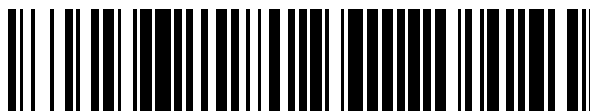


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 717 517**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4035** (2006.01)

**C07D 209/48** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**C07C 317/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2003 E 15177140 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2019 EP 2962690**

54 Título: **(+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoidolina-1,3-diona:  
métodos de uso y composiciones correspondientes**

30 Prioridad:

**20.03.2002 US 366515 P**

**07.01.2003 US 438450 P**

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

**21.06.2019**

73 Titular/es:

**CELGENE CORPORATION (100.0%)**

**86 Morris Avenue**

**Summit, NJ 07901, US**

72 Inventor/es:

**SCHAFFER, PETER H.;**

**MULLER, GEORGE W.;**

**MAN, HON-WAH y**

**GE, CHUANSHENG**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 717 517 T3

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

## DESCRIPCIÓN

(+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona: métodos de uso y composiciones correspondientes

5

**1. CAMPO DE LA INVENCION**

**[0001]** Las realizaciones de la presente invención se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

10 **[0002]** La invención se refiere a (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

15 **[0003]** La invención también se refiere a composiciones que comprenden el enantiómero (+) de ácido 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, y a el enantiómero (+) para uso como medicamento.

**2. ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

20 **[0004]** Factor de necrosis tumoral alfa, (TNF- $\alpha$ ) es una citoquina que es liberada principalmente por fagocitos mononucleares en respuesta a inmunoestimuladores. El TNF- $\alpha$  es capaz de mejorar la mayoría de los procesos celulares, como la diferenciación, el reclutamiento, la proliferación y la degradación proteolítica. En niveles bajos, TNF- $\alpha$  confiere protección contra agentes infecciosos, tumores y daño tisular. Pero el TNF- $\alpha$  también tiene un papel en muchas enfermedades. Cuando se administra a mamíferos o seres humanos, el TNF- $\alpha$  causa o agrava la inflamación, fiebre, efectos cardiovasculares, hemorragia, coagulación y respuestas de fase aguda similares a las observadas durante infecciones agudas y estados de choque. La producción de TNF- $\alpha$  mejorada o no regulada se ha relacionado con varias enfermedades y afecciones médicas, por ejemplo, cánceres, como tumores sólidos y tumores nacidos de la sangre; enfermedades del corazón, como insuficiencia cardíaca congestiva; y enfermedades virales, genéticas, inflamatorias, alérgicas y autoinmunes.

30 **[0005]** La adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (AMPc) también desempeña un papel en muchas enfermedades y afecciones, tales como, entre otras, asma e inflamación, y otras afecciones (Lowe y Cheng, *Drugs of the Future*, 17(9), 799-807, 1992). Se ha demostrado que la elevación de cAMP en los leucocitos inflamatorios inhibe su activación y la posterior liberación de mediadores inflamatorios, incluidos TNF- $\alpha$  y NF- $\kappa$ B. El aumento de los niveles de cAMP también conduce a la relajación del músculo liso de las vías respiratorias.

35 **[0006]** Se cree que el mecanismo celular primario para la inactivación del cAMP es la ruptura del cAMP por una familia de isoenzimas que se refiere a fosfodiesterasas de nucleótidos cíclicos como (PDE) (Beavo y Reitsnyder, *Trends in Pharm.*, 11, 150-155, 1990). Hay once familias conocidas de PDE. Se reconoce, por ejemplo, que la inhibición de la PDE tipo IV es particularmente efectiva tanto en la inhibición de la liberación del mediador inflamatorio como en la relajación del músculo liso de las vías respiratorias (Verghese, et al., *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272 (3), 1313-1320, 1995). Por lo tanto, los compuestos que inhiben la PDE4 (PDE IV) específicamente, pueden inhibir la inflamación y ayudar a la relajación del músculo liso de las vías respiratorias con un mínimo de efectos secundarios no deseados, como los efectos cardiovasculares o antiplaquetarios. Los inhibidores de PDE4 utilizados actualmente carecen de la acción selectiva a dosis terapéuticas aceptables.

50 **[0007]** El cáncer es una enfermedad particularmente devastadora, y los aumentos en los niveles de TNF- $\alpha$  en sangre están implicados en el riesgo y la propagación del cáncer. Normalmente, en sujetos sanos, las células cancerosas no sobreviven en el sistema circulatorio, una de las razones es que el revestimiento de los vasos sanguíneos actúa como una barrera para la extravasación de células tumorales. Pero se ha demostrado que los niveles elevados de citoquinas aumentan sustancialmente la adhesión de las células cancerosas al endotelio *in vitro*. Una explicación es que las citoquinas, como el TNF- $\alpha$ , estimulan la biosíntesis y la expresión de los receptores de la superficie celular llamados ELAM-1 (molécula de adhesión de leucocitos endoteliales). ELAM-1 es un miembro de una familia de receptores de adhesión celular dependientes de calcio, conocidos como LEC-CAM, que incluyen LECAM-1 y GMP-140. Durante una respuesta inflamatoria, BLAM-1 en las células endoteliales funciona como un "receptor local" para los leucocitos. Recientemente, se demostró que ELAM-1 en las células endoteliales medía el aumento de la adhesión de las células de cáncer de colon al endotelio tratado con citoquinas (Rice et al., 1989, *Science* 246: 1303-1306).

60 **[0008]** Las enfermedades inflamatorias tales como artritis, afecciones artríticas relacionadas (*p. ej.*, la osteoartritis y la artritis reumatoide), enfermedad inflamatoria intestinal (*p. ej.*, Enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), sepsis, psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, y enfermedades crónicas pulmonares obstructivas, enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas también son prevalentes y enfermedades problemáticas. El TNF- $\alpha$  desempeña un papel central en la respuesta inflamatoria y la administración de sus antagonistas bloquea las respuestas crónicas y agudas en modelos animales de enfermedad inflamatoria.

65

**[0009]** La producción de TNF- $\alpha$  potenciada o no regulada se ha implicado en enfermedades virales, genéticas, inflamatorias, alérgicas y autoinmunes. Los ejemplos de tales enfermedades incluyen, entre otros, los siguientes: VIH; hepatitis; síndrome de dificultad respiratoria en adultos; enfermedades de la resorción ósea; enfermedades pulmonares obstructivas crónicas; enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas; asma, dermatitis; fibrosis quística; choque séptico; septicemia; choque endotóxico; choque hemodinámico; síndrome de sepsis; lesión por reperfusión isquémica; meningitis; psoriasis; enfermedad fibrótica; caquexia; rechazo del injerto; enfermedad autoinmune; espondilitis reumatoide; afecciones artríticas, tales como artritis reumatoide y osteoartritis; osteoporosis; enfermedad de Crohn; colitis ulcerosa; enfermedad inflamatoria intestinal; esclerosis múltiple; lupus eritematoso sistémico; ENL en la lepra; daño por radiación; asma; y lesión alveolar hiperóxica. Tracey et al., 1987, Nature 330: 662-664 y Hinshaw et al., 1990, Circ. Shock 30: 279-292 (choque endotóxico); Dezube et al., 1990, Lancet, 335: 662 (caquexia); Millar y otros, 1989, Lancet 2: 712-714 y Ferrai-Baliviera et al., 1989, Arch. Surg. 124: 1400-1405 (síndrome de dificultad respiratoria en adultos); Bertolini et al., 1986, Nature 319: 516-518, Johnson et al., 1989, Endocrinology 124: 1424-1427, Holler et al., 1990, Blood 75: 1011-1016, y Grau et al., 1989, N. Engl. J. Med. 320: 1586-1591 (enfermedades de resorción ósea); Pignet et al., 1990, Nature, 344: 245-247, Bissonnette et al., 1989, Inflammation 13: 329-339 y Baughinan et al., 1990, J. Lab. Med. 115: 36-42 (enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas); Elliot et al., 1995, Int. J. Pharmac. 17: 141-145 (artritis reumatoide); von Dullemen et al., 1995, Gastroenterology, 109:129-135 (enfermedad de Crohn); Duh et al., 1989, Proc. Nat. Acad Sci. 86: 5974-5978, Poll et al., 1990, Proc. Nat. Acad Sci. 87: 782-785, Monto et al., 1990, Blood 79: 2670, Clouse et al., 1989, J. Immunol. 142, 431-438, Poll et al., 1992, Reg. Del SIDA. Tarrear. Retrovirus, 191-197, Poli et al. 1990, Proc. Natl Acad Sci. 87: 782-784, Folks et al, 1989, PNAS 86: 2365-2368 (VIH e infecciones oportunistas resultantes del VIH).

**[0010]** Los compuestos farmacéuticos que pueden bloquear la actividad o inhibir la producción de ciertas citoquinas, incluido el TNF- $\alpha$ , pueden ser agentes terapéuticos beneficiosos. Muchos inhibidores de moléculas pequeñas han demostrado una capacidad para tratar o prevenir las enfermedades inflamatorias implicadas por el TNF- $\alpha$  (para una revisión, consulte Lowe, 1998 Exp. Opin. Ther. Patents 8: 1309-1332). Una de tales clases de moléculas son las fenetilsulfonas sustituidas descritas en la patente de Estados Unidos número 6.020.358.

### **3. RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

**[0011]** La invención se expone en las reivindicaciones adjuntas.

**[0012]** La invención se refiere al enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona y sales farmacéuticamente aceptables, hidratos, solvatos y sus polimorfos para uso en métodos de tratamiento de enfermedades y trastornos y para uso en métodos para reducir el nivel de citoquinas y sus precursores en mamíferos.

**[0013]** La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden el enantiómero (+) de ácido 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona y un vehículo farmacéuticamente aceptable portador. La invención se refiere además al enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolin-1,3-diona sustancialmente libre de su otro enantiómero.

**[0014]** Esta invención se refiere al enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona. Se cree que este compuesto tiene mayor potencia y otros beneficios en comparación con su racemato: 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona.

**[0015]** La invención abarca el enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona para usar en métodos para tratar o prevenir enfermedades o trastornos mejorados por la inhibición de la producción de TNF- $\alpha$  en mamíferos. En ciertas realizaciones, este tratamiento incluye la reducción o la evitación de efectos adversos. Dichos trastornos incluyen, entre otros, cánceres que incluyen, entre otros, cáncer de cabeza, tiroides, cuello, ojo, piel, boca, garganta, esófago, tórax, hueso, sangre, médula ósea, pulmón, colon, etc. sigmoides, recto, estómago, próstata, mama, ovarios, riñón, hígado, páncreas, cerebro, intestino, corazón, suprarrenal, tejido subcutáneo, ganglios linfáticos, corazón y combinaciones de los mismos. Los cánceres específicos que pueden tratarse con este método son el mieloma múltiple, el melanoma maligno, el glioma maligno, la leucemia y los tumores sólidos.

**[0016]** La invención también abarca métodos para el uso en el enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona para usar en métodos para el tratamiento o la prevención de enfermedades cardíacas, que incluyen, entre otras, insuficiencia cardíaca congestiva, miocardiopatía, edema pulmonar, choque séptico mediado por endotoxinas, miocarditis viral aguda, rechazo de aloinjerto cardíaco e infarto de miocardio.

**[0017]** La invención también abarca métodos para el uso en el enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona para usar en métodos para tratar enfermedades o trastornos mejorados por la inhibición de PDE4. Por ejemplo, los compuestos y composiciones de la invención pueden ser útiles para tratar o prevenir enfermedades víricas, genéticas, inflamatorias, alérgicas y autoinmunes. Ejemplos de tales enfermedades incluyen, pero no se limitan a: VIH; hepatitis; síndrome de dificultad respiratoria en adultos;

enfermedades de la resorción ósea; enfermedades pulmonares obstructivas crónicas; enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas; dermatitis; enfermedad inflamatoria de la piel, dermatitis atópica, fibrosis quística; choque séptico; septicemia; choque endotóxico choque hemodinámico; síndrome de sepsis; lesión por reperfusión isquémica; meningitis; psoriasis; enfermedad fibrótica; caquexia, rechazo de injerto incluyendo enfermedad de injerto

5 contra huésped; enfermedad autoinmune; espondilitis reumatoide; afecciones artríticas, tales como artritis reumatoide y osteoartritis; osteoporosis; enfermedad de Crohn; colitis ulcerosa; enfermedad inflamatoria intestinal; esclerosis múltiple; lupus eritematoso sistémico; erythema nodosum leprosum (ENL) en la lepra; daño por radiación; asma; y lesión alveolar hiperóxica.

10 **[0018]** En otra realización más, el enantiómero estereoméricamente puro (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona es también útil en el tratamiento o prevención de infecciones microbianas o los síntomas de infecciones microbianas que incluyen, entre otros, infecciones bacterianas, infecciones por hongos, malaria, infecciones por micobacterias e infecciones oportunistas resultantes del VIH.

15 **[0019]** La invención abarca además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria individuales que comprenden el enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona y sus polimorfos, sales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables.

20 **[0020]** En una realización separada, la invención abarca el enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona.

25 **[0021]** En una realización adicional, la descripción abarca un método de producción de un enantiómero estereoméricamente puro de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona que comprende el contacto de 1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metanosulfonil-etilamina con un aminoácido quiral y el contacto del producto de la primera etapa con N-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-isobenzofurano-4-ilo)-acetamida. En una realización relacionada, la divulgación abarca una sal quiral de 1-(3-Etoxi-4-metoxifenilo)-2-metanosulfonil-etilamina.

### 3.1. BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

30 **[0022]**

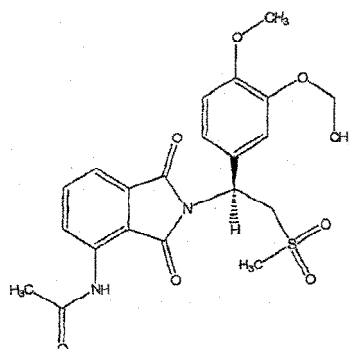
**FIG. 1** ilustra la preparación del enantiómero (+) de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona.

35 **FIG. 2** ilustra el efecto del enantiómero de la invención sobre la neutrofilia inducida por LPS en los pulmones de los hurones conscientes.

### 3.2. DEFINICIONES

40 **[0023]** Como se usa en el presente documento, el término "Compuesto A" se refiere a una forma enantioméricamente pura de 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona que parte de una columna de HPLC a aproximadamente 25,4 minutos cuando esa columna es una columna de HPLC quiral Ultron Chiral ES-OVS de 150 mm x 4,6 mm (Agilent Technology), el eluyente es etanol 15:85: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM a pH 3,5, y la longitud de onda de observación es de 240 nm. El espectro de <sup>1</sup>H RMN del compuesto A es sustancialmente como sigue: δ (CDCl<sub>3</sub>): 1,47 (t, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,87 (s, 3H), 3,68-3,75 (dd, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,07-4,15 (q, 2H), 4,51-4,61 (dd, 1H), 5,84-5,90 (dd, 1H), 6,82-8,77 (m, 6H), 9,46 (s, 1H). El espectro de <sup>13</sup>C-RMN del Compuesto A es sustancialmente como sigue δ (DMSO-d<sub>6</sub>): 14,66,24,92, 41,61,48,53, 54,46, 55,91, 64,51, 111,44, 112,40, 115,10,118,20, 120,28, 124,94, 129,22, 131,02, 136,09, 137,60, 148,62, 149,74, 167,46, 169,14, 169,48. El compuesto A disuelto en metanol también gira la luz polarizada plana en la dirección (+).

50 **[0024]** Sin estar limitados por la teoría, se cree que el Compuesto A será S-{2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilo-sulfoniletilo]-4-acetilaminoisoindolina-1,3-diona}, que tiene la siguiente estructura:



**[0025]** Como se usa en el presente documento, el término "paciente" se refiere a un mamífero, particularmente a un ser humano.

5 **[0026]** Como se usa en el presente documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables no tóxicos o bases, incluidos ácidos y bases inorgánicos y ácidos y bases orgánicos. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas para el compuesto de la presente invención incluyen sales metálicas hechas de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y zinc o sales orgánicas hechas de lisina, N,N'-dibeniletildiamina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Los ácidos no tóxicos adecuados incluyen, entre otros, ácidos inorgánicos y orgánicos tales como ácido acético, algínico, antranílico, benenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etenosulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, hidrobromico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pántico, pantoténico, fenotípico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, cíclico, panticénico, fenácido, feniláctico, fosfórico, propiónico, salicílico, estírico, cíclico, escotístico, feniláctico, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, ácido tartárico, y ácido p-toluensulfónico. Los ácidos no tóxicos específicos incluyen los ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metanosulfónico. Ejemplos de sales específicas incluyen sales de clorhidrato y mesilato.

20 **[0027]** Como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, el término "profármaco" significa un derivado de un compuesto que puede hidrolizar, oxidar o reaccionar de otro modo en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar el compuesto. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados y metabolitos del Compuesto A que incluyen restos biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureides biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizable. Los profármacos se pueden preparar típicamente usando métodos bien conocidos, como los descritos por 1 Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 172-178, 949-982 (Manfred E. Wolff ed., 5ª ed. 1995).

30 **[0028]** Como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, los términos "amida biohidrolizable", "éster biohidrolizable", "carbamato biohidrolizable", "carbonato biohidrolizable", "ureido biohidrolizable", "fosfato biohidrolizable" significan una amida, éster, carbamato, carbonato, ureido o fosfato, respectivamente, de un compuesto que: 1) no interfiere con la actividad biológica del compuesto pero puede conferirle a ese compuesto propiedades ventajosas *in vivo*, como la captación, la duración de la acción o el inicio de la acción; o 2) es biológicamente inactivo pero se convierte *in vivo* en el compuesto biológicamente activo. Los ejemplos de ésteres biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, ésteres de alquilo inferior, ésteres de alcoxiaciloxi, ésteres de alquilo acilamino y ésteres de colina. Los ejemplos de amidas biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, amidas de alquilo inferior, amidas de  $\alpha$ -aminoácidos, amidas de alcoxiacilo y amidas de alquilaminoalquilcarbonilo. Los ejemplos de carbamatos biohidrolizables incluyen, pero no se limitan a, alquilaminas inferiores, etilendiaminas sustituidas, aminoácidos, hidroxialquilaminas, aminas heterocíclicas y heteroaromáticas y poliéter aminas.

45 **[0029]** Como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, el término "estereoméricamente puro" significa una composición que comprende un estereoisómero de un compuesto y está sustancialmente libre de otros estereoisómeros de ese compuesto. Por ejemplo, una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral estará sustancialmente libre del enantiómero opuesto del compuesto. Una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene dos centros quirales estará sustancialmente libre de otros diastereómeros del compuesto. Un compuesto estereoméricamente puro típico comprende más de aproximadamente 80% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente 20% en peso de otros estereoisómeros del compuesto, más preferiblemente mayor que aproximadamente 90% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 10% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, incluso más preferiblemente mayor que aproximadamente el 95% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 5% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto, y lo más preferiblemente más de aproximadamente el 97% en peso de un estereoisómero del compuesto y menos de aproximadamente el 3% en peso de los otros estereoisómeros del compuesto.

60 **[0030]** Como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, el término "enantioméricamente puro" significa una composición estereoméricamente pura de un compuesto que tiene un centro quiral.

65 **[0031]** Como se usa en el presente documento, el término "efectos adversos" incluye, pero no se limita a gastrointestinal, renal y toxicidades hepáticas, leucopenia, los aumentos en los tiempos de hemorragia debido a, *p. ej.*, trombocitopenia y prolongación de la gestación, náuseas, vómitos, somnolencia, astenia, mareos, teratogenicidad, síntomas extrapiramidales, acatisia, cardiotoxicidad que incluye trastornos cardiovasculares, inflamación, disfunción sexual masculina y niveles elevados de enzimas hepáticas en suero. El término "toxicidades gastrointestinales" incluye, entre otros, ulceraciones y erosiones gástricas e intestinales. El término "toxicidades

renales" incluye, entre otros, condiciones como la necrosis papilar y la nefritis intersticial crónica.

**[0032]** Como se usa en el presente documento y a menos que se indique lo contrario, las frases "reducir o evitar los efectos adversos" y "reducir o evitar los efectos adversos" significan la reducción de la severidad de uno o más efectos adversos como se define aquí.

**[0033]** Hay que señalar que si hay una discrepancia entre una estructura representada y un nombre dado que la estructura, debe concedérsele más peso a la estructura representada. Además, si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no se indica con, por ejemplo, líneas en negrita o discontinuas, la estructura o porción de la estructura debe interpretarse como que abarca todos los estereoisómeros de la misma.

#### **4. DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

**[0034]** Esta invención se refiere al Compuesto A estereoméricamente puro, que es un enantiómero de 2-[1-(oxifenilo-3-etoxi-4-met)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, sustancialmente libre de su otro enantiómero, así como sus nuevos usos, y composiciones que comprenden el Compuesto A estereoméricamente puro. Por ejemplo, la presente invención abarca el uso *in vitro* e *in vivo* del Compuesto A, y la incorporación del Compuesto A en la farmacia. Composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria útiles en el tratamiento y prevención de una variedad de enfermedades y trastornos. Las enfermedades y los trastornos que mejoran con la reducción de los niveles de TNF- $\alpha$  o la inhibición de PDE4 son bien conocidos en la técnica y se describen en el presente documento. La invención abarca el Compuesto A para uso en métodos que reducen o evitan los efectos adversos asociados con los compuestos usados como inhibidor de TNF- $\alpha$ . La invención abarca el Compuesto A para uso en métodos que reducen o evitan los efectos adversos asociados con el uso de 2-[1-(3-Etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona.

**[0035]** La invención abarca el compuesto A para su uso en métodos de tratamiento o prevención de enfermedades y trastornos, incluyendo, pero no limitado a, cánceres de tumores sólidos, cánceres de origen sanguíneo y enfermedades inflamatorias.

**[0036]** Las formas farmacéuticas y de dosificación de la invención, que comprenden el Compuesto A o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, se pueden usar en los métodos descritos en el presente documento.

**[0037]** Sin estar limitados por la teoría, se cree que el compuesto A puede inhibir la producción de TNF- $\alpha$ . En consecuencia, una primera realización de la invención se relaciona con el Compuesto A o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para inhibir la producción de TNF- $\alpha$  que comprende poner en contacto una célula que exhibe una producción anormal de TNF- $\alpha$  con una cantidad efectiva de Compuesto A estereoméricamente puro, o un producto farmacéuticamente aceptable, polimorfo, sal, solvato o hidrato del mismo. En una realización particular, la invención se relaciona con el Compuesto A o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para inhibir la producción de TNF- $\alpha$  que comprende poner en contacto una célula de mamífero que exhibe una producción anormal de TNF- $\alpha$  con una cantidad efectiva de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0038]** La invención también se relaciona con el Compuesto A o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en un método para tratar o prevenir trastornos mejorados por la reducción de los niveles de TNF- $\alpha$  en un paciente que comprende administrar a un paciente que necesite tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

**[0039]** Una realización adicional de la invención se refiere al Compuesto A o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para su uso en un método para tratar o prevenir el cáncer, incluyendo, pero no limitado a, tumor sólido, nacido en sangre tumor, leucemias y, en particular, mieloma múltiple en un paciente que comprende administrar a un paciente que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente eficaz de compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo; en particular en el que el paciente es un mamífero.

**[0040]** En otra realización, la invención se refiere al Compuesto A o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de inhibición de PDE4 que comprende poner en contacto PDE4 con una cantidad eficaz del Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

**[0041]** En otra realización, la invención se refiere al Compuesto A o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para su uso en un método para controlar los niveles de AMPc en una célula que comprende poner en contacto una célula con una cantidad eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. Como se usa en el presente documento, el

término "controlar los niveles de cAMP" incluye prevenir o reducir la tasa de degradación de la adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP) en una célula o aumentar la cantidad de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico presente en una célula, preferiblemente una célula de mamífero, más preferiblemente una célula humana. En un método particular, la tasa de descomposición del AMPc se reduce en aproximadamente 10, 25, 50, 100, 200 o 500 por ciento en comparación con la tasa en células comparables que no se han puesto en contacto con un compuesto de la invención.

**[0042]** Una realización adicional de la invención se refiere al Compuesto A, o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para su uso en un método para tratar o prevenir enfermedades o trastornos mejorados por la inhibición de PDE4 en un paciente que comprende administrar a un paciente que necesite tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. Los trastornos mejorados por la inhibición de la PDE4 incluyen, entre otros, asma, inflamación (p. ej., inflamación debida a la reperfusión), enfermedades pulmonares obstructivas agudas o crónicas, enfermedades inflamatorias pulmonares crónicas o agudas, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, Enfermedad de Behcet, o colitis.

**[0043]** Una realización adicional de la invención se refiere al Compuesto A, o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de tratamiento o prevención de la depresión, el asma, la inflamación (p. ej., Dermatitis de contacto, atópica dermatitis, psoriasis, artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad inflamatoria de la piel, inflamación por reperfusión), enfermedades pulmonares obstructivas crónicas o agudas, enfermedades inflamatorias crónicas o pulmonares, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfermedad de Behcet o colitis en un paciente que comprende administrar un paciente que necesita tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo; en particular en el que el paciente es un mamífero.

**[0044]** Una realización separada de la invención abarca el Compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de tratamiento o prevención de síndrome mielodisplásico (MDS), que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento o prevención es una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. MDS se refiere a un grupo diverso de trastornos de células madre hematopoyéticas. El MDS se caracteriza por una médula celular con morfología y maduración alteradas (dismielopoyesis), citopenias de sangre periférica y un riesgo variable de progresión a leucemia aguda, resultante de la producción ineficaz de células sanguíneas. Ver The Merck Manual 953 (17<sup>a</sup> ed. 1999) y List et al., 1990, J. Clin. Oncol. 8: 1424.MDS

**[0045]** Una realización separada de la invención abarca el compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de tratamiento o prevención de la enfermedad mieloproliferativa (MPD), que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento o prevención de una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. La enfermedad mieloproliferativa (MPD) se refiere a un grupo de trastornos caracterizados por anomalías clonales de las células madre hematopoyéticas. Véase, por ejemplo, Current Medical Diagnosis & Treatment, pp. 499 (37<sup>a</sup> ed., Tiemey et al. Ed., Appleton y Lange, 1998).

**[0046]** La invención también abarca el Compuesto A o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de tratamiento, la prevención o la gestión de síndrome de dolor regional complejo, que comprende administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento, prevención o gestión de una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de un Compuesto A estereoméricamente puro, o una sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización específica, la administración es antes, durante o después de la cirugía o terapia física dirigida a reducir o evitar un síntoma de síndrome de dolor regional complejo en el paciente.

**[0047]** En realizaciones particulares de la invención, el Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, se administra con al menos un agente terapéutico adicional. Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen, entre otros, medicamentos contra el cáncer, antiinflamatorios, antihistamínicos y descongestionantes.

#### 4.1. SÍNTESIS Y PREPARACIÓN.

**[0048]** 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona racémica se prepara utilizando los métodos en la Patente de Estados Unidos N° 6.020.358.

**[0049]** El compuesto A se puede aislar del compuesto racémico mediante técnicas conocidas en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, la formación de sales quirales y el uso de cromatografía líquida quiral o de alto rendimiento "HPLC" y la formación y cristalización de sales quirales. Ver, por ejemplo, Jacques, J., et al.,

Enantiomers, Racemates and Resolutions (Wiley-Interscience, Nueva York, 1981); Wilen, SH, et al., Tetrahedron 33: 2725 (1977); Eliel, EL, Stereochemistry of Carbon Compounds (McGraw-Hill, NY, 1962); y Wilen, SH, Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions p. 268 (EL Eliel, Ed., Univ. de Notre Dame Press, Notre Dame, IN, 1972).

5 **[0050]** En un método específico, el Compuesto A se sintetiza a partir de anhídrido 3-acetamidofáltico y una sal de aminoácido quiral de (S)-2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina. Las sales de aminoácidos quirales de (S)-2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina incluyen, entre otras, sales formadas con los isómeros L de alanina, arginina y asparagina., ácido aspártico, cisteína, glutamina, ácido glutámico, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina, ornitina, ácido aminobutírico, 2 amino ácido isobutírico, 3 amino ácido propiónico, ornitina, norleucina, norvalina, hidroxiprolina, sarcosina, citrulina, ácido cisteico, t-butilglicina, t-butilalanina, fenilglicina, ciclohexilalanina y N-acetilo-leucina. Una sal de aminoácido quiral específica es la sal de N-acetilo-L-leucina de (S)-2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina, que se resuelve de 2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina y N-acetilo-L-leucina en metanol.

15

#### **4.2. MÉTODOS DE TRATAMIENTO**

**[0051]** La invención abarca el Compuesto A, o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para uso en un método de tratamiento y prevención de enfermedades o trastornos mejorados por la reducción de los niveles de TNF- $\alpha$  en un paciente, que comprenden administrar a un paciente que necesite tal tratamiento o prevención una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20

**[0052]** Los trastornos mejorados por la inhibición de TNF- $\alpha$  incluyen, pero no se limitan a: enfermedades cardíacas, como insuficiencia cardíaca congestiva, miocardiopatía, edema pulmonar, choque séptico mediado por endotoxinas, miocarditis viral aguda, rechazo de aloinjerto cardíaco e infarto de miocardio; tumores sólidos, que incluyen pero no se limitan a sarcoma, carcinomas, fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sinovioma, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomiomasarcoma, rabdomiosarcoma, carcinoma del colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma papilar, adenocarcinoma papilar, carcinoma de células medulares, carcinoma medular, carcinoma de células cancerígenas hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilms, cáncer de cuello uterino, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón de células pequeñas, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, sarcoma de Kaposi, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma; y tumores nacidos en la sangre, incluidos, entre otros, leucemia linfoblástica aguda "LLA", leucemia de células B linfoblásticas agudas, leucemia de células T linfocíticas agudas, leucemia mieloblástica aguda "LMA", leucemia promielocítica aguda "LPA", leucemia monoblástica aguda, leucemia eritroleucémica aguda, leucemia megacarioblástica aguda, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia no linfocítica aguda, leucemia no diferenciada aguda, leucemia mielocítica crónica "LMC", leucemia linfocítica crónica "LLC", tricoleucemia, mieloma múltiple y leucemias agudas y crónicas, por ejemplo, leucemias linfoblásticas, mielógenas, linfocíticas y mielocíticas.

25

30

35

40

**[0053]** En realizaciones específicas, el Compuesto A es para uso en métodos de tratamiento que comprenden además el modo de gestión de un agente terapéutico adicional (es decir, un agente terapéutico distinto de Compuesto A). Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero no se limitan a: fármacos anticancerosos tales como, pero no se limitan a: agentes alquilantes, mostazas nitrogenadas, etileniminas, metilmelaminas, alquilsulfonatos, nitrosoureas, triazenos, análisis de ácido fólico, análogos de pirimidina, análogos de purina, alcaloides de la vinca, epipodofilotoxinas, antibióticos, inhibidores de la topoisomerasa y vacunas contra el cáncer.

45

50

**[0054]** Agentes terapéuticos adicionales específicos incluyen, entre otros: acivicina; aclarubicina; hidrocloreuro de acodazol; acronina; adozelesina; aldesleucina; altretamina; ambomicina; acetato de ametantrona; aminoglutetimida; amsacrina; anastrozol; antramicina; asparaginasa; asperlina; azacidina; azetepa; azotomicina; batimastat; benzodepa; bicalutamida; clorhidrato de bisantreno; dimesilato de bisnafida; bizelesina; sulfato de bleomicina; brequinar de sodio; bropirimina; busulfán; cactinomicina; calusterona; caracemida; carbetímero; carboplatino; carmustina; clorhidrato de carubicina; carzelesina; cedefingol; clorambucilo; cirolemicina; cisplatino; cladribina; mesilato de crisnatol; ciclofosfamida; citarabina; dacarbazina; dactinomicina; clorhidrato de daunorubicina; decitabina; dexormaplatino; dezaguanina; mesilato de dezaguanina; diaziquona; docetaxel; doxorubicina; clorhidrato de doxorubicina; droloxifeno; citrato de droloxifeno; propionato de dromostanolona; duazomicina; edatrexato; clorhidrato de eflornitina; elsamitrucin; enloplatino; enpromato; epipropidina; clorhidrato de epirubicina; erbulozol; clorhidrato de esorubicina; estramustina; fosfato de estramustina sódica; etanidazol; etopósido; fosfato de etopósido; etoprina; clorhidrato de fadrozol; fazarabina; fenretinida; floxuridina; fosfato de fludarabina; fluorouracilo; flurocitabina; fosquidona; fostriecina sódica; gemcitabina; clorhidrato de gemcitabina; hidroxíurea; hidrocloreuro de idarubicina; ifosfamida; ilmofosina; interleucina II (incluida la interleucina II recombinante o rIL2), interferón alfa-2a; interferón alfa-2b; interferón alfa-nI; interferón alfa-n3; interferón beta-1a; interferón gamma-1b; iproplatino; clorhidrato

55

60

65



de irinotecan; acetato de lanreotida; letrozol; acetato de leuprolido; clorhidrato de liarozol; lometrexol sódico; lomustina; clorhidrato de losoxantrona; masoprocol; maytansina; clorhidrato de mecloretamina; acetato de megestrol; acetato de melengestrol; melfalán; menogarilo; mercaptopurina; metotrexato; metotrexato de sodio; metoprina; meturedpa; mitindomida; mitocarcina; mitocromina; mitogilina; mitomalcina; mitomicina; mitosper; mitotano; 5 clorhidrato de mitoxantrona; ácido micofenólico; nocodazol; nogalamicina; ormaplatino; oxisuran paclitaxel; pegaspargasa; peliomicina; pentamustina; sulfato de peplomicina; perfosfamida; pipobroman; piposulfan; clorhidrato de piroxantrona; plicamicina; plomestano; porfímero de sodio; porfiromicina; predimimina; clorhidrato de procarbazona; puromicina; clorhidrato de puromicina; pirazofurina; riboprina; rogletimida; safingol; clorhidrato de safingol; semustina; simtrazeno; esparfosato de sodio; esparsomicina; clorhidrato de espirogermanio; espiromustina; 10 espiroplatino; estreptonigrina; estreptozocina; sulofenur; talisomicina; sodio de tecogalan; tegafur; clorhidrato de teloxantrona; temoporfin; tenipósido; teroxirona; testolactona; tiamiprina; tioguanina; tiotepa; tiazofurina; tirapazamina; citrato de toremifeno; acetato de trestolona; fosfato de triciribina; trimetrexato; glucuronato de trimetrexato; triptorelina; clorhidrato de tubulozol; mostaza de uracilo; uredepa; vapreotida; verteporfina; sulfato de vinblastina; sulfato de vincristina; vindesina; sulfato de vindesina; sulfato de vinepidina; sulfato de vinglicinato; sulfato de vinleurosina; tartrato de vinorelbina; sulfato de vinrosidina; sulfato de vinzolidina; vorozol; zeniplatino; zinostatina; 15 clorhidrato de zorubicina. Otros medicamentos contra el cáncer incluyen, pero no se limitan a: 20-epi-1,25 dihidroxivitamina D3; 5-etiniluracilo; abiraterona; aclarubicina; acilfulveno; adecipenol; adozelesina; aldesleucina; antagonistas de ALL-TK; altretamina; ambamustina amidox; amifostina; ácido aminolevulínico; amrubicina; amsacrina anagrelida; anastrozol; andrografolida; inhibidores de la angiogénesis; antagonista D; antagonista G; antarelix; proteína morfogenética anti-dorsalizante-1; antiandrógeno, carcinoma prostático; antiestrógeno; antineoplaston; oligonucleótidos antisentido; glicinato de afidicolina; moduladores del gen de la apoptosis; reguladores de la apoptosis; ácido apuminico; ara-CDP-DL-PTBA; desaminasa de arginina; asulacrina; atamestano; atrimustina; axinastatina 1; axinastatina 2; axinastatina 3; azasetrón; azatoxina; azatyrosina; derivados de baccatina 25 III; balanol batimastat; antagonistas de BCR/ABL; benzocinas; benzoilstaurosporina; derivados de betalactámicos; beta-aletina; betaclamicina B; ácido betulínico; inhibidor de bFGF; bicalutamida; bisantreno; bisaziridinilpermina; bisnafide; bistrateno A; bizelesina; breflate bropirimina; budotitano; butionina sulfoximina; calcipotriol; calfofina C; derivados de la camptotecina; canaripox IL-2; capecitabina; carboxamida-amino-triazol; carboxiamidotriazol; CaRest M3; CARN 700; inhibidor derivado del cartílago; carzelesina; inhibidores de la caseína quinasa (ICOS); castanospermina; cecropina B; cetorelix; cloros; cloroquinoxalina sulfonamida; cicaprost; cis-porfirina; cladribina; 30 análogos de clomifeno; clotrimazol; colismicina A; colismicina B; combretastatina A4; análogo de combretastatina; conagenina; crambescidina 816; crisnatol; criptoficina 8; derivados de criptoficina A; curacina A; ciclopentantraquinonas; cicloplatam; ciperinicina; citarabina ocfosfato; factor citolítico; citostatina; dacliximab; decitabina; deshiodridemina B; deslorelina; dexametasona; dexifosfamida; dexrazoxano; dexverapamil; diaziquna; didemina B; didox; dietilnorspermina; dihidro-5-azacitidina; dihidrotaxol, 9-; dioxamicina; difenilo 35 espiromustina; docetaxel; docosanol; dolasetrón; doxiluridina; droloxifeno; dronabinol; duocarmicina SA; ebseleno; ecomustina; edelfosina; edrecolomab; eflornitina; elemeno; emitefur; epirubicina; episterida; análogo de estramustina; agonistas de estrógenos; antagonistas de estrógenos; etanidazol; fosfato de etopósido; exemestano fadrozol; fazarabina; fenretinida; filgrastim; finasterida flavopiridol; flezelastina; fluasterona; fludarabina; clorhidrato de fluorodaunorunicina; forfenimex; formestano; fostriecina; fotemustina; texafirina de gadolinio; nitrato de galio; 40 galocitabina; ganirelix; inhibidores de gelatinasa; gemcitabina; inhibidores de glutatión; hepsulfam; heregulina; bisacetamida de hexametileno; hipericina; ácido ibandrónico; idarubicina; idoxifeno; idramantona; ilmofofina; ilomastat; imidazoacridonas; imiquimod; péptidos inmunoestimulantes; inhibidor del receptor del factor de crecimiento 1 similar a la insulina; agonistas del interferón; interferones; interleucinas; iobenguano; yododoxorubicina; ipomeanol, 4-; iroplact; irsogladina; isobengazol; isohomohalicondrina B; itasetron; jasplakinolida; 45 kahalalida F; lamelarina-N triacetato; lanreótido; leinamicina; lenograstim; sulfato de lentinan; leptostatina; letrozol; factor inhibidor de la leucemia; interferón alfa de leucocitos; leuproide + estrógeno + progesterona; leuprorelina; levamisol; liarozol; análogo de poliamina lineal; péptido de disacárido lipofílico; compuestos lipófilos de platino; lissoclinamida 7; lobaplatino; lombricina; lometrexol; lonidamina; losoxantrona; lovastatino; loxoribina; lurtotecan; lutecio texafirina; lisofilina; péptidos líticos; maitansina manostatina A; marimastato; masoprocol; maspina; 50 inhibidores de la matrilisina; inhibidores de la metaloproteinasa de matriz; menogarilo; merbarona; meterelina; meotioninasa; metoclopramida; inhibidor de MIF; mifepristona; miltefosina; mirimostim; ARN bicatenario no coincidente; mitoguazona; mitolactol; análogos de la mitomicina; mitonafida; factor de crecimiento de fibroblastos mitotoxina-saporina; mitoxantrona; mofaroteno; molgramostim; anticuerpo monoclonal, gonadotropina coriónica humana; lípido de monofosforilo A+deipared celular myobacteria sk; mopidamol; inhibidor de genes de resistencia a 55 múltiples fármacos; terapia basada en supresor de tumores múltiples 1; agente anticancerígeno mostaza; micaperóxido B; extracto de pared celular micobacteriana; miriaporona; N-acetildinalina; benzamidas N-sustituidas; nafarelina; nagrestip; naloxona+pentazocina; napavina; nafterpina; nartograstim; nedaplatino; nemorubicina; ácido neridróico; endopeptidasa neutra; nilutamida; nisamicina; moduladores de óxido nítrico; antioxidante nitróido; nitrulina; O6-bencilguanina; octreótido; okicenona; oligonucleótidos; onapristona; ondansetrón; ondansetrón; oracina; inductor de citoquinas orales; ormaplatino; osaterona; oxaliplatino; oxaunomicina; paclitaxel; análogos de paclitaxel; 60 derivados de paclitaxel; palauamina; palmitoilrhizoxina; ácido pamidróico; panaxitriol; panomifeno; parabactina; pazeliptina; pegaspargasa; peldesina; pentosan polisulfato de sodio; pentostatina; pentrozol; perflubron; perfosfamida; alcohol perillílico; fenazinomicina; acetato de etilo; inhibidores de fosfatasa; picibanilo; clorhidrato de pilocarpina; pirarubicina; piritrexim; placetina A; placetina B; inhibidor del activador del plasminógeno; complejo de platino; compuestos de platino; complejo de platino-triamina; porfímero de sodio; porfiromicina; prednisona; propilo bis-acridona; prostaglandina J2; inhibidores de proteasoma; modulador inmune basado en proteína A; inhibidor de la

proteína quinasa C; inhibidores de la proteína quinasa C, microalgal; inhibidores de fosfatasa de tirosina de proteína; inhibidores de fosforilasa de nucleósido de purina; purpurinas; pirazoloacridina; conjugado de polioxi-etileno de hemoglobina piridoxilada; antagonistas del raf; raltitrexado; ramosetron; inhibidores de transferasa de proteína de farnesilo ras; inhibidores de la ras; inhibidor de ras-GAP; retelliptina desmetilada; renio Re 186 etidronato; rizoxina; ribozimas; RII retinamida; rogletimida; rohitucina; romurtido; roquinimex; rubiginona B1; ruboxilo; safingol; saintopina; SarCNU; sarcofitol A; sargramostim; Sdi 1 miméticos; semustina; inhibidor derivado de la senescencia 1; oligonucleótidos sentido; inhibidores de la transducción de señales; moduladores de transducción de señales; proteína de unión a antígeno de cadena simple; sizofiran; sobuzoxano; borocaptato de sodio; fenilacetato de sodio; solverol; proteína de unión a somatomedina; sonermina; ácido esparfósico; espicamicina D; espiromustina; esplenopentina; espongiastatina 1; escualamina; inhibidor de células madre; inhibidores de la división de células madre; estipiámidia; inhibidores de estromelina; sulfinosina; antagonista del péptido intestinal vasoactivo superactivo; suradista; suramina; swainsonina; glicosaminoglicanos sintéticos; talimustina; metiduro de tamoxifeno; taumustina; tazaroteno; tecogalan sódico; tegafur; telurapirilo; inhibidores de la telomerasa; temporfina; temozolomida; tenipósido; tetraclorodecaóxido; tetrazomina; taliblastina; tiocoralina; trombopoyetina; trombopoyetina mimética; timalfasina; agonista del receptor de timopoyetina; timotrinan; hormona estimulante de la tiroides; etilo de etiopurpurina de estaño; tirapazamina; bicloruro de titanoceno; topsentina; toremifeno; factor totipotente de células madre; inhibidores de la traducción; tretinoína; triacetiluridina; triciribina; trimetrexato; triptorelina; tropisetron; turosterida; inhibidores de quinasa de tirosina; tirfostinas; inhibidores de la UBC; ubenimex; factor inhibidor del crecimiento derivado del seno urogenital; antagonistas del receptor de uroquinasa; vapreotida; variolina B; sistema vectorial, terapia génica de eritrocitos; velaresol; veramina; verdines; verteporfina; vinorelbina; vinxaltina; vitaxina; vorozol; zanoterona; zeniplatino; zilascorb; y estimalámero de zinostatino.

**[0055]** La invención abarca además un compuesto A o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato del mismo, para su uso en métodos de tratamiento o prevención de enfermedades o trastornos mejorados por la inhibición de PDE4 en un paciente, que comprenden administrar a un paciente en la necesidad de dicho tratamiento o prevención de una cantidad terapéuticamente eficaz de Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. Los trastornos mejorados por la inhibición de la PDE4 incluyen, entre otros, asma, inflamación, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o aguda, enfermedad inflamatoria pulmonar crónica o aguda, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, enfermedad de Behcet, colitis, colitis ulcerosa y artritis o inflamación por reperfusión. En una realización preferida, la enfermedad o trastorno a tratar o prevenir es una enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

**[0056]** En realizaciones específicas, el Compuesto A es para uso en métodos de tratamiento que pueden comprender la administración de un agente terapéutico adicional tal como, pero no limitados a, fármacos anti-inflamatorios, antihistamínicos y descongestionantes. Los ejemplos de dichos agentes terapéuticos adicionales incluyen, pero no se limitan a: antihistamínicos que incluyen, pero no se limitan a, etanolaminas, etilendiaminas, piperazinas y fenotiazinas; fármacos antiinflamatorios; AINE, incluyendo, pero sin limitarse a aspirina, salicilatos, acetaminofeno, indometacina, sulindac, etodolaco, fenamatos, tolmetina, ketorolaco, diclofenaco, ibuprofeno, naproxeno, fenoprofeno, cetoprofeno, flurbiprofeno, oxaprozina, piroxicam, meloxicam, derivados de pirazonol; y esteroides que incluyen, pero no se limitan a esteroides corticales y esteroides adrenocorticales.

**[0057]** En realizaciones específicas, el Compuesto A es para uso en procedimientos de tratamiento que eviten o reduzcan las interacciones fármaco-fármaco y otros efectos adversos asociados con los agentes utilizados en el tratamiento de tales trastornos, incluyendo feniletilosulfonas sustituidas racémicas. Sin estar limitado por ninguna teoría, el Compuesto A estereoméricamente puro puede proporcionar además una eficacia terapéutica general mejorada, o un índice terapéutico, sobre el 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfonietilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona racémica. Por ejemplo, se puede administrar una cantidad más pequeña del medicamento en algunas circunstancias para alcanzar el mismo nivel de efectividad.

**[0058]** Como se ha indicado anteriormente, el compuesto activo de la invención (es decir, el Compuesto A) puede usarse en el tratamiento o prevención de una amplia gama de enfermedades y condiciones. Sin embargo, la magnitud de una dosis profiláctica o terapéutica de un ingrediente activo particular de la invención en el manejo agudo o crónico de una enfermedad o afección variará con la naturaleza y la gravedad de la enfermedad o afección, y la vía por la cual se administra el ingrediente activo. La dosis, y quizás la frecuencia de la dosis, también variarán según la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual. Los expertos en la técnica pueden seleccionar fácilmente regímenes de dosificación adecuados teniendo debidamente en cuenta dichos factores. En general, el intervalo de dosis diarias recomendadas para las condiciones descritas en este documento se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg por día, administrado como una dosis única de una vez al día, preferiblemente como dosis divididas a lo largo de un día. Más específicamente, la dosis diaria se administra dos veces al día en dosis igualmente divididas. Específicamente, un rango de dosis diaria debe ser de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por día, más específicamente, entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 200 mg por día. Específicamente, la dosis diaria se puede administrar en formas de dosificación de 5 mg, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 50 mg o 100 mg. Al administrar al paciente, la terapia debe iniciarse con una dosis más baja, quizás de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 25 mg, y aumentarse si es necesario hasta aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1.000 mg por día, ya sea en una dosis única o en dosis divididas, dependiendo de la respuesta global del paciente. Alternativamente, la dosis diaria es de 0,01 mg/kg a 100 mg/kg.

[0059] Puede ser necesario usar dosis del ingrediente activo fuera de los intervalos descritos en este documento en algunos casos, como será evidente para los expertos ordinarios en la técnica. Además, se observa que el clínico o el médico tratante sabrán cómo y cuándo interrumpir, ajustar o finalizar la terapia junto con la respuesta individual del paciente.

[0060] Las frases "cantidad terapéuticamente eficaz", "cantidad profilácticamente eficaz" y "cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz", como se usa en el presente documento abarca las cantidades de dosificación descritas anteriormente y programas de frecuencia de dosis. Diferentes cantidades terapéuticamente eficaces pueden ser aplicables para diferentes enfermedades y afecciones, como será fácilmente conocido por los expertos en la técnica. De manera similar, cantidades suficientes para tratar o prevenir tales trastornos, pero insuficientes para causar, o suficientes para reducir, los efectos adversos asociados con 2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoinidindina-1,3-diona racémica también está abarcada por las cantidades de dosificación y los esquemas de frecuencia de dosis descritos anteriormente.

#### 4.3. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

[0061] La invención abarca composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitarias únicas que comprenden el Compuesto A, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo. Las formas de dosificación individuales de la invención pueden ser adecuadas para administración oral, mucosa (incluyendo rectal, nasal o vaginal), parenteral (incluida la inyección subcutánea, intramuscular, bolus, intraarterial o intravenosa), sublingual, transdérmica, bucal o tópica.

[0062] Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención comprenden el Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo farmacéuticamente aceptable, sal, solvato o hidrato de los mismos. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación de la invención también comprenden típicamente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

[0063] Una composición farmacéutica particular abarcada por esta realización comprende Compuesto A estereoméricamente puro, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato del mismo, y al menos un agente terapéutico adicional farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de agentes terapéuticos adicionales incluyen, entre otros: medicamentos contra el cáncer y terapias contra la inflamación que incluyen, entre otros, los enumerados anteriormente en la sección 4.2.

[0064] Las formas de dosificación de una sola unidad de la invención son adecuadas para administración oral, mucosal (p. ej., nasal, sublingual, vaginal, bucal, o rectal), parenteral (p. ej., subcutánea, intravenosa, inyección de bolo, intramuscular, o intraarterial), o administración transdérmica a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a: tabletas; cápsulas; comprimidos, tales como cápsulas de gelatina elástica blanda; sellos; troceos; pastillas; dispersiones; supositorios; ungüentos; cataplasmas; pastas; polvos; apósitos; cremas; emplastos; soluciones; parches; aerosoles (p. ej., aerosoles nasales o inhaladores); geles; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración oral o mucosa a un paciente, incluidas suspensiones (p. ej., suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite), soluciones y elixires; formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente; y sólidos estériles (p. ej., sólidos cristalinos o amorfos) que pueden reconstituirse para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente.

[0065] La composición, forma y tipo de formas de dosificación de la invención típicamente variarán dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma de dosificación utilizada en el tratamiento agudo de la inflamación o un trastorno relacionado puede contener cantidades mayores de uno o más de los ingredientes activos que comprende una forma de dosificación utilizada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. De manera similar, una forma de dosificación parenteral puede contener cantidades más pequeñas de uno o más de los ingredientes activos que comprende una forma de dosificación oral utilizada para tratar la misma enfermedad o trastorno. Estas y otras formas en que las formas de dosificación específicas abarcadas por esta invención variarán entre sí serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing, Easton PA (1990).

[0066] Las composiciones farmacéuticas típicas y las formas de dosificación comprenden uno o más excipientes. Los excipientes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica de la farmacia, y en este documento se proporcionan ejemplos no limitantes de excipientes adecuados. Si un excipiente particular es adecuado para su incorporación en una composición farmacéutica o forma de dosificación depende de una variedad de factores bien conocidos en la técnica, que incluyen, entre otros, la forma en que se administrará la forma de dosificación a un paciente. Por ejemplo, las formas de dosificación oral, como las tabletas, pueden contener excipientes no adecuados para su uso en formas de dosificación parenteral. La idoneidad de un excipiente particular también puede depender de los ingredientes activos específicos en la forma de dosificación.

[0067] Las composiciones sin lactosa de la invención pueden comprender excipientes que son bien conocidos en la técnica y se enumeran, por ejemplo, en la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) SP (XXI)/NF (XVI). En general,

las composiciones sin lactosa comprenden un ingrediente activo, un aglutinante/relleno y un lubricante en cantidades farmacéuticamente compatibles y farmacéuticamente aceptables. Las formas de dosificación sin lactosa preferidas comprenden un ingrediente activo, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado y estearato de magnesio.

5 **[0068]** Esta invención abarca además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras que comprenden ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, la adición de agua (p. ej., 5%) es ampliamente aceptada en las técnicas farmacéuticas como un medio para simular el almacenamiento a largo plazo con el fin de determinar características como la vida útil o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Ver, por ejemplo, Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2d. Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, pp. 379-80. En efecto, el agua y el calor aceleran la descomposición de algunos compuestos. Por lo tanto, el efecto del agua en una formulación puede ser de gran importancia ya que la humedad se encuentra comúnmente durante la fabricación, manipulación, envasado, almacenamiento, envío y uso de formulaciones.

15 **[0069]** Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención pueden prepararse usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden lactosa y al menos un ingrediente activo que comprende una amina primaria o secundaria son preferiblemente anhidras si se espera un contacto sustancial con la humedad durante la fabricación, envasado y/o almacenamiento.

20 **[0070]** Una composición farmacéutica anhidra debe prepararse y almacenarse de tal manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan preferiblemente usando materiales que se sabe que evitan la exposición al agua, de modo que pueden incluirse en kits de formularios adecuados. Los ejemplos de empaques adecuados incluyen, entre otros, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitarias (p. ej., viales), paquetes de blíster y paquetes de tiras.

25 **[0071]** La invención abarca además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más compuestos que reducen la velocidad a la que se descompondrá un ingrediente activo. Dichos compuestos, a los que se hace referencia aquí como "estabilizadores", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, tampones de pH o tampones de sal.

35 **[0072]** Al igual que las cantidades y tipos de excipientes, las cantidades y tipos específicos de ingredientes activos en una forma de dosificación pueden diferir dependiendo de factores tales como, pero no limitado a, la vía por la que se va a administrar a los pacientes. Sin embargo, las formas de dosificación típicas de la invención comprenden el compuesto A, o una sal, solvato, hidrato o polimoprofármaco farmacéuticamente aceptables del mismo se encuentran dentro del rango de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg por día, administrados en forma única una vez al día. Dosis por la mañana pero preferiblemente como dosis divididas a lo largo del día tomadas con alimentos. Más específicamente, la dosis diaria se administra dos veces al día en dosis igualmente divididas. Específicamente, un rango de dosis diaria debe ser de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por día, más específicamente, entre aproximadamente 10 mg y aproximadamente 200 mg por día. Al administrarse al paciente, la terapia debe iniciarse con una dosis más baja, quizás de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 25 mg, y aumentarse si es necesario hasta aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1.000 mg por día, ya sea en una dosis única o en dosis divididas, dependiendo de la respuesta global del paciente.

#### 45 **4.3.1. FORMAS DE DOSIFICACIÓN ORAL**

**[0073]** Las composiciones farmacéuticas de la invención que son adecuadas para administración oral se pueden presentar como formas de dosificación discretas, tales como, pero sin limitarse a, tabletas (p. ej., comprimidos masticables), comprimidos oblongos, cápsulas y líquidos (p. ej., jarabes aromatizados). Dichas formas de dosificación contienen cantidades predeterminadas de ingredientes activos, y pueden prepararse por métodos farmacéuticos bien conocidos por los expertos en la técnica. Ver, en general, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing, Easton PA (1990).

55 **[0074]** Las formas de dosificación orales típicas de la invención se preparan combinando el ingrediente activo en una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con técnicas de composición farmacéutica convencionales. Los excipientes pueden tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Por ejemplo, los excipientes adecuados para uso en líquido oral o formas de dosificación líquidas o en aerosol adecuadas para el uso incluyen, pero no se limitan a, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes y agentes colorantes. Los ejemplos de excipientes adecuados para uso en formas de dosificación oral sólidas (p. ej., polvos, tabletas, cápsulas y comprimidos) incluyen, entre otros, almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, y agentes desintegranes.

65 **[0075]** Debido a su facilidad de administración, tabletas y cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso se emplean excipientes sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse con técnicas estándar acuosas o no acuosas. Dichas formas de dosificación pueden prepararse por cualquiera de

los métodos de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación se preparan mezclando los ingredientes activos de manera uniforme e íntima con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego conformando el producto en la presentación deseada si es necesario.

5 **[0076]** Por ejemplo, un comprimido puede prepararse por compresión o moldeo. Los comprimidos pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada los ingredientes activos en una forma de flujo libre, como polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con un excipiente. Las tabletas moldeadas pueden fabricarse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

10 **[0077]** Los ejemplos de excipientes que pueden usarse en las formas de dosificación oral de la invención incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, cargas, desintegrantes y lubricantes. Los ligantes adecuados para uso en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz, almidón de patata u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (p. ej., etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilcelulosa sódica), polivinilpirrolidona, celulosa de metilo, almidón pregelatinizado, hidroxipropilo celulosa de metilo, (p. ej., N<sup>os</sup> 2208, 2906,2910), celulosa microcristalina y mezclas de los mismos.

20 **[0078]** Los ejemplos de cargas adecuadas para uso en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación descritas en el presente documento incluyen, talco, carbonato de calcio (p. ej., gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado y mezclas de los mismos. El aglutinante o la carga en las composiciones farmacéuticas de la invención está presente típicamente en aproximadamente 50 a aproximadamente 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

25 **[0079]** Las formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, pero no se limitan a, los materiales vendidos como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (disponible de FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA), y mezclas de los mismos. Un aglutinante específico es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica vendida como AVICEL RC-581. Los excipientes o aditivos anhidros o de baja humedad adecuados incluyen AVICEL-PH-103<sup>TM</sup> y Starch 1500 LM.

30 **[0080]** Los desintegrantes se utilizan en las composiciones de la invención para proporcionar comprimidos que se desintegran cuando se exponen a un entorno acuoso. Las tabletas que contienen demasiado desintegrante pueden desintegrarse en el almacenamiento, mientras que las que contienen muy poco pueden no desintegrarse a la velocidad deseada o en las condiciones deseadas. Por lo tanto, debe usarse una cantidad suficiente de desintegrante que no sea ni demasiado grande para alterar perjudicialmente la liberación de los ingredientes activos para formar formas de dosificación oral sólidas de la invención. La cantidad de desintegrante utilizada varía en función del tipo de formulación, y es fácilmente perceptible para los expertos en la técnica. Las composiciones farmacéuticas típicas comprenden de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 15 por ciento en peso de desintegrante, específicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 por ciento en peso de desintegrante.

35 **[0081]** Los desintegrantes que pueden usarse en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, entre otros, agar-agar, ácido algínico, carbonato de calcio, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona, polacrilina potásica, gicolato de almidón de sodio, almidón de patata o tapioca, almidón pregelatinizado, otras arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas y mezclas de los mismos.

40 **[0082]** Los lubricantes que pueden usarse en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación de la invención incluyen, pero no se limitan a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (p. ej., aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de etilo, laureato de etilo, agar, y mezclas de los mismos. Los lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice sídico (AEROSIL 200, fabricado por WR Grace Co. de Baltimore, MD), un aerosol coagulado de sílice sintética (comercializado por Degussa Co. de Plano, TX), CAB-O-SIL (un producto de dióxido de silicio pirogénico vendido por Cabot Co. de Boston, MA), y mezclas de los mismos. Si se usan, los lubricantes se usan típicamente en una cantidad de menos de aproximadamente 1 por ciento en peso de las composiciones farmacéuticas o formas de dosificación en las que se incorporan.

#### **4.3.2. FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE LIBERACIÓN RETARDADA**

60 **[0083]** Los ingredientes activos de la invención se pueden administrar por medios de liberación controlada o por dispositivos de administración que son bien conocidos por los expertos normales en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las patentes de EE.UU. N<sup>os</sup> 3,845,770; 3,916,899; 3,536,809; 3,598,123; y 4,008,719, 5,674,533, 5,059,595, 5,591,767, 5,120,548, 5,073,543, 5,639,476, 5,354,556 y 5,733,566. Dichas formas de dosificación se pueden usar para proporcionar una liberación lenta o controlada de uno o más ingredientes activos usando, por ejemplo, hidropropilmetilcelulosa, otras matrices de polímeros, geles, membranas móviles, sistemas osmóticos, recubrimientos multicapa, micropartículas, liposomas, microesferas, o una combinación

de los mismos para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones adecuadas de liberación controlada conocidas por los expertos en la técnica, incluyendo las descritas en este documento, pueden seleccionarse fácilmente para su uso con los ingredientes activos de la invención. La invención, por lo tanto, abarca formas de dosis unitarias únicas adecuadas para la administración oral, tales como, pero no limitadas a, comprimidos, cápsulas, tabletas de gel y comprimidos que están adaptados para la liberación controlada.

**[0084]** Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen un objetivo común de mejorar la terapia con medicamentos sobre la conseguida por sus homólogos no controlados. Idealmente, el uso de una preparación de liberación controlada de diseño óptimo en el tratamiento médico se caracteriza porque se emplea un mínimo de sustancia farmacéutica para curar o controlar la afección en un período mínimo de tiempo. Las ventajas de las formulaciones de liberación controlada incluyen la actividad extendida del fármaco, la frecuencia de dosificación reducida y el mayor cumplimiento por parte del paciente. Además, las formulaciones de liberación controlada pueden usarse para afectar el momento de inicio de la acción u otras características, como los niveles en sangre del fármaco, y por lo tanto pueden afectar la aparición de efectos secundarios (p. ej., efectos adversos).

**[0085]** La mayoría de las formulaciones de liberación controlada están diseñadas para liberar inicialmente una cantidad de fármaco (ingrediente activo) que produce rápidamente el efecto terapéutico deseado, y gradualmente y liberan continuamente otras cantidades de fármaco para mantener este nivel de efecto terapéutico o profiláctico durante un periodo de tiempo extendido. Para mantener este nivel constante de fármaco en el cuerpo, el fármaco debe ser liberado de la forma de dosificación a una velocidad que reemplace la cantidad de fármaco que se metaboliza y excreta del cuerpo. La liberación controlada de un ingrediente activo puede ser estimulada por varias condiciones que incluyen, entre otras, pH, temperatura, enzimas, agua u otras condiciones o compuestos fisiológicos.

#### **4.3.3. FORMAS DE DOSIS PARENTALES**

**[0086]** Las formas de dosificación parenteral se pueden administrar a los pacientes por varias vías que incluyen, pero no se limitan a, subcutánea, intravenosa (incluida la inyección en bolo), intramuscular e intraarterial. Debido a que su administración generalmente pasa por alto las defensas naturales de los pacientes contra los contaminantes, las formas de dosificación parenteral son preferiblemente estériles o pueden esterilizarse antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, pero no se limitan a, soluciones listas para inyección, productos secos listos para disolverse o suspendidos en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección, suspensiones listas para inyección y emulsiones.

**[0087]** Los vehículos adecuados que se pueden utilizar para proporcionar formas de dosificación parenterales de la invención son bien conocidos para los expertos en la técnica. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero no limitados a, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, y inyección de Ringer lactato; vehículos miscibles con agua tales como, pero no limitados a, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero no limitados a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuate, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

**[0088]** Los compuestos que aumentan la solubilidad de uno o más de los ingredientes activos descritos en el presente documento también se pueden incorporar en las formas farmacéuticas parenterales de la invención.

#### **4.3.4. FORMAS DE DOSIFICACIÓN TRANSDERMAL, TÓPICA Y MUCOSAL**

**[0089]** Las formas de dosificación transdérmica, tópica y mucosa de la invención incluyen, pero no se limitan a, soluciones oftálmicas, pulverizaciones, aerosoles, cremas, lociones, pomadas, geles, soluciones, emulsiones, suspensiones u otras formas conocidas por un experto en la técnica. Ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª y 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1980 y 1990); e Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4ª ed., Lea & Febiger, Filadelfia (1985). Las formas de dosificación adecuadas para tratar tejidos de la mucosa dentro de la cavidad oral se pueden formular como enjuagues bucales o como geles orales. Además, las formas de dosificación transdérmica incluyen parches de "tipo de reservorio" o "tipo de matriz", que pueden aplicarse a la piel y usarse durante un período específico de tiempo para permitir la penetración de una cantidad deseada de ingredientes activos.

**[0090]** Los excipientes adecuados (p. ej., vehículos y diluyentes) y otros materiales que pueden ser utilizados para proporcionar formas de dosificación transdérmica, tópica, y de mucosa abarcadas por esta invención son bien conocidos por los expertos en las técnicas farmacéuticas, y dependen del tejido particular, al que se aplicará una composición farmacéutica o forma de dosificación dada. Con ese hecho en mente, los excipientes típicos incluyen, pero no se limitan a, agua, acetona, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral y mezclas de los mismos para formar lociones, tinturas, cremas, emulsiones, geles o pomadas, que no son tóxicos y son farmacéuticamente aceptables. Si se desea, también se pueden agregar humectantes a las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación. Ejemplos de tales ingredientes

adicionales son bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª y 18ª ed., Mack Publishing, Easton PA (1980 y 1990).

[0091] Dependiendo del tejido específico a tratar, los componentes adicionales se pueden utilizar antes de, conjuntamente con, o posteriormente al tratamiento con ingredientes activos de la invención. Por ejemplo, se pueden usar mejoradores de la penetración para ayudar a administrar los ingredientes activos al tejido. Los potenciadores de penetración adecuados incluyen, pero no se limitan a: acetona; diversos alcoholes tales como etanol, oleilo y tetrahidrofurilo; alquilo sulfóxidos tales como dimetilsulfóxido; dimetilo acetamida; dimetilformamida; polietilenglicol; pirrolidonas tales como polivinilpirrolidona; grados de Kollidon (povidona, polividona); urea; y varios ésteres de azúcar solubles en agua o insolubles, tales como Tween 80 (polisorbato 80) y Span 60 (monoestearato de sorbitán).

[0092] El pH de una composición o forma de dosificación farmacéutica, o del tejido al que se aplica la composición o forma de dosificación farmacéutica, también se puede ajustar para mejorar la administración de uno o más ingredientes activos. De manera similar, la polaridad de un portador de solvente, su fuerza iónica o tonicidad se pueden ajustar para mejorar el suministro. Los compuestos tales como estearatos también pueden añadirse a composiciones farmacéuticas o formas de dosificación para alterar ventajosamente la hidrofiliicidad o lipofiliicidad de uno o más ingredientes activos para mejorar la administración. A este respecto, los estearatos pueden servir como un vehículo lipídico para la formulación, como un agente emulsionante o tensioactivo, y como un agente de mejora de la administración o de la penetración. Se pueden usar diferentes sales, hidratos o solvatos de los ingredientes activos para ajustar aún más las propiedades de la composición resultante.

#### 4.3.5. KITS

[0093] Típicamente, los ingredientes activos de la invención no se administran preferiblemente a un paciente al mismo tiempo o por la misma vía de administración. Por lo tanto, esta invención abarca kits que, cuando son utilizados por el médico, pueden simplificar la administración de cantidades apropiadas de ingredientes activos a un paciente.

[0094] Un kit típico de la invención comprende una forma de unidad de dosificación del compuesto A, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato o polimorfo del mismo, y una forma de dosificación unitaria de un segundo ingrediente activo. Los ejemplos de segundos ingredientes activos incluyen, pero no se limitan a, los enumerados en la sección 4.2 anterior.

[0095] Los kits de la invención pueden comprender además dispositivos que se usan para administrar el (los) ingrediente(s) activo(s). Los ejemplos de dichos dispositivos incluyen, entre otros, jeringas, bolsas de goteo, parches e inhaladores.

[0096] Los kits de la invención pueden comprender además vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse para administrar uno o más ingredientes activos. Por ejemplo, si se proporciona un ingrediente activo en una forma sólida que debe reconstituirse para la administración parenteral, el kit puede comprender un contenedor sellado de un vehículo adecuado en el cual el ingrediente activo se puede disolver para formar una solución estéril libre de partículas que es adecuado para administración parenteral. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a: agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero no limitados a, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, e inyección de Ringer lactato; vehículos miscibles con agua tales como, pero no limitados a, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero no limitados a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo.

## 5. EJEMPLOS

### 5.1. EJEMPLO DE REFERENCIA 1: SÍNTESIS DE 2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENILO)-2-METILSULFONILETILO]-4-ACETILAMINOISOINDOLINA-1,3-DIONA

[0097] Una solución agitada de 1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilamina (1,0 g, 3,7 mmol) y anhídrido 3-acetamidofáltico (751 mg, 3,66 mmol) en ácido acético (20 ml) se calentó a reflujo durante 15 h. El disolvente se eliminó a vacío para dar un aceite. La cromatografía del aceite resultante produjo el producto como un sólido amarillo (1,0 g, 59% de rendimiento): pf, 144°C; <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) delta 1,47 (t, J = 7,0 Hz, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,75 (dd, J = 4,4, 14,3 Hz, 1H, CHH), 3,85 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 4,11 (q, J = 7 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>), 5,87 (dd, J = 4,3, 10,5 Hz, 1H, NCH), 6,82 - 6,86 (m, 1H, Ar), 7,09-7,11 (m, 2H, Ar), 7,47 (d, J = 7 Hz, 1H, Ar), 7,64 (t, J = 8 Hz, 1H, Ar), 8,74 (d, J = 8 Hz, 1H, Ar), 9,49 (br s, 1H, NH); <sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>) delta 14,61, 24,85, 41,54, 48,44, 54,34, 55,85, 64,43, 111,37,112,34, 115,04, 118,11, 120,21, 124,85, 129,17, 130,96, 136,01, 137,52, 148,54, 149,65, 167,38, 169,09, 169,40; Anal calc. para C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>7</sub>S: C, 57,38; H, 5,25; N, 6,08. Encontrado: C, 57,31; H, 5,34; N, 5,83.

### 5.2. EJEMPLO 2: SÍNTESIS DE (+)2-[1-(3-ETOXI-4-METOXIFENILO)-2-METILSULFONILETILO]-4-

**ACETILAMINOISOINDOLINA-1,3-DIONA***Preparación del ácido 3-aminofáltico.*

5 **[0098]** Se cargaron 10% de Pd/C (2,5 g), ácido 3-nitroftálico (75,0 g, 355 mmol) y etanol (1,5 l) en un hidrogenador Parr de 2,5 l, bajo una atmósfera de nitrógeno. Se cargó hidrógeno en el recipiente de reacción hasta 55 psi. La mezcla se agitó durante 13 horas, manteniendo la presión de hidrógeno entre 50 y 55 psi. Se liberó hidrógeno y la mezcla se purgó con nitrógeno 3 veces. La suspensión se filtró a través de un lecho de celite y se enjuagó con metanol. El filtrado se concentró *al vacío*. El sólido resultante se suspendió en éter y se aisló por filtración al vacío. El sólido se secó *al vacío* hasta un peso constante, proporcionando 54 g (84% de rendimiento) de ácido 3-aminofáltico como un producto amarillo. <sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 3,17 (s, 2H), 6,67 (d, 1H), 6,82 (d, 1H), 7,17 (t, 1H), 8-10 (brs, 2H). <sup>13</sup>C-RMN (DMSO - d<sub>6</sub>) δ: 112,00, 115,32, 118,20, 131,28, 135,86, 148,82, 169,15, 170,09.

*Preparación de anhídrido 3-acetamidofáltico*

15 **[0099]** Un matraz de fondo redondo de 1 L de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, termómetro y condensador y se cargó con ácido 3-aminofáltico (108 g, 596 mmol) y anhídrido acético (550 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 horas y se enfrió a temperatura ambiente y más a 0-5°C durante 1 hora más. El sólido cristalino se recogió por filtración al vacío y se lavó con éter. El producto sólido se secó *al vacío* a temperatura ambiente hasta un peso constante, dando 75 g (61% de rendimiento) de anhídrido 3-acetamidofáltico como un producto blanco. <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,21 (s, 3H), 7,76 (d, 1H), 7,94 (t, 1H), 8,42 (d, 1H), 9,84 (s, <sup>1</sup>H).

*Resolución de 2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina*

25 **[0100]** Un matraz de fondo redondo de 3 l de 3 bocas se equipó con un agitador mecánico, termómetro y condensador y se cargó con 2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina (137,0 g, 500 mmol), N-acetilo-L-leucina (52 g, 300 mmol) y metanol (1,0 L). La suspensión agitada se calentó a reflujo durante 1 hora. La mezcla agitada se dejó enfriar a temperatura ambiente y la agitación se continuó durante otras 3 horas a temperatura ambiente. La suspensión se filtró y se lavó con metanol (250 ml). El sólido se secó al aire y luego se secó *al vacío* a temperatura ambiente hasta un peso constante, dando 109,5 g (rendimiento del 98%) del producto bruto (85,8% ee). El sólido bruto (55,0 g) y el metanol (440 mL) se llevaron a reflujo durante 1 hora, se enfriaron a temperatura ambiente y se agitaron durante 3 horas adicionales a temperatura ambiente. La suspensión se filtró y la torta del filtro se lavó con metanol (200 ml), el sólido se secó al aire y luego se secó *al vacío* a 30°C hasta un peso constante, produciendo 49,6 g (90% de recuperación) de sal de (S)-2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina-N-acetilo-L-leucina (98,4% de ee). HPLC quiral (1/99 EtOH/20 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> @pH 7,0, Ultron Chiral ES-OVS de Agilent Technologies, 150 mm x 4,6 mm, 0,5 ml/min, @240 nm): 18,4 min (S-isómero, 99,2%), 25,5 min (R-isómero, 0,8%).

*Preparación del compuesto A*

40 **[0101]** Un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 500 ml se equipó con un agitador mecánico, termómetro, y condensador. El recipiente de reacción se cargó con sal de N-acetilo-L-leucina de (S)-2-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-1-(metilsulfonilo)-et-2-ilamina (25 g, 56 mmol, 98% ee), anhídrido 3-acetamidofáltico (12,1 g 58,8 mmol) y ácido acético glacial (250 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante una noche y luego se enfrió a <50°C. El disolvente se eliminó *al vacío* y el residuo se disolvió en acetato de etilo. La solución resultante se lavó con agua (250 ml x 2), solución saturada acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (250 ml x 2), salmuera (250 ml x 2), y se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se evaporó *al vacío* y el residuo se recristalizó en un disolvente binario que contenía etanol (150 ml) y acetona (75 ml). El sólido se aisló por filtración al vacío y se lavó con etanol (100 ml x 2). El producto se secó *al vacío* a 60°C hasta un peso constante, proporcionando 19,4 g (75% de rendimiento) de S-[2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfonietilo]-4-aminoisoindolina-1,3-diona con 98% ee. HPLC quiral (15/85 EtOH/20 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> @ pH<sub>3,5</sub>, Ultron Chiral ES-OVS de Agilent Technology, 150 mm x 4,6 mm, 0,4 ml/min, @ 240 nm): 25,4 min (S-isómero, 98,7%), 29,5 min (R-isómero, 1,2%). <sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,47 (t, 3H), 2,26 (s, 3H), 2,87 (s, 3H), 3,68-3,75 (dd, 1H), 3,85 (s, 3H), 4,07-4,15 (q, 2H), 4,51-4,61 (dd, 1H), 5,84-5,90 (dd, 1H), 6,82-8,77 (m, 6H), 9,46 (s, 1H). <sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 14,66, 24,92, 41,61, 48,53, 54,46, 55,91, 64,51, 111,44, 112,40, 115,10, 118,20, 120,28, 124,94, 129,22, 131,02, 136,09, 137,60, 148,62, 149,74, 167,46, 169,14, 169,48.

**5.3. EJEMPLO 3: INHIBICIÓN DE TNF-α***Ensayo de TNF-α inducido por LPS de sangre total humana*

60 **[0102]** La capacidad de los compuestos para inhibir producción de TNF-α inducida por LPS por sangre entera humana se midió esencialmente como se describe a continuación para ensayo de TNF-α inducida por LPS en PBMC humano, excepto que la sangre completa recién extraída se utilizó en lugar de PBMC. (George Muller, et al. 1999, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 9; 1625-1630.). TNF-α inducida por LPS en sangre humana entera CI<sub>50</sub> - 294 nm

*Inhibición de TNF-α en suero inducida por LPS de ratón*



**[0103]** Los compuestos se analizaron en este modelo animal de acuerdo con los métodos descritos anteriormente (Corral et al. 1996, Mol. Med 2: 506-515). Inhibición de TNF- $\alpha$  en suero inducida por LPS de ratón (ED<sub>50</sub>, mg/kg, p.o.) =0,05.

5

*Producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS*

**[0104]** El lipopolisacárido (LPS) es una endotoxina producida por bacterias gramnegativas, como *E. coli*, que induce la producción de muchas citoquinas pro-inflamatorias, incluido el TNF- $\alpha$ . En las células mononucleares de sangre periférica (PBMC), el TNF- $\alpha$  producido en respuesta a LPS se deriva de los monocitos, que comprenden aproximadamente el 5-20% de las PBMC totales. Los compuestos se ensayaron para la capacidad de inhibir producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS a partir de PBMC humano como se ha descrito previamente (Muller et al 1996, J. Med Chem. 39: 3238). Las PBMC de donantes normales se obtuvieron mediante centrifugación de densidad de Ficoll Hypaque (Pharmacia, Piscataway, NJ, EE.UU.). Las células se cultivaron en RPMI (Life Technologies, Grand Island, NY, EE.UU.) suplementado con un 10% de suero humano AB $\pm$  (Gemini Bio-products, Woodland, CA, EE.UU.), L-glutamina 2 mM, 100 U/ml de penicilina y 100  $\mu$ g/ml de estreptomina (Life Technologies).

10

15

**[0105]** PBMC (2 x 10<sup>5</sup> células) se sembraron en placas de 96 pocillos de cultivo de tejidos Costar de fondo plano (Corning, NY, EE.UU.) por triplicado. Las células se estimularon con LPS (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.) a 100 ng/ml en ausencia o presencia de compuestos. Los compuestos (Celgene Corp., Warren, NJ, EE.UU.) se disolvieron en DMSO (Sigma) y se realizaron diluciones adicionales en medio de cultivo inmediatamente antes del uso. La concentración final de DMSO en todas las muestras fue del 0,25%. Los compuestos se añadieron a las células 1 hora antes de la estimulación con LPS. Las células se incubaron durante 18-20 horas a 37°C en 5% de CO<sub>2</sub> y luego se recogieron los sobrenadantes, se diluyeron con medio de cultivo y se ensayaron para niveles de TNF- $\alpha$  mediante ELISA (Endogen, Boston, MA, EE.UU.). TNF- $\alpha$  inducida por LPS CI<sub>50</sub> = 77 nM.

20

25

*Producción de TNF- $\alpha$  inducida por ZL-1 $\beta$*

**[0106]** Durante el curso de las enfermedades inflamatorias, la producción de TNF- $\alpha$  es a menudo estimulada por la citoquina IL-1 $\beta$ , en lugar de por el LPS derivado de bacterias. Los compuestos se ensayaron para la capacidad de inhibir IL-1 $\beta$  inducida por producción de TNF- $\alpha$  a partir de PBMC humana como se describe anteriormente para producción de TNF- $\alpha$  inducida por LPS, excepto que PBMC se aislaron a partir de unidades de leucocitos fuente (Sera-Tec Biologicals, North Brunswick, NJ, EE.UU.) Mediante centrifugación en Ficoll-Paque Plus (Amersham Pharmacia, Piscataway, NJ, EE.UU.), Sembradas en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a 3 x 10<sup>5</sup> células/pocillo en medio RPMI-1640 (Bio Whittaker, Walkersville, Mariland, EE.UU.) que contenía un 10% de suero bovino fetal inactivado por calor (Hyclone), L-glutamina 2 mM, 100 U/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomina (medio completo), pretratado con compuestos a 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 y 0  $\mu$ M por duplicado a una concentración final de DMSO de 0,1% a 37°C en una incubadora humidificada a 5% de CO<sub>2</sub> durante 1 hora, luego estimulada con 50 ng/ml de IL-1 $\beta$  humana recombinante (endógena) durante 18 horas. IL- $\beta$  inducida por TNF- $\alpha$  CI<sub>50</sub> = 83 nM.

30

35

40

**5.4. EJEMPLO 4: SELECTIVIDAD DE PDE**

*PDE1, 2, 3, 5 y 6 ensayos enzimáticos*

**[0107]** La especificidad de los compuestos para PDE4 se evaluó mediante la prueba a una sola concentración (10  $\mu$ M) contra PDE1 bovino, PDE2 humano, PDE3 y PDE5 de plaquetas humanas (Hidaka y Asano 1976, Biochem. Biophys. Acta 429:485 y Nichol森 et al. 1991, Trends Pharmacol. Sci. 12:19), y PDE6 de los segmentos externos de la barra retiniana bovina (Baehr et al. 1979, J. Biol. Chem. 254:11669, y Gillespie et al. 1989, Mol. Pharm. 36: 773). Los resultados se enumeran en la Tabla 1.

50

*Ensayo de enzima PDE7*

**[0108]** La PDE7 es una PDE selectiva de AMPc expresada principalmente en células T y en músculo esquelético. Las citoquinas derivadas de células T, como la IL-2 y el IFN- $\gamma$ , son potencialmente regulables mediante la inhibición de la PDE7. PDE7 se purificó a partir de células T humanas Hut78 mediante cromatografía de intercambio aniónico como se describió anteriormente (Bloom y Beavo 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 93: 14188-14192). Los compuestos se ensayaron contra la preparación de PDE7 en presencia de cAMP 10 nM como se describe para PDE4 en la Tabla 1 a continuación.

55

60

65

Tabla 1.

	Compuesto racémico	Compuesto A	Compuesto B*
5	<b>Inhibición PDB</b>		
	PDE4 CI <sub>50</sub> (de células U937) (µM)	81,8	73,5
	PDE1 (% inhib a 10 µM)	9%	23%
10	PDE2 (% inhib a 10 µM)	19%	6%
	PDE3 (% inhib a 10 µM)	21%	20%
		31%	
	Compuesto racémico	Compuesto A	Compuesto B*
	<b>Inhibición PDB</b>		
15	PDE5 (% inhib a 10 µM)	3%	3%
	PDE6 (% inhib a 10 µM)	ND	-6%
	PDB7 CI <sub>50</sub> (nM)	22110	20500
		ND	ND
	Compuesto racémico	Compuesto A	Compuesto B*
20	<b>Relaciones de especificidad PDR de datos anteriores (*veces)</b>		
	PDE4/PDE1	>2700	>500
	PDE4/PDE2	>800	>10000
	PDE4/PDE3	>670	>1200
25	PDB4/PDE5	>12000	>30000
	PDE4/PDE6	ND	>40000
	PDE7 CI <sub>50</sub> /PDE4 CI <sub>50</sub>	270	279
		ND	ND
	*Compuesto B es el enantiómero opuesto del Compuesto A.		

## 5.5.

**EJEMPLO 5: INHIBICIÓN DE PDE4.**35 *Ensayo enzimático PDE4 (derivado de células U937)*

[0109] La enzima PDE4 se purificó a partir de células monocíticas humanas U937 mediante cromatografía de filtración en gel como se describe previamente (Muller et al. 1998, Bioorg. & Med Chem Lett 8: 2669-2674). Reacciones de la fosfodiesterasa se llevaron a cabo en Tris HCl 50 mM pH 7,5, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µM cAMP, 10 nM [<sup>3</sup>H]-cAMP durante 30 min a 30° C, terminada por ebullición, se trató con 1 mg/ml de veneno de serpiente, y se separó usando resina de intercambio iónico AG-1XS (BioRad) como se describe (Muller et al. 1998, Bioorg. & Med Chem Lett 8: 2669-2674). Las reacciones consumieron menos del 15% del sustrato disponible. Los resultados se enumeran en la Tabla 1.

45 **5.6. EJEMPLO 6: ENSAYOS DE CÉLULAS T HUMANAS.***Producción de IL-2 e IFN-γ inducida por SEB*

[0110] La enterotoxina B estafilocócica (SEB) es un superantígeno derivado de las bacterias grampositivas *Staphylococcus aureus*. SEB proporciona un estímulo fisiológico conveniente específico para las células T que expresan cadenas Vβ del receptor de células T particulares. Las PBMC humanas (que consisten en aproximadamente 50% de células T) se aislaron de las unidades de leucocitos de origen como se describió anteriormente y se colocaron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a 3 x 10<sup>5</sup> células/pocillo en medio completo, pretratadas con compuestos a 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 y 0 µM por duplicado a una concentración final de DMSO de 0,1% a 37°C en una incubadora humidificada a 5% de CO<sub>2</sub> durante 1 hora, luego estimulada con 100 ng/ml de SEB (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EE.UU.) durante 18 horas. Los niveles de IL-2 e IFN-γ se midieron mediante ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.). IL-2 CI<sub>50</sub> = 291 nM. IFN-γ CI<sub>50</sub> = 46 nM.

60 **5.7. EJEMPLO 6: ENSAYOS DE ELEVACIÓN DE cAMP***Elevación del cAMP inducida PGE<sub>2</sub>*

[0111] La prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) se une a los receptores prostanoideos E<sub>2</sub> en monocitos, células T y otros leucocitos y, por consiguiente, eleva los niveles de AMPc intracelular, lo que resulta en la inhibición de las respuestas celulares.

La combinación de PGP<sub>2</sub> y un inhibidor de PDE4 eleva de forma sinérgica los niveles de cAMP en estos tipos de células, y la elevación de cAMP en PBMC causada por los inhibidores de PDE4 en presencia de PGE<sub>2</sub> es proporcional a la actividad inhibitoria de ese inhibidor de PDE4. El cAMP intracelular se midió en PBMC humanas de la siguiente manera. Las PBMC se aislaron como se describió anteriormente y se colocaron en placas de 96 pocillos a 1 x 10<sup>6</sup> células por pozo en RPMI-1640. Las células se trataron previamente con compuestos a 100, 10, 1, 0,1, 0,01 y 0 µM en una concentración final de DMSO al 2% por duplicado a 37°C en una incubadora humidificada a 5% de CO<sub>2</sub> durante una hora. A continuación, las células se estimularon con PGE<sub>2</sub> (10 µM Sigma) durante 1 h. Las células se lisaron con HCl, concentración final de 0,1 N para inhibir la actividad de la fosfodiesterasa y las placas se congelaron a -20°C. El cAMP producido se midió usando kit de inmunoensayo de cAMP (bajo pH) (R&D Systems). PBMC cAMP CE<sub>50</sub> para racemato es de 3,09 µM. PBMC cAMP CE<sub>50</sub> para Compuesto A es de 1,58 µM.

**[0112]** La elevación de cAMP en neutrófilos humanos se midió del siguiente modo. Las PBMC se eliminaron de los leucocitos de origen (Sera-Tec Biologicals) mediante centrifugación en FicollPaque Plus (Amersham Pharmacia). El sedimento resultante de eritrocitos/células poliamorfonucleares (PMN) se resuspendió en solución salina equilibrada de Hank (BioWhittaker) y se mezcló con un volumen igual de Dextran T-500 al 3% (Amersham Pharmacia) en solución salina al 0,9%. Los eritrocitos se dejaron sedimentar durante 20 minutos, y los PMN se eliminaron y se centrifugaron a 120 rpm durante 8 minutos a 4°C. Los eritrocitos restantes se lisaron en solución salina al 0,2% en frío durante 30 segundos, y las células se restauraron a isotonicidad mediante la adición de un volumen igual de solución salina al 1,6%. Los PMN se centrifugaron a 1200 rpm durante 8 minutos a 4°C, luego se resuspendieron en RPMI-1640 y se analizó la elevación del AMPc como se describe para las PBMC anteriores. PMN se encontró que era aproximadamente 74% CD18/CD11b<sup>+</sup>, 71% CD16<sup>+</sup>CD9<sup>+</sup> neutrófilos por citometría de flujo en un FACSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA, EE.UU.). Los resultados se muestran en la Tabla 2,

#### *Producción de LTB4 inducida por fMLF*

**[0113]** N-formilo-metionina-leucina-fenilalanina (fMLF) es un péptido derivado de la bacteria que activa los neutrófilos para degranular, migrar, adherirse a las células endoteliales y liberar el leucotrieno LTB<sub>4</sub>, un producto del metabolismo del ácido araquidónico y en sí mismo como un producto químico neutrófilo. Los compuestos se ensayaron para determinar la capacidad de bloquear la producción de LTB<sub>4</sub> de neutrófilos inducida por fMLF como se describió anteriormente (Hatzelmann y Schudt 2001, J. Pharm. Exp. Ther. 297: 267-279), con las siguientes modificaciones. Los neutrófilos se aislaron como se describe anteriormente y se resuspendieron en solución salina tamponada con fosfato sin calcio o magnesio (BioWhittaker) que contiene 10 mM HEPES pH 7,2 y se sembraron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a una concentración de 1,7 x 10<sup>6</sup> células/pocillo. Las células se trataron con timerosal 50 µM (Sigma)/1 mM CaCl<sub>2</sub>/1 mM MgCl<sub>2</sub> durante 15 minutos a 37°C 5% de CO<sub>2</sub>, después se trata con compuestos a 1.000, 200, 40, 8, 1,6, 0,32, 0,064 y 0 nM en una concentración final de DMSO de 0,01% por duplicado durante 10 minutos. Los neutrófilos se estimularon con fMLF 1 µM durante 30 minutos, luego se lisaron mediante la adición de metanol (concentración final del 20%) y se congelaron en un baño de hielo seco/isopropanol durante 10 minutos. Los lisados se almacenaron a -70°C hasta que el contenido de LTB<sub>4</sub> se midió mediante LTB<sub>4</sub> ELISA competitivo (R&D Systems). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

#### *Producción de IL-8 inducida por zimosan*

**[0114]** Zimosán A, o la levadura muerta por calor *Saccharomyces cerevisiae*, se une a la molécula de adhesión Mac-1 en la superficie de neutrófilos y desencadena la fagocitosis, la activación de las células y la producción de IL-8, La producción de IL-8 inducida por el zimosán se midió como se describió anteriormente (Au et al. 1998, Brit. J. Pharm. 123:1260-1266) con las siguientes modificaciones. Los neutrófilos humanos se purificaron como se describió anteriormente, se colocaron en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos a 3x10<sup>5</sup> células/pocillo en medio completo, se trataron con compuestos a 10, 2, 0,4, 0,08, 0,016, 0,0032, 0,00064 y 0 µM por duplicado en una concentración final de DMSO de 0,1% durante 1 hora a 37°C 5% de CO<sub>2</sub>, Los neutrófilos se estimularon luego con Zimosán A (Sigma) hervido, sin detonar, a 2,5 x 10<sup>5</sup> partículas/pocillo durante 18 horas. Los sobrenadantes fueron recolectados y analizados para IL-8 por ELISA (R&D Systems). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

#### *Expresión de CD18/CD11b inducida por fMLF*

**[0115]** La expresión de CD18/CD11b (Mac-1) en neutrófilos se midió como se describió previamente (Derian et al. 1995, J. Immunol.: 154: 308-3 17) con las siguientes modificaciones. Los neutrófilos se aislaron como se describió anteriormente, a continuación, luego se resuspendió en medio completo a 1x10<sup>6</sup> células/ml, previamente tratadas con compuestos a 10, 1, 0,1, 0,01, y 0 µM por duplicado a una concentración final de DMSO de 0,1% durante 10 minutos a 37°C 5% de CO<sub>2</sub>, Las células se estimularon con fMLF 30 nM durante 30 minutos y luego se enfriaron a 4°C. Las células fueron tratadas con IgG de conejo (Jackson ImmunoResearch Labs, West Grove, PA, EE.UU.) (10 µg/1x10<sup>6</sup> células) para bloquear los receptores Fc, se tiñeron con CD18-FITC y CD11b-PE (Becton Dickinson), y se analizaron por citometría de flujo en un FACSCalibur. La expresión de CD18/CD11b (fluorescencia media) en ausencia de estimulación se restó de todas las muestras para obtener curvas de inhibición y calcular CI<sub>50</sub>s. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

#### *Adherencia inducida por fMLF a HUVEC*

[0116] Se utilizaron células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) como sustrato para la adhesión de neutrófilos como se describe previamente (Derian et al 1995, J. Immunol.: 154.: 308-317) con las siguientes modificaciones. Las células HUVEC se obtuvieron de Anthrogenesis (Cedar Knolls, NJ, EE.UU.) y los neutrófilos no se trataron con citocalasina B. Las células se trataron con compuestos a 10, 1, 0,1, 0,01, 0,001 y 0  $\mu$ M en una concentración final de DMSO de 0,1% en duplicado por 10 minutos, se estimularon con fMLF 500 nM durante 30 minutos y se lavaron dos veces con PBS antes de medir la fluorescencia en un lector de placas FLX800 (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, EE.UU.). Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.

Ensayos de neutrófilos humanos (todos los valores en nM)	Compuesto racémico	Compuesto A
cAMP CE <sub>50</sub> inducida por PGE <sub>2</sub>	12589	4570
LTB <sub>4</sub> CI <sub>50</sub> inducida por fMLF	20,1	2,48
IL-8 CI <sub>50</sub> inducida por zimosan	ND	94
Expresión de CD18 inducida por fMLF CI <sub>50</sub>	ND	390
Expresión de CD11b inducida por fMLF CI <sub>50</sub>	ND	74
Adherencia inducida por fMLF a HUVEC CI <sub>50</sub>	ND	150

### 5.8. EJEMPLO 8: SOLUBILIDAD ACUOSA

[0117] Las solubilidades de equilibrio se midieron en un tampón acuoso de pH 7,4. El tampón de pH 7,4 se preparó ajustando el pH de una solución 0,07 M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> a 7,4 con NaOH 10 N. La fuerza iónica de la solución fue de 0,15. Se combinó al menos 1 mg de polvo con 1 ml de tampón para obtener una mezcla >1 mg/ml. Estas muestras se agitaron durante más de 2 horas y se dejaron reposar durante la noche a temperatura ambiente. Las muestras se filtraron luego a través de un filtro de jeringa de nylon de 0,45  $\mu$ m que se saturó primero con la muestra. El filtrado fue muestreado dos veces, consecutivamente. El filtrado se ensayó mediante HPLC frente a patrones preparados en metanol al 50%. El compuesto A tiene una solubilidad acuosa 3,5 veces mayor que la mezcla racémica. Solubilidad medida Compuesto A = 0,012 mg/mL; mezcla racémica = 0,0034 mg/ml.

### 5.9. EJEMPLO 8: PULMÓN INDUCIDO POR LPS

#### MODELO DE HURÓN DE NEUTROFILIA

[0118] El modelo de hurón consciente se ha utilizado para investigar efectos anti-inflamatorios, eméticos y de comportamiento de los inhibidores de PDE4, cuando se administran por vía oral (p.o.). A partir de estos experimentos, se puede determinar un índice terapéutico (TI) para cada inhibidor de PDE4. La TI se ha calculado dividiendo la dosis umbral para causar episodios eméticos y cambios de comportamiento por la dosis antiinflamatoria (dosis que causa una inhibición del 50% de la neutrofilia inducida por LPS).

#### La cría de animales

[0119] Hurones machos (*Mustela putorius* Euro, que pesan 1 - 2 kg). Los hurones fueron suministrados por Bury Green Farm o Misay Consultancy. Después del transporte, se permitió que los animales se aclimataran en las salas de espera durante un período no inferior a 7 días. La Dieta comprendía comida granulada SDS dieta C dada con comida para gatos de Whiskers 3 veces por semana. El agua era agua potable pasteurizada de calidad animal y se cambiaba diariamente.

#### Dosificación con inhibidor de PDE4

[0120] Los inhibidores de la PDE4 se administraron por vía oral (p.o.), en dosis iniciales de 1-10 mg/kg, pero posteriormente hasta 30 mg/kg para establecer si la TI era 10 o más alta, y/o en dosis más bajas para establecer la dosis mínima para causar un 50% de inhibición de la neutrofilia. Los hurones se mantuvieron en ayunas durante la noche, pero permitieron el libre acceso al agua. A los animales se les administró por vía oral un vehículo o un inhibidor de PDE4 utilizando una aguja de dosificación de 15 cm que se pasó por la parte posterior de la garganta hacia el esófago. Después de la dosificación, los animales se devolvieron a jaulas con puertas Perspex para permitir la observación y se les dio acceso gratuito al agua. Después de la dosificación, los animales se observaron constantemente y se registraron los cambios de comportamiento o emesis. Se les permitió a los animales el acceso a los alimentos 60 - 90 minutos después de la dosificación p.o.

#### Exposición al LPS

**[0121]** Treinta minutos después de la dosificación con compuesto o control del vehículo, los hurones se colocaron en contenedores de Perspex sellados y se expusieron a un aerosol de LPS (100 µg/ml) durante 10 minutos. Los aerosoles de LPS fueron generados por un nebulizador (DeVilbiss, EE.UU.) y esto se dirigió a la cámara de exposición de Perspex. Después de un período de exposición de 10 minutos, los animales fueron devueltos a las jaulas de espera y se les permitió el acceso libre al agua y, en una etapa posterior, a los alimentos. La observación fue continuada durante un período de al menos 2,5 horas después de la administración de dosis y se registraron episodios eméticos y cambios de comportamiento.

#### *Lavado broncoalveolar*

**[0122]** Seis horas después de la exposición a LPS, los animales se sacrificaron por sobredosis de pentobarbitona sódica administrada por vía intraperitoneal. La tráquea se canuló luego con un tubo de polipropileno y los pulmones se lavaron dos veces con 20 ml de solución salina tamponada con fosfato heparinizada (10 unidades/ml) (PBS).

#### *Muestreo de sangre/extracción de tejido*

**[0123]** Se extrajo una muestra de sangre terminal (10 ml) mediante punción cardiaca trans-torácica. La sangre se centrifugó a 2.500 rpm durante 15 minutos y el plasma se extrajo y almacenó a -20°C. El cerebro también se extrajo y se congeló a -20°C para el análisis del contenido del compuesto.

#### *Recuentos celulares*

**[0124]** Las muestras de lavado broncoalveolar (BAL) se centrifugaron a 1.500 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se eliminó y el sedimento celular resultante se resuspendió en 1 ml de PBS. Se preparó un frotis de células del líquido resuspendido y se tiñó con tinción de Leishmans para permitir el recuento diferencial de células. Se realizó un recuento total de células utilizando la muestra resuspendida restante. A partir de esto, se determinó el número total de neutrófilos en el BAL.

#### *Parámetros medidos:*

##### **[0125]**

1. % de inhibición de la neutrofilia pulmonar inducida por LPS.
2. Episodios eméticos: se contó el número de vómitos y parches.
3. Cambios en el comportamiento: se observaron los siguientes efectos en el comportamiento: salivación, jadeo, punzadas de la boca, postura aplanada, ataxia, espalda curvada y caminar hacia atrás. Cualquier cambio de comportamiento se semi-cuantificó aplicando una calificación de severidad (leve, moderada o grave).
4. La TI se calculó como la dosis más alta encontrada para no causar episodios eméticos dividida por la dosis más baja que inhibe la neutrofilia pulmonar en un 50% o más.

**[0126]** El efecto del Compuesto A sobre la neutrofilia inducida por LPS en los pulmones de hurones conscientes se demuestra en la Figura 1.

#### *Emesis y cambios de comportamiento.*

**[0127]** Tras la dosis de la PDE4, se observaron los hurones durante al menos 2 horas y se registraron los episodios eméticos (vómitos y resecaaduras) y los cambios de comportamiento.

**[0128]** No se observaron episodios eméticos (arcadas o vómitos) en los hurones pre-tratados p.o. con el vehículo pertinente (acetona/Cremophor/agua destilada). En una pequeña proporción de los animales tratados con control (7/22), se observaron cambios leves de comportamiento (lamerse los labios y caminar hacia atrás).

**[0129]** El compuesto A (0,1-3 mg/kg, p.o.) no causó episodios eméticos (arcadas y vómitos). Algunos cambios de comportamiento (postura aplanada, lamerse los labios y caminar hacia atrás) fueron observados y clasificados como leves. A 10 mg/kg en 2/6 hurones, se observaron algunas arcadas pero no se observó una emesis franca junto con la salivación y los cambios de comportamiento (calificados como leves o moderados). En la dosis más alta ensayada (30 mg/kg) se observó emesis moderada a marcada en 3/4 animales junto con cambios de comportamiento pronunciados. Estos datos se resumen en la Tabla III.

Tabla III. Hurón consciente. Episodios eméticos y cambios comportamentales tras administración oral del compuesto A

Tratamiento/dosis (mg/kg)	Vómitos	Arcadas	Salivación	Jadeo	Punzadas en la boca	Postura aplanada	Ataxina	Lamerse los labios	Caminar hacia atrás
Vehículo (acetona/cremophor/dist.H <sub>2</sub> O)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Leve (6/22)	Leve (7/22)
Compuesto A (0,1 mg/kg)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Leve (2/5)	Ninguno	Leve (4/5)	Leve (3/5)
Compuesto A (0,3 mg/kg)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Leve (2/6)	Ninguno	Leve (3/6)	Leve (4/6)
Compuesto A (1,0 mg/kg)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Leve (2/6)	Ninguno	Leve (6/6)	Leve (4/6)
Compuesto A (3,0 mg/kg)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Leve (1/8)	Marcado (7/8)	Ninguno	Leve (2/8)	Moderado (5/8)
Compuesto A (10 mg/kg)	Ninguno	Leve (2/6)	Leve (1/6)	Ninguno	Leve (1/6)	Marcado (6/6)	Ninguno	Moderado (5/6)	Marcado (6/6)
Compuesto A (30 mg/kg)	Moderado (3/4)	Marcado (3/4)	Moderado (3/4)	Leve (1/4)	Marcado (4/4)	Marcado (4/4)	Leve (3/4)	Moderado (4/4)	Leve (2/4)

**[0130]** Los animales se observaron durante hasta 3 horas después de la dosificación. Los números entre paréntesis se refieren a la cantidad de animales que respondieron. La cantidad de animales en cada grupo varía de 4 a 22.

#### Cálculo del índice terapéutico

**[0131]** A partir de estos experimentos, se determinó un índice terapéutico (TI) para cada compuesto dividiendo la dosis umbral para la inducción de episodios eméticos por el valor ED<sub>50</sub> para la inhibición de la neutrofilia pulmonar. El cálculo de TI se resume en la Tabla IV. El compuesto A tuvo un TI de 12, lo que no causó episodios eméticos a una dosis antiinflamatoria de 1 mg/kg.

Tabla IV. Resumen de las dosis eficaces (ED<sub>50</sub>) para la inhibición de neutrofilia pulmonar inducida por LPS y la inducción de la emesis y el índice terapéutico derivado de estos valores.

Compuesto	Inhibición de la neutrofilia inducida por LPS (ED <sub>50</sub> mg/kg)	Dosis emética umbral (mg/kg)	Índice terapéutico
Compuesto A	0,8	10	12

#### 5.10. EJEMPLO 9: 200 MG DE DOSIFICACIÓN DE CÁPSULA

**[0132]** Tabla V ilustra una formulación de la mezcla y la formulación de dosificación única para una unidad de dosis única de Compuesto A de 200 mg, es decir, alrededor del 40 por ciento en peso, en una cápsula de tamaño n° 0.

Tabla V. Formulación para cápsula de 200 mg.

Material	Porcentaje en peso	Cantidad (mg/tableta)	Cantidad (kg/lote)
Compuesto A	40,0%	200 mg	16,80 kg
Almidón de maíz pregelatinizado, NF5	9,5%	297,5 mg	24,99 kg
Estearato de magnesio	0,5%	2,5 mg	0,21 kg
Total	100,0%	500 mg	42,00 kg

**[0133]** El almidón de maíz pregelatinizado (SPRESS B-820) y los componentes de compuesto A se pasan a través de un cribado de 710 µm y luego se cargan en un mezclador de difusión con un inserto deflector y se mezcló durante 15 minutos. El estearato de magnesio se pasa a través de un cribado de 210 µm y se agrega al mezclador de difusión. A continuación, la mezcla se encapsula en una cápsula de tamaño n° 0, 500 mg por cápsula (8.400 cápsulas de tamaño de lote) utilizando una máquina de llenado de cápsulas de tipo dosificador.

#### 5.11. EJEMPLO 10: FORMA DE DOSIFICACIÓN ORAL DE 100 MG

**[0134]** La Tabla VI ilustra una formulación discontinua y una formulación de dosis única que contiene 100 mg del Compuesto A.

Tabla VI. Formulación para comprimidos de 100 mg.

Material	Porcentaje en peso	Cantidad (mg/tableta)	Cantidad (kg/lote)
Compuesto A	40%	100,00	20,00
Celulosa Microcristalina, NF	53,5%	133,75	26,75
Surfactante Pluronic F-68	4,0%	10,00	2,00
Croscarmelosa sódica Tipo A, NF	2,0%	5,00	1,00
Estearato de magnesio, NF	0,5%	1,25	0,25
Total	100,0%	250,00 mg	50,00 kg

**[0135]** La celulosa microcristalina, croscarmelosa de sodio, y compuestos componentes de A se pasan por un tamiz de malla n° 30 (alrededor de 430 µ a alrededor de 655 µ). El surfactante Pluronic F-68® (fabricado por JRH Biosciences, Inc. de Lenexa, KS) se pasa a través de una malla n° 20 (aproximadamente 457 µ a aproximadamente 1041 µ). El surfactante Pluronic F-68® y 0,5 kg de croscarmelosa sódica se carga en un 16 qt. Mezclador de tambor de doble capa y se mezclan durante unos 5 minutos. La mezcla se transfiere luego a un mezclador de tambor doble de 3 pies cúbicos donde se agrega la celulosa microcristalina y se mezcla durante unos 5 minutos. La talidomida se

agrega y se mezcla durante 25 minutos adicionales. Esta premezcla se pasa a través de un compactador de rodillos con un molino de martillos conectado a la descarga del compactador de rodillos y se regresa a la mezcladora de tambor. El estearato de croscarmelosa sódica y magnesio restante se agrega al mezclador de tambor y se mezcla durante aproximadamente 3 minutos. La mezcla final se comprime en una prensa de tabletas rotativa con 250 mg por tableta (200.000 tamaño de lote de tabletas).

#### 5.12. EJEMPLO 11: FORMA DE DOSIFICACIÓN DE AEROSOL

[0136] Un concentrado se prepara combinando el Compuesto A, y una parte de 12,6 kg del tricloromonofluorometano en un recipiente de acero inoxidable sellado equipado con un mezclador de alto cizallamiento. La mezcla se lleva a cabo durante unos 20 minutos. La suspensión a granel se prepara luego en el recipiente sellado combinando el concentrado con el resto de los propelentes en un tanque de producto a granel que se controla a temperatura de 21° a 27°C. y presión controlada a 2,8 a 4,0 BAR. Recipientes de aerosol de 17 ml que tienen una válvula dosificada que está diseñada para proporcionar 100 inhalaciones de la composición de la invención. Cada contenedor está provisto de lo siguiente:

Compuesto A	0,0120 g
tricloromonofluorometano	1,6939 g
diclorodifluorometano	3,7175 g
diclorotetrafluoroetano	1,5766 g
<u>total</u>	<u>7,0000 g</u>



## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Un compuesto que es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- 2.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 10 **3.** El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que dicho compuesto es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona.
- 4.** Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 15 **5.** La composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que dicha composición farmacéutica es adecuada para administración oral.
- 6.** La composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que dicha composición farmacéutica es una tableta, comprimido, cápsula o líquido.
- 20 **7.** La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que dicha composición farmacéutica es una tableta o cápsula.
- 8.** Una forma de dosificación unitaria única que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y un portador farmacéutico, excipiente o diluyente aceptable.
- 25 **9.** La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 4-7, o la forma de dosificación unitaria única de la reivindicación 8, que comprende:
- 30 (a) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg; o  
 (b) de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg; o  
 (c) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg, de (+)-2-[1-(3-Etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona.
- 35 **10.** La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 o 9, o la forma de dosificación unitaria de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, que comprende aproximadamente 20 mg de (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilamino-soindolina-1,3-diona.
- 40 **11.** La composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4-7 o 9, o la forma de dosificación unitaria de la reivindicación 8 o la reivindicación 9, que comprende aproximadamente 10 mg de (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilamino-soindolina-1,3-diona.
- 45 **12.** Un compuesto que es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, o un polimorfo, sal, solvato o farmacéuticamente aceptable. 1, hidrato del mismo como se define en la reivindicación 1 para uso como un medicamento.
- 13.** El compuesto para uso como se reivindica en la reivindicación 12, en el que dicho compuesto es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindolina-1,3-diona, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 50 **14.** El compuesto para uso según la reivindicación 12 o la reivindicación 13, en el que dicho compuesto es (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindindin-1,3-diona.
- 55 **15.** Uso de (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisindindin-1,3-diona, o un polimorfo, sal, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o una composición farmacéutica como se define en cualquiera de las reivindicaciones 4-7, o una forma de dosificación unitaria como se define en la reivindicación 8, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad inflamatoria.
- 60 **16.** El uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la enfermedad inflamatoria se selecciona de artritis, artrosis, artritis reumatoidea, afecciones artríticas relacionadas, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad inflamatoria del intestino, sepsis, psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad pulmonar crónica, enfermedad pulmonar crónica.
- 65 **17.** El uso de acuerdo con la reivindicación 15 o la reivindicación 16, en donde la enfermedad inflamatoria está seleccionada de artritis, osteoartritis, artritis reumatoide, afecciones artríticas relacionadas y psoriasis.

18. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que la enfermedad inflamatoria es una afección artrítica.

5 19. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17, en el que la enfermedad inflamatoria es psoriasis.

20. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 15-19, en donde (+)-2-[1-(3-etoxi-4-metoxifenilo)-2-metilsulfoniletilo]-4-acetilaminoisoidindin-1,3-diona se administra en una cantidad de

10

- (a) de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg por día; o
- (b) de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por día; o
- (c) de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 200 mg por día.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

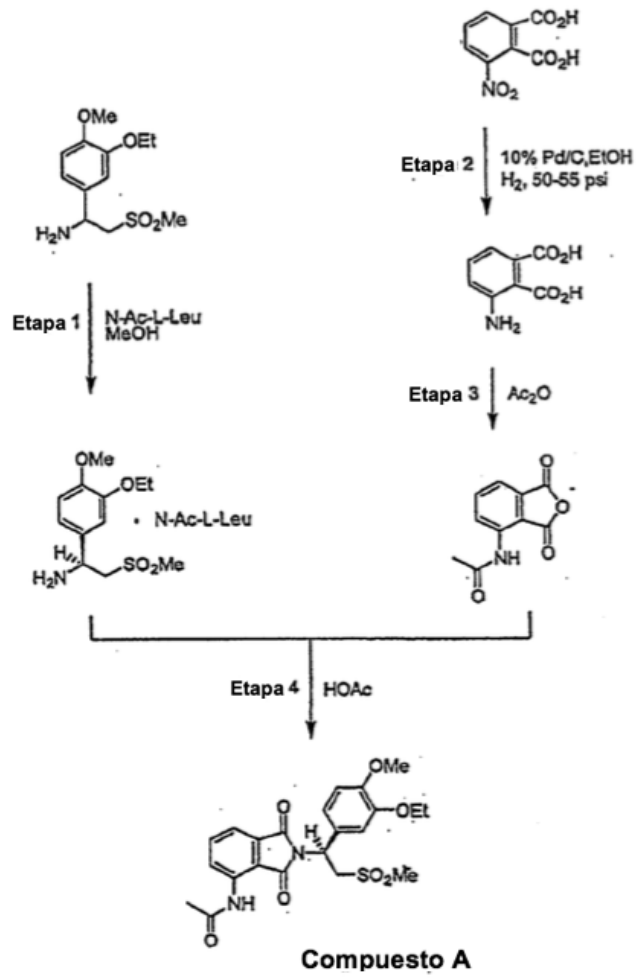


Fig. 1

Fig. 2

