text{supervivencia media de experimental (días)} - \text{supervivencia media de grupo de control (días)}}{\text{Supervivencia media de grupo de control (días)}} \times 100$

Supervivencia media de grupo de control (días)

Tabla 13. Análisis estadístico (Registro Rango de prueba según Prism GraphPad)

Comparación	Valor P
Control vs 0.1mg/kg decitabina PO	0.002
Control vs 0.1mg/kg decitabina PO (8 hr.)	0.002
Control vs 0.1mg/kg decitabina IP	0.002
Control vs ER-876437 solo	0.353
Decitabina 0.1mg/kg PO vs. decitabina 0.1mg/kg PO (8 hr.)	0.6015
decitabina 0.1mg/kg PO vs. decitabina 0.1mg/kg IP	0.0086
Control vs ER-876437 0.01mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.002
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 0.01mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.649
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0368
decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0048
decitabina 0.1mg/kg IP vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.1729
ER-876437 0.01mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO vs. ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.014
ER-876437 0.1mg/kg/ decitabina 1mg/kg PO vs. ER-876437 1mg/kg/ decitabina 0.1mg/kg PO	0.0889

5

Conclusión:

La coadministración de ER-876437 tanto a 0.1 mg/kg como a 1 mg/kg con 0.1 mg/kg de decitabina PO aumentó la supervivencia en comparación con decitabina administrada PO sola pero no decitabina administrada IP en el modelo de supervivencia L1210 en ratones. La dosis más baja probada (0.01 mg/kg) no tuvo efecto sobre el aumento de la supervivencia de ratones tratados con 0.1 mg/kg de decitabina cuando se administró vía PO. Las dos dosis más altas de ER-876437 en combinación con decitabina tuvieron una respuesta de dosis leve ( $p = 0,09$ ). La dosis mínimamente efectiva de ER-976437 en este modelo se encontró a 0.1 mg/kg.

10

No hubo diferencia en la supervivencia de ratones dosificados con 0.1 mg/kg de decitabina PO 2x/día qdx4 con 7 horas de diferencia u 8 horas de separación.

15

Ejemplo VII: Efecto de ER-876437 sobre la vida media de la decitabina en presencia de CDA en regulador Tris-HCl a 37°C

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

Materiales y equipo

20

Este ejemplo emplea una columna de HPLC Phenomenex Luna C18 (2) de (100 A 4.6 x 250 mm 5  $\mu$ m). El sistema de suministro de solvente emplea una bomba cuaternaria de HPLC, mezcla de baja presión. Se utilizó un automuestreador que tiene un bucle variable, rango de 0.1 a 100  $\mu$ L y termostato de temperatura controlada. El detector de UV puede emplear un detector de longitud de onda dual, un detector de matriz de diodos, un detector de longitud de onda variable o equivalente, y se puede registrar utilizando software de cromatografía (por ejemplo, software Waters Empower 2 Build 2154, Agilent ChemStation versión A.09.03 o superior para HPLC o equivalente). La balanza analítica empleada fue

25

## ES 2 628 580 T3

capaz de pesar  $\pm 0.1$  mg. Se utilizaron agua de grado HPLC desgasificada y acetonitrilo desgasificado de calidad para HPLC como solventes para las fases móviles.

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

5 Control estándar de decitabina: control de decitabina 0.2 mM se preparó al pesar 2.6 mg de decitabina en un matraz volumétrico de 10 mL. El matraz se diluyó a volumen con regulador Tris-HCl almacenado a 37°C y se mezcló por inversión. La solución se etiquetó como solución madre de decitabina. Se transfirió 1.0 mL de solución madre de decitabina a un matraz volumétrico de 5 mL y se diluyó a volumen con solución de dilución y se mezcló por inversión.

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

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

20 Decitabina con CDA y ER-876437: se transfirió 1.0 mL de solución madre de ER-876437 a un matraz volumétrico de 5 mL. Aproximadamente 2 mL de solución de dilución se transfirió al matraz. 0.125 mL de solución de CDA se transfirió al matraz. 1.0 mL de solución madre de decitabina se transfirió al mismo matraz y se diluyeron a volumen con solución de dilución. La muestra se mezcló por inversión y se inyectó en la HPLC inmediatamente después de preparación.

Parámetros de HPLC: Los estándares anteriores y las muestras se llevaron a cabo en una columna de HPLC utilizando los parámetros se muestra en la Tabla 14.

Tabla 14. Parámetros de HPLC

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

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

## Resultados y Discusión

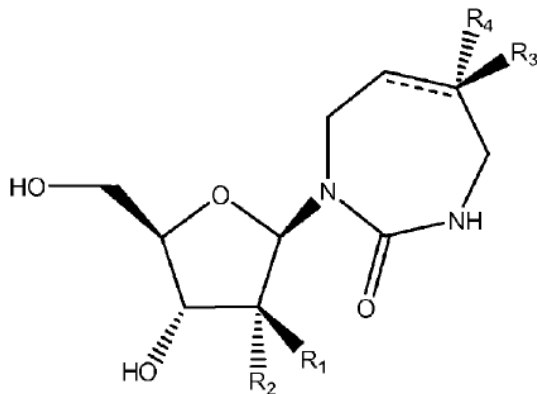
Tabla 15. Resumen de resultados

Soluciones	$T_{1/2}$ estimado
Decitabina en regulador de Tris-HCl a 37°C	9 horas
Decitabina con CDA en regulador de Tris-HCl 37°C	23 minutos
Decitabina con CDA y ER-876437 en regulador de Tris-HCl 37°C	9 horas

- 5 Los niveles de decitabina, en presencia y ausencia de CDA, con o sin ER-876437, en regulador Tris-HCl a 37°C se midieron mediante análisis HPLC utilizando detección UV. Las áreas de los picos de decitabina y ER-876437 en las muestras de estabilidad se midieron y se compararon con las áreas de controles estándar de decitabina y ER-876437, respectivamente. Los resultados se presentaron como porcentaje restante de control.
- 10 Los datos se recolectaron a 205 nm UV debido a que la decitabina y ER-876437 comparten este UV máximo. Véase Figura 3. Los resultados se capturaron cada 35 minutos durante 12 horas y de forma intermitente a partir de entonces debido a la longitud del método analítico. Los cromatogramas de HPLC que muestran trazas superpuestas en los puntos de tiempo especificados se muestran en la Figura 4 y la Figura 5.
- 15 Los cromatogramas de HPLC en estas figuras se muestran con una constante, traslado aditivo para claridad. Aunque se muestra la traza de fondo de partida en el tiempo = 0.00 minutos, cada cromatograma sucesivo se desplaza de forma arbitraria a la derecha del cromatograma anterior (por una cantidad constante de tiempo) con el fin de evitar tener los picos superpuestos. Los tiempos reales asociados con los picos mostrados en estos cromatogramas se pueden realizar al desplazar el comienzo de la traza de cromatograma (a la izquierda) de vuelta al eje vertical donde el tiempo es igual a 0.00 minutos. Del mismo modo, la absorción UV real de cualquier pico se puede realizar al desplazar el valor inicial del cromatograma a la posición donde mAU = 0.00.
- 20 En ausencia de CDA, se observó reducción en la concentración de decitabina al 50% después de 9 horas, mientras que, en presencia de CDA, la concentración de decitabina se redujo a casi 0% de control después de 2 horas y el  $T_{1/2}$  se estimó en aproximadamente 23 minutos. La adición de ER-876437 a la mezcla de incubación dio como resultado la inhibición de la reacción con la reducción de la concentración de decitabina hasta el 50% observada después de 9 horas. Los niveles de ER-876437 no se vieron afectados después de 12 horas de exposición a CDA con decitabina. Un resumen de todos los resultados se muestra en la Figura 6.
- 25 Se encontró que el  $T_{1/2}$  estimado de decitabina en presencia de CDA en regulador de Tris-HCl a 37°C era de 23 minutos. La ER-876437 inhibió casi completamente este efecto dando como resultado el mismo  $T_{1/2}$  que la decitabina sola en regulador de Tris-HCl a 37°C (9 horas).

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende decitabina y un compuesto de la fórmula I:



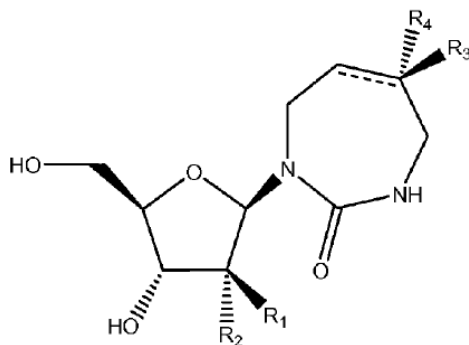
I

en la que:

- 5 uno de  $R_1$  y  $R_2$  es F, y el otro se selecciona de H y F;  
 uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;

en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;  
 o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alqueno  $C_{2-6}$  del mismo.

- 10 2. Un kit de partes que comprende: una composición que comprende decitabina; y una composición que comprende un compuesto de la fórmula I:



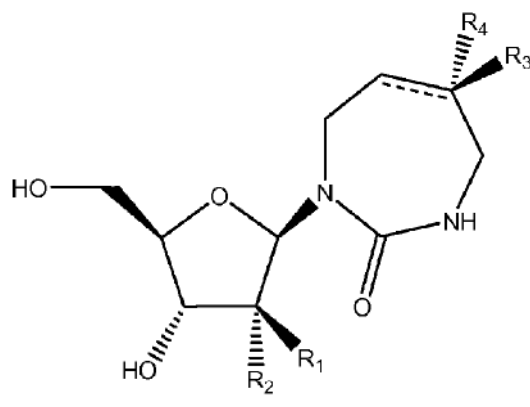
I

en la que:

- uno de  $R_1$  y  $R_2$  es F, y el otro se selecciona de H y F;  
 uno de  $R_3$  y  $R_4$  es H, y el otro se selecciona de H y OH;

- 15 en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;  
 o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alqueno  $C_{2-6}$  del mismo; para uso simultáneo, separado o secuencial en un método para tratar cáncer.

3. Un compuesto de la fórmula I:



I

en la que:

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

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

5 en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;

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

para uso en un método de tratamiento de cáncer o anemia de células falciformes en un sujeto que se trata con una composición que comprende decitabina y opcionalmente al menos un agente farmacéutico adicional.

10 4. El kit de partes o compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, en el que dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste de cánceres hematológicos y cánceres sólidos.

5. El kit de partes o compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicho cáncer es un cáncer hematológico seleccionado del grupo que consiste de síndrome mielodisplásico y leucemia.

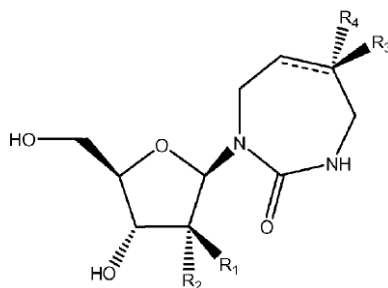
6. El kit de partes o compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicho cáncer es una leucemia seleccionada del grupo que consiste de leucemia mieloide aguda y leucemia mieloide crónica.

15 7. El kit de partes o compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el cáncer es un cáncer sólido seleccionado del grupo que consiste de cáncer pancreático, cáncer de ovario, cáncer peritoneal, cáncer de pulmón de célula no microcítica, y cáncer de mama metastásico.

8. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que es una composición farmacéutica que comprende

(i) decitabina;

20 (ii) un compuesto de fórmula I:



I

en la que:

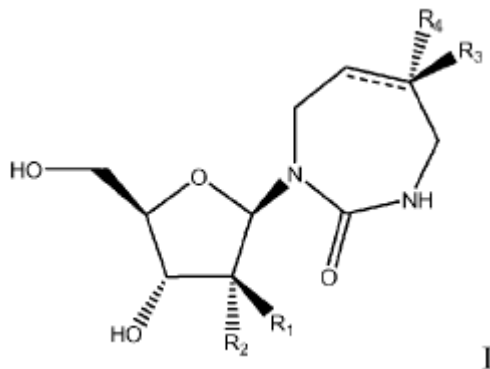
uno de  $R_1$  y  $R_2$  es F, y el otro se selecciona de H y F;

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

25 en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;

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

9. Compuesto de la fórmula I:



I

5 en la que:

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

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

en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y R<sub>4</sub> está ausente cuando ----- es un enlace covalente;

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

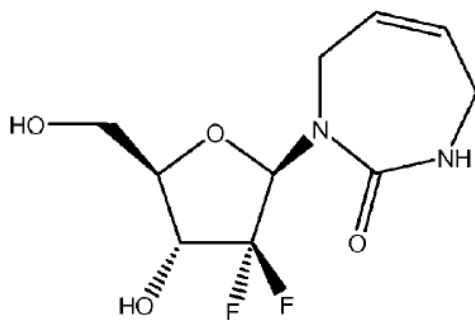
10 para uso en un método terapéutico de tratamiento de cáncer o anemia de células falciformes, en el que se evita la desaminación de decitabina.

10. El compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la composición que comprende decitabina y el compuesto o sal se administran simultáneamente.

15 11. El compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la composición que comprende decitabina y el compuesto o sal se administran secuencialmente.

12. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, el kit de partes para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 y 4-7, el compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-7 y 10-11, La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 o el compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> son cada uno de F.

20 13. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 12, el kit de partes para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 4-7 y 12, el compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-7 y 10 - 12, la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 o 12 o el compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9 o 12, en el que el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula VIII:



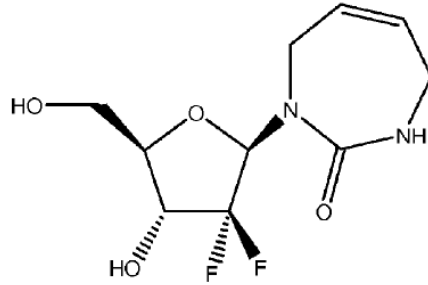
VIII

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

14. La composición de acuerdo con la reivindicación 1 o 12, el kit de partes para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 y 4-7, el compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3-

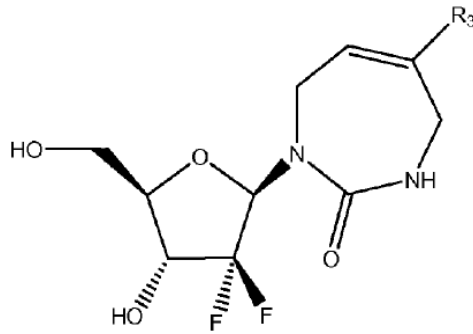


7 y 10 11, la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 o el compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula VIII:



VIII.

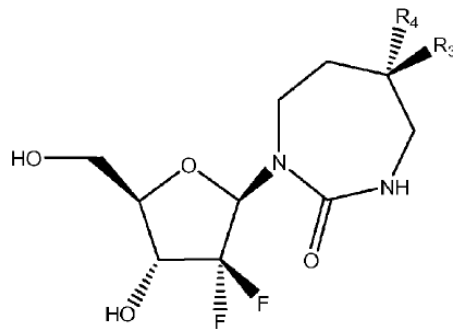
5 15. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, el kit de partes para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 y 4-7, el compuesto, sal o éster para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 - 7 y 10 - 11, la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8 o el compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el compuesto de fórmula I es un compuesto de fórmula II:



II;

10 o

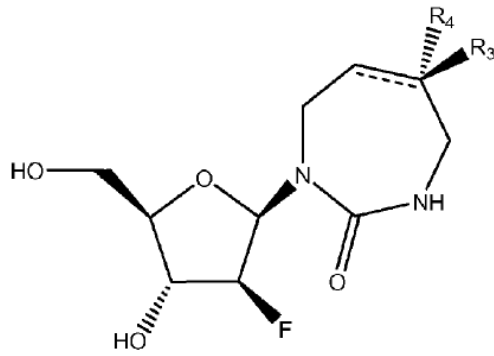
un compuesto de fórmula III:



III;

o

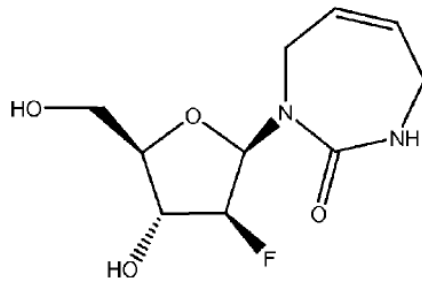
un compuesto de fórmula IV:



IV;

o

un compuesto de formula V:

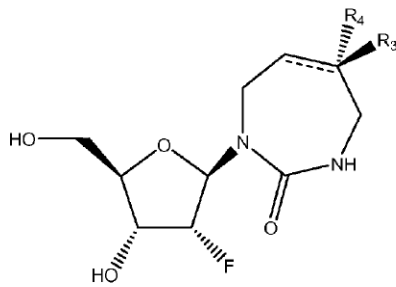


V;

5

o

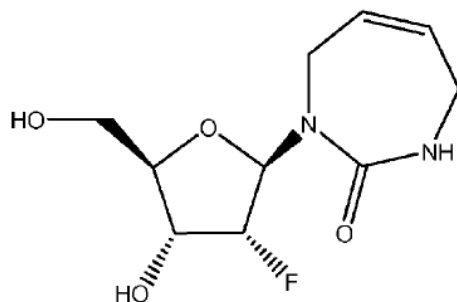
un compuesto de formula VI:



VI;

10 o

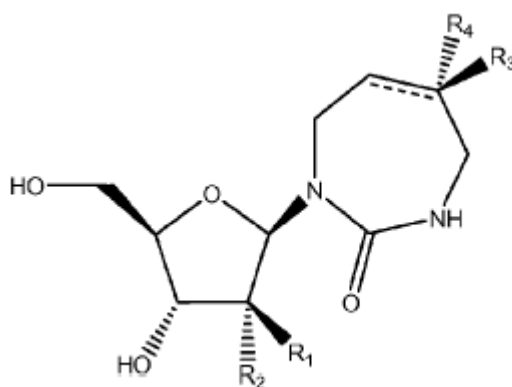
un compuesto de formula VII:



VII;

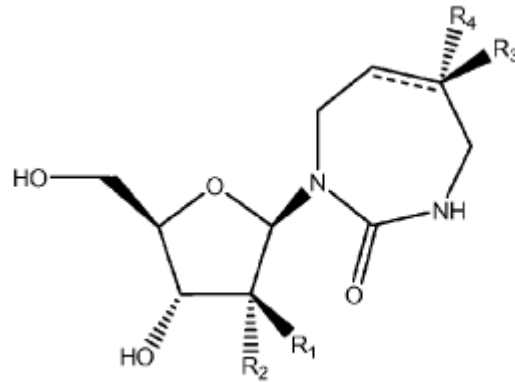
o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo.

16. Compuesto de la fórmula I:



I

- 5 en la que:
- uno de R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> es F, y el otro se selecciona de H y F;
  - uno de R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es H, y el otro se selecciona de H y OH;
  - en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y R<sub>4</sub> está ausente cuando ----- es un enlace covalente;
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable, éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo para uso en un método para tratar cáncer, que comprende:
- (i) administrar a un mamífero en necesidad del mismo un compuesto de la fórmula I, y
  - (ii) administrar a un mamífero en necesidad del mismo decitabina.
17. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en terapia.
18. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en un método de tratamiento de cáncer.
- 15 19. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en un método de tratamiento de la anemia de células falciformes.
20. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 que adicionalmente comprende por lo menos un agente farmacéutico adicional.
- 20 21. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable, éster de alquilo C<sub>1-6</sub>, o un éster de alqueno C<sub>2-6</sub> del mismo para uso de acuerdo con la reivindicación 16, que adicionalmente comprende:
- (iii) administrar a un mamífero en necesidad del mismo por lo menos un agente farmacéutico adicional.
22. Uso de un compuesto de la fórmula I:



I

en la que:

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

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

5 en la que ----- es un enlace covalente o está ausente, y  $R_4$  está ausente cuando ----- es un enlace covalente;

o una sal farmacéuticamente aceptable, éster de alquilo  $C_{1-6}$ , o un éster de alquenilo  $C_{2-6}$  del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de cáncer en pacientes que se tratan con un decitabina y opcionalmente por lo menos un agente farmacéutico adicional.

10 23. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3 para uso en el tratamiento de un sujeto que se trata con decitabina.

Estabilidad de ER-876400 en fluido gástrico simulado a 37°C

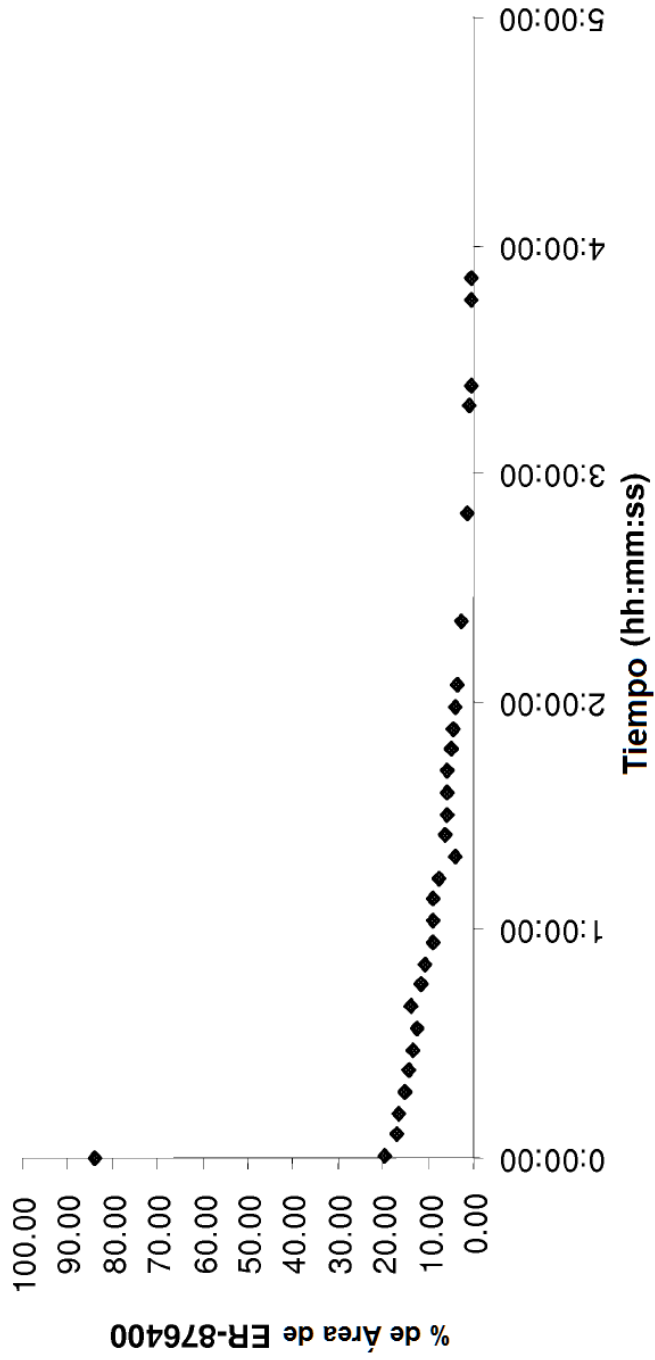


Figura 1

Estabilidad de ER-876437 en fluido gástrico simulado a 37°C

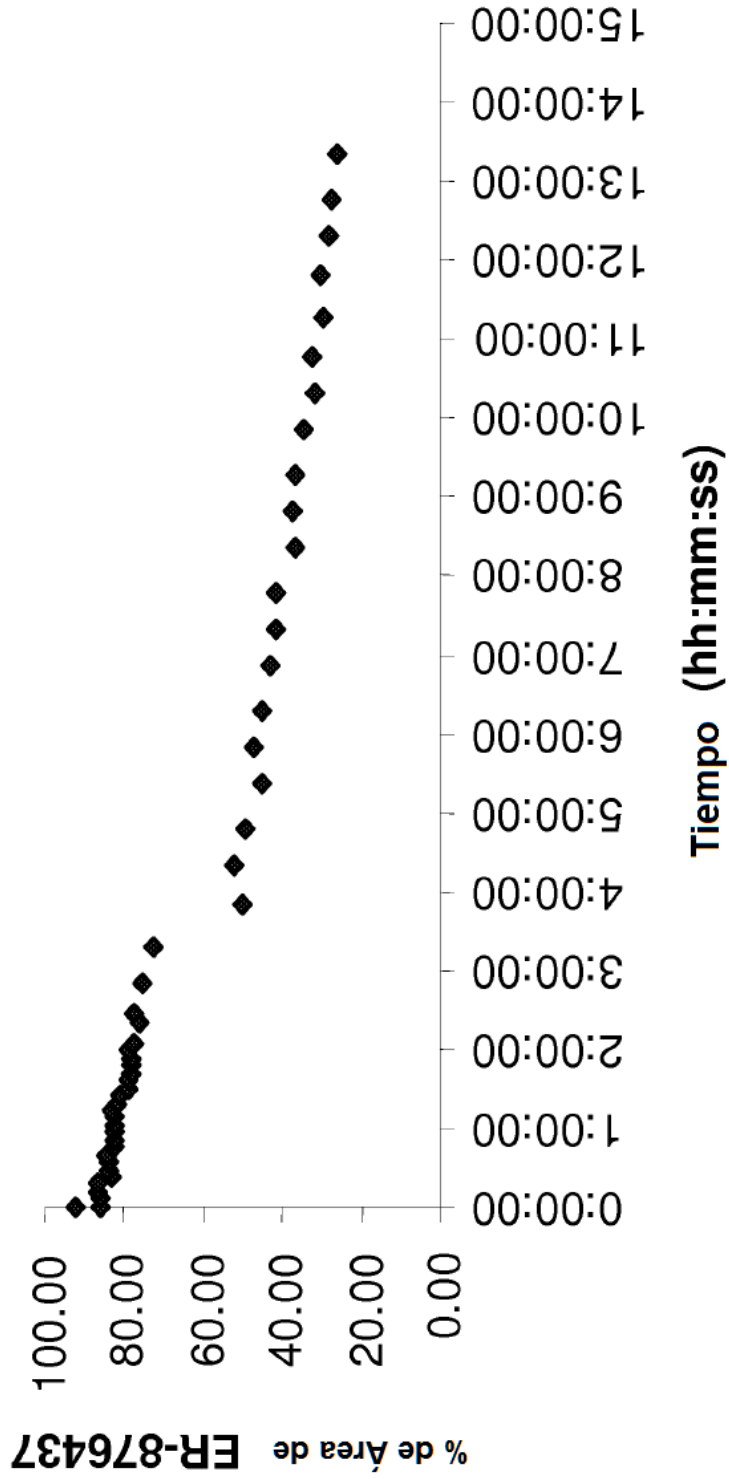
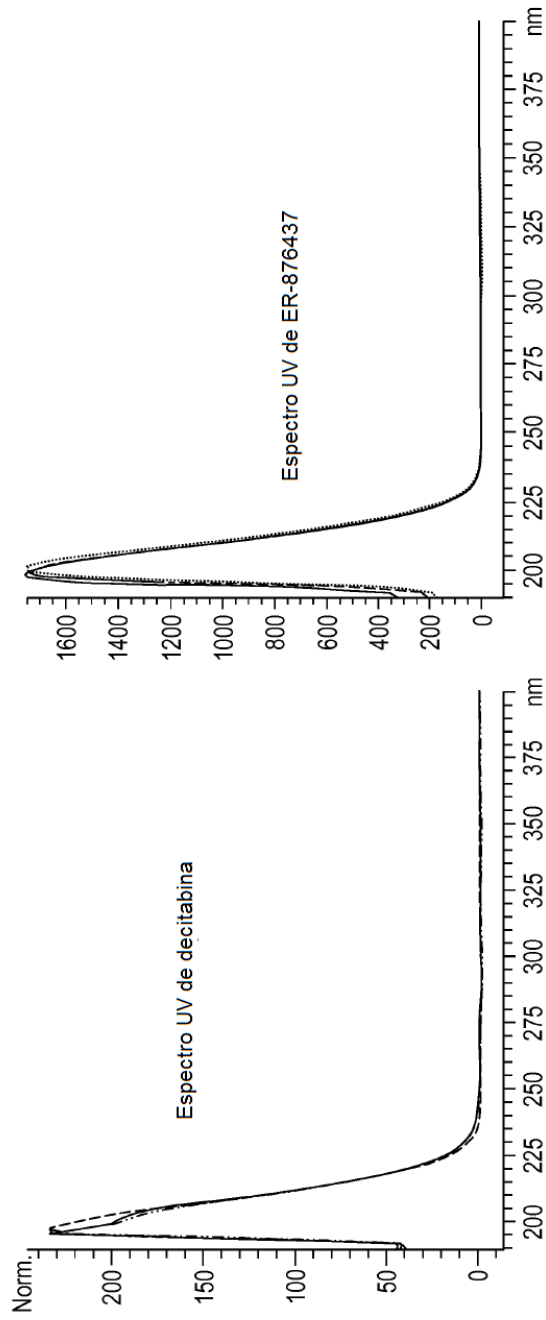


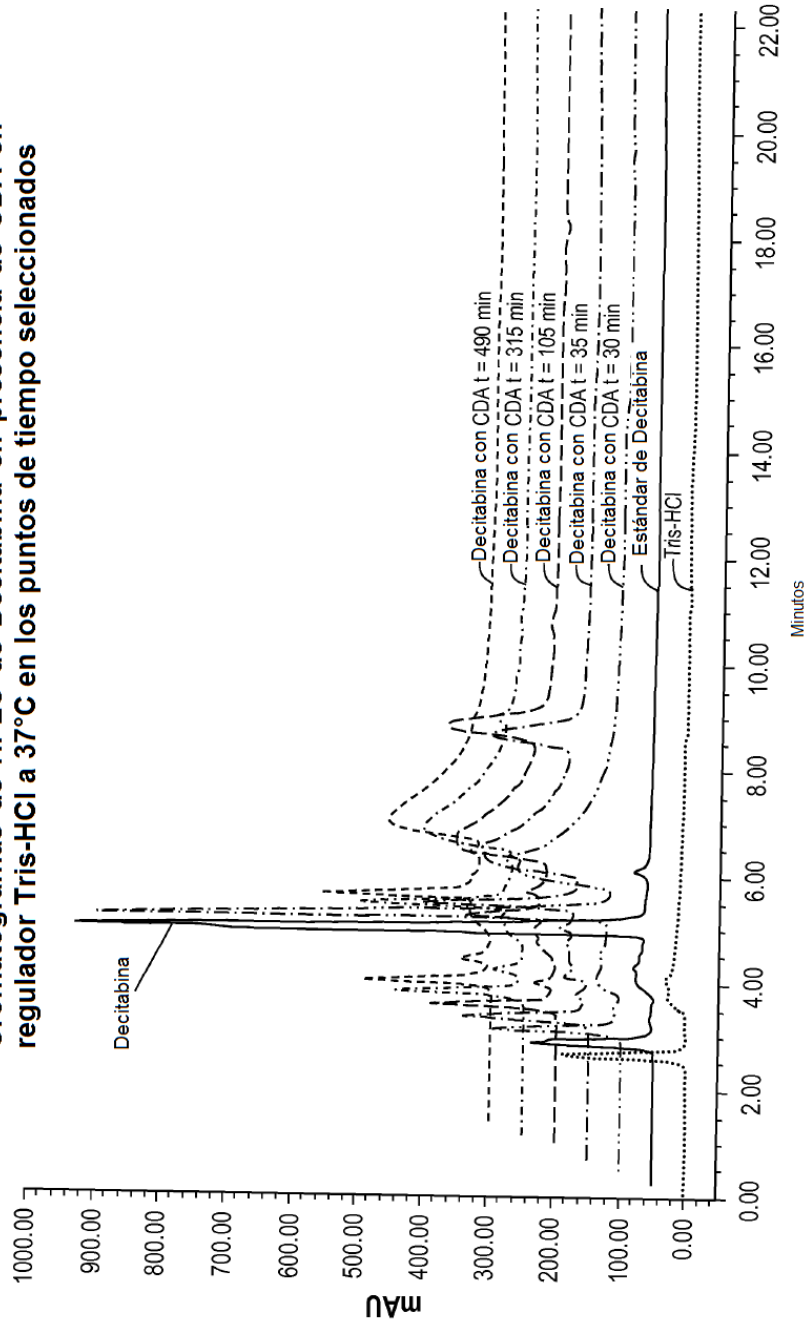
Figura 2

**Espectro UV de decitabina y ER-876437**



**Figura 3**

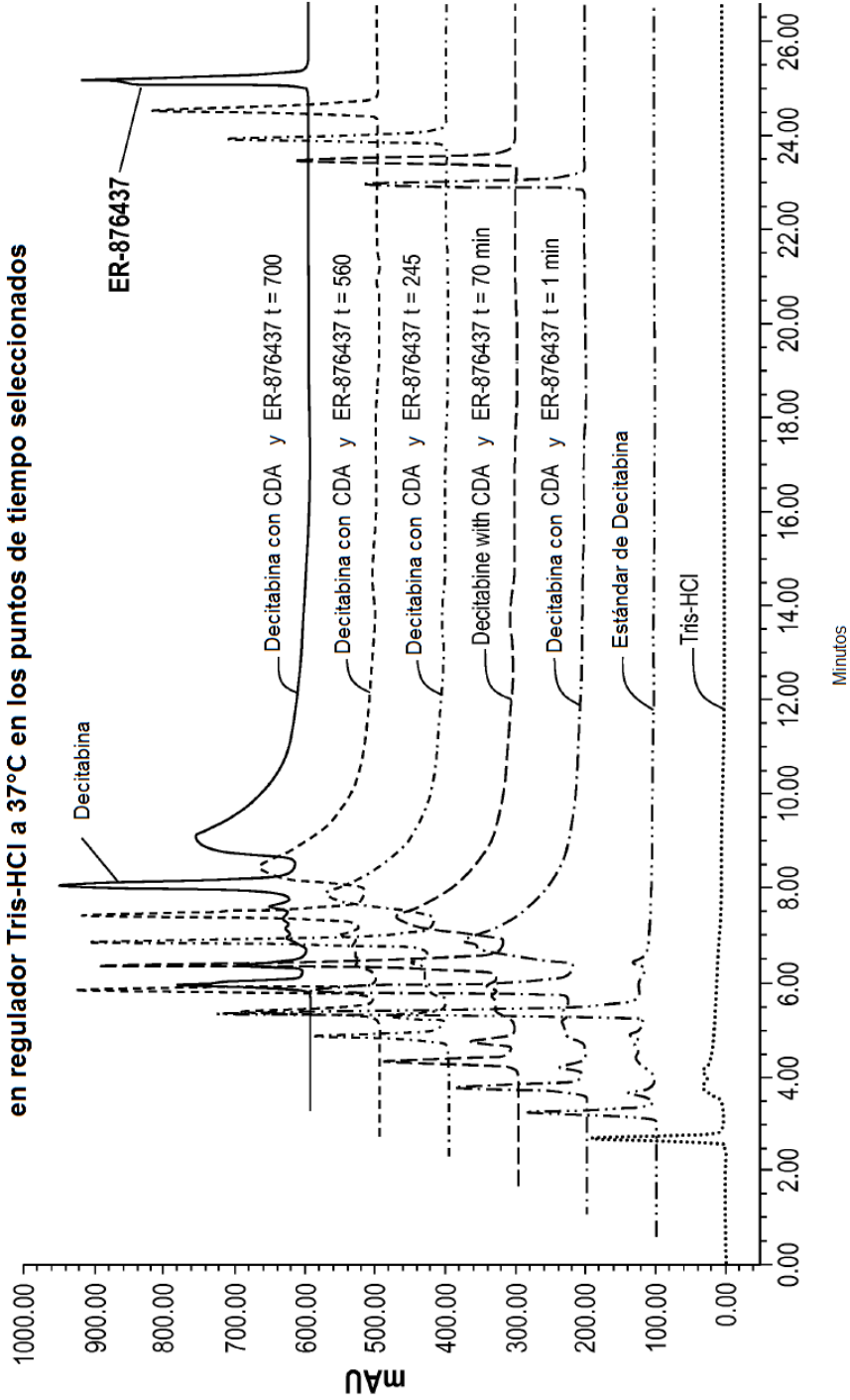
**Cromatogramas de HPLC de Decitabina en presencia de CDA en regulador Tris-HCl a 37°C en los puntos de tiempo seleccionados**



**Figura 4**

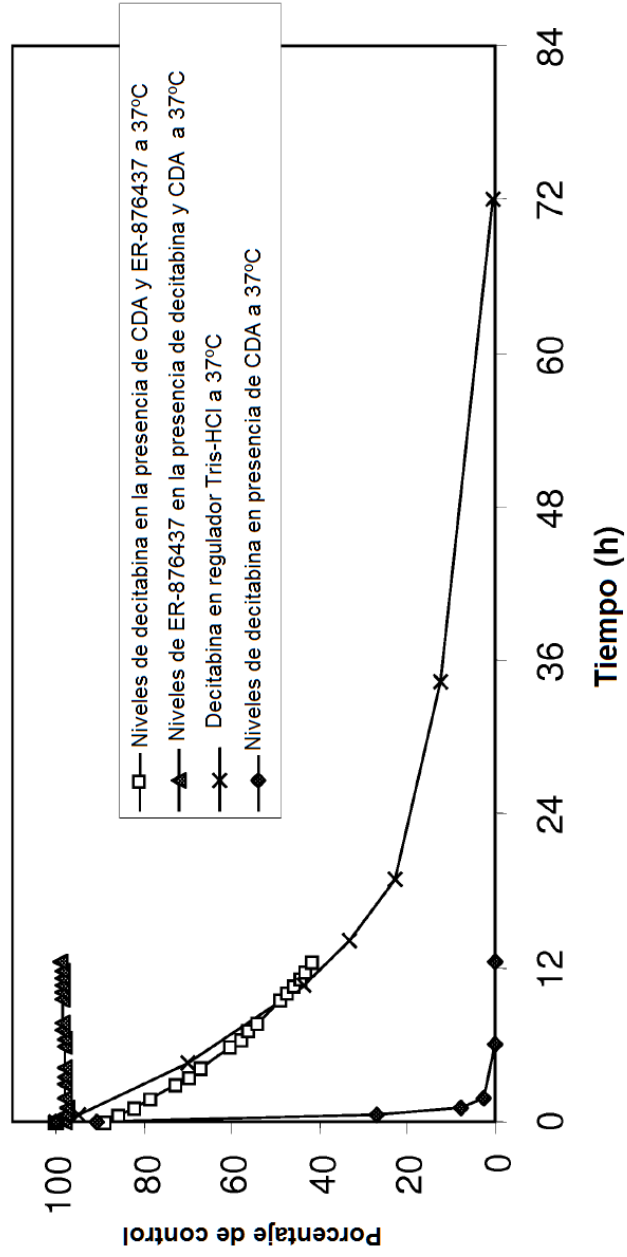


**Cromatogramas de HPLC de decitabina en presencia de CDA y ER-876437 en regulador Tris-HCl a 37°C en los puntos de tiempo seleccionados**



Minutos  
**Figura 5**

**Efecto de ER-876437 sobre la estabilidad de Decitabina en presencia de CDA a 37°C**



**Figura 6**