

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 746 105**

51 Int. Cl.:

C07H 19/12 (2006.01)
C07H 19/067 (2006.01)
C07H 19/073 (2006.01)
C07F 7/18 (2006.01)
A61K 31/706 (2006.01)
A61K 31/695 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.10.2015** **PCT/US2015/054755**
87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016** **WO16057828**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2015** **E 15849800 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2019** **EP 3204121**

54 Título: **Profármacos de 5-aza-pirimidina sililada útiles para tratar el cáncer**

30 Prioridad:

08.10.2014 US 201462061526 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.03.2020

73 Titular/es:

EPIGENETICS PHARMA LLC (100.0%)
9270 Southeast 36th Place
Mercer Island WA 98040, US

72 Inventor/es:

DAIFUKU, RICHARD y
SERGUEEV, DMITRI S.

74 Agente/Representante:

GARCÍA GONZÁLEZ, Sergio

Observaciones:

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

ES 2 746 105 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

Profármacos de 5-aza-pirimidina sililada útiles para tratar el cáncer

Campo de la invención

5 La presente invención proporciona profármacos de 5-aza-pirimidina sililada que son compuestos de 5-aza-2',2'-difluorodeoxicitidina sililada, composiciones que incluyen dichos profármacos de 5-aza-pirimidina sililada, procedimientos para preparar dichos profármacos y composiciones de 5-aza-pirimidina sililada, y dichos profármacos y composiciones de 5-aza-pirimidina sililada para su uso en procedimientos para tratar el cáncer.

Antecedentes de la invención

10 Los análogos de pirimidina son conocidos por ser agentes quimioterapéuticos efectivos. La gemcitabina, un análogo de la citidina con un azúcar modificado, una 2',2'-difluorodeoxirribosa, es un fármaco quimioterapéutico actualmente aprobado como terapia única para el tratamiento del cáncer de páncreas y como parte de los regímenes combinados de quimioterapia para el tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de mama y cáncer de ovario (Gemzar (gemcitabina HCl) para inyección. 2007. Eli Lilly y Company.) Las siguientes propiedades hacen que la gemcitabina sea un agente anticancerígeno efectivo: (1) es un inhibidor de la ribonucleósido difosfato reductasa (RR), la enzima que cataliza la conversión de ribonucleósidos difosforilados en desoxirribonucleósidos difosforilados; (2) actúa como un terminador de cadena de ADN; y (3) no es un sustrato para la pirimidina nucleósido fosforilasa, lo que impide la descomposición de un nucleósido en una base separada y un resto de azúcar (Plunkett, W., et al., "Gemcitabine: Metabolism, Mechanism of Action and Self-Potentiation," Semin. Oncol. 22(4; Suppl 11):3-10, 1995; Mini, E., et al., "Cellular Pharmacology of Gemcitabine," Ann. Oncol. 17 (Suppl 5) v7-v12. 2006). Se han propuesto profármacos de gemcitabina sililo para mejorar su penetración a través de la pared intestinal, las membranas celulares y la barrera hematoencefálica (documento WO 2004/050665).

20 Otros dos análogos de citidina, 5-azacitidina y 5-azadeoxicitidina, están aprobados para el tratamiento de tumores hematológicos y actúan mediante la inhibición de ADN metil transferasa (DNMT), la enzima requerida para la metilación del ADN (US 2006/0205685). Se sabe que los análogos de 5-azacitidina son inestables en agua y se escinden en la posición 6 de la base (Christman, J.K., "5-azacitidina and 5-aza-2'-deoxicitidina as Inhibitors of DNA Methylation: Mechanistic Studies and Their Implications for Cancer Therapy, Oncogene 21:5483-5495, 2002.)

30 La trifluridina, 5-trifluorotimidina, también ha demostrado actividad antineoplásica y se cree que actúa mediante la inhibición de la timidilato sintasa. Sin embargo, su desarrollo como agente antineoplásico ha sido obstaculizado por su corta vida media (12 minutos). La coadministración de trifluridina con un inhibidor de la timidina fosforilasa ha dado como resultado una farmacocinética más aceptable con vida media entre 1,37 y 1,57 horas. (Hong DS, Abbruzzese JL, Bogaard K et al. Phase 1 study to determine the safety and pharmacokinetics of oral administration of TAS-102 in patients with solid tumors. Cancer. 2006; 15(107):1383-1390.)

35 Un enfoque que se ha propuesto para prolongar la vida media circulatoria de los análogos de pirimidina es generar un profármaco que puede producir una molécula más hidrófoba que se puede formular en una nanoformulación a base de lípidos y liberar rápidamente el fármaco activo tras la exposición a un ambiente acuoso en el sitio del tumor. La conjugación de un fármaco que tiene una vida media corta con un resto lipófilo tal como, por ejemplo, trimetilsililo (TMS) u otros restos sililo, y la formulación del profármaco lipófilo en un medio hidrófobo pueden dar como resultado una vida media circulante prolongada.

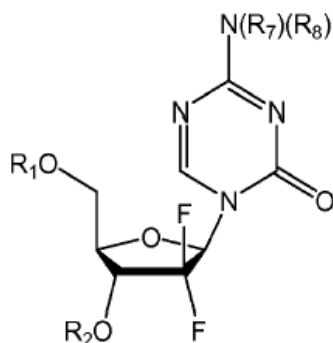
Aún existe la necesidad de nuevas terapias contra el cáncer con mejores eficacia, seguridad y/o perfiles farmacocinéticos. La invención proporciona nuevos profármacos de 5-aza-pirimidina sililada que son compuestos y composiciones de 5-aza-2',2'-difluorodeoxicitidina sililada para su uso en el tratamiento del cáncer.

Sumario de la invención

40 La presente invención proporciona compuestos farmacológicos terapéuticos que son profármacos de pirimidina sililada, composiciones que incluyen los profármacos de pirimidina sililada, procedimientos para preparar los profármacos de pirimidina sililada y procedimientos para tratar el cáncer usando los profármacos y composiciones de pirimidina sililada.

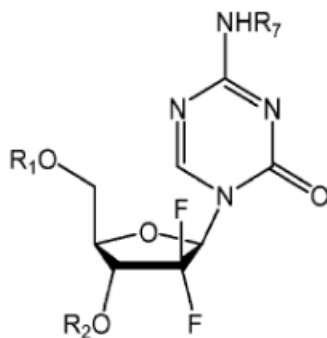
45 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan profármacos de pirimidina sililada. Los profármacos de pirimidina sililada de la divulgación son análogos de pirimidina que tienen un grupo sililo unido en una o más posiciones hidroxilo del azúcar ribosa. En una realización, los profármacos de pirimidina sililada son análogos de citidina. En una realización, un profármaco de pirimidina sililada es un análogo de trimetilsilil citidina. En una realización, los profármacos de pirimidina sililada son análogos de timidina. En una realización, un profármaco de pirimidina sililada es un análogo de trimetilsilil timidina. También se proporcionan procedimientos para preparar los profármacos de pirimidina sililada.

50 En una realización, la invención proporciona un compuesto de 5-aza-2',2'-difluorodeoxicitidina sililada, es decir, el llamado compuesto (a) que tiene la fórmula:

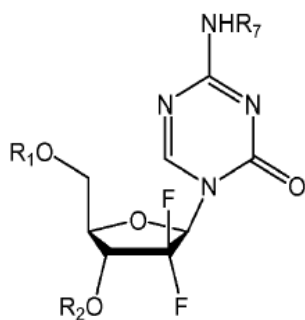


en la que R_1 , R_2 , R_7 , y R_8 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , R_7 , o R_8 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En otra realización, la invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:

5



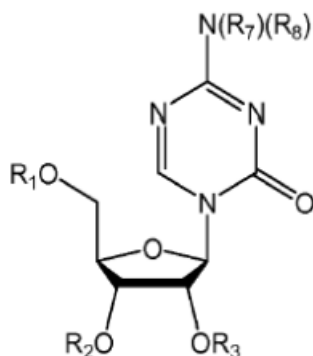
en la que R_1 , R_2 , y R_7 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , o R_7 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



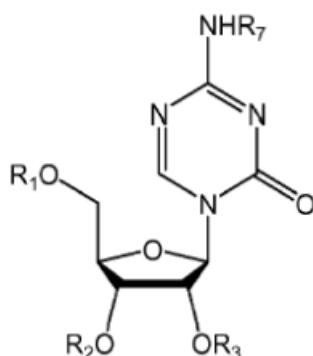
10

en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización particular, la invención proporciona (a) en la que R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 y R_6 son metilo.

En una segunda realización, la divulgación proporciona un compuesto de pirimidina sililada (b) que tiene la fórmula:

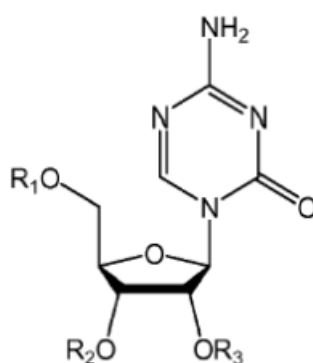


en la que R_1 , R_2 , R_3 , R_7 , y R_8 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_7 , o R_8 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En otra realización, la divulgación proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



5

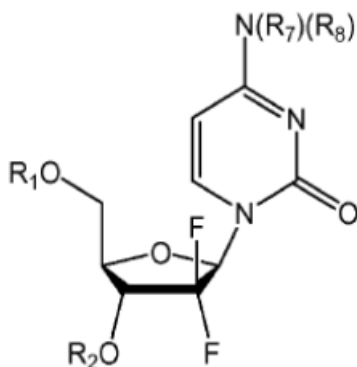
en la que R_1 , R_2 , R_3 , y R_7 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , o R_7 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización adicional, la divulgación proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



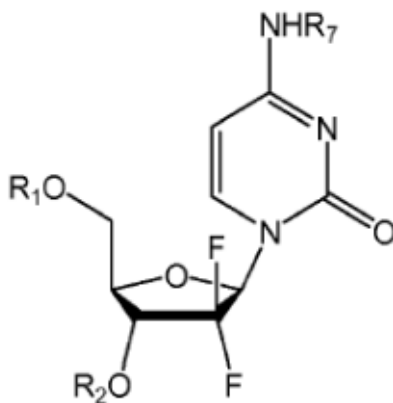
10

en la que R_1 , R_2 , y R_3 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , o R_3 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización particular, la divulgación proporciona un compuesto en la que R_1 , R_2 , y R_3 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

En una tercera realización, la divulgación proporciona un compuesto de pirimidina sililada (e) que tiene la fórmula:

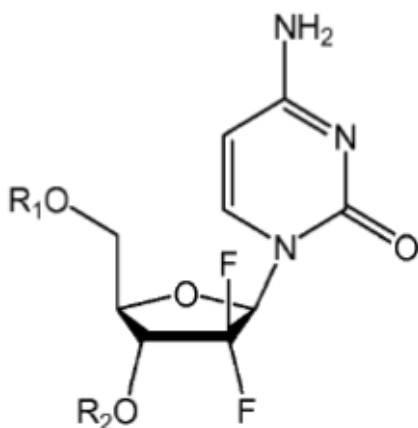


en la que R_1 , R_2 , R_7 , y R_8 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , R_7 , o R_8 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En otra realización, la divulgación proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



5

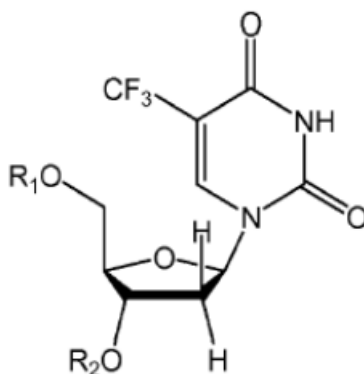
en la que R_1 , R_2 , y R_7 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , o R_7 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización adicional, la divulgación proporciona un compuesto que tiene la fórmula:



10

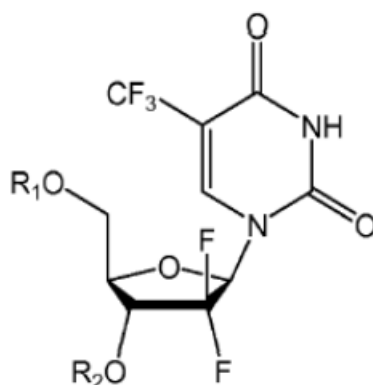
en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización particular, la divulgación proporciona un compuesto en la que R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

En una cuarta realización, la divulgación proporciona un compuesto de pirimidina sililada (d) que tiene la fórmula:



en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En otra realización, la divulgación proporciona un compuesto en la que R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

- 5 En una quinta realización, la divulgación proporciona un compuesto de pirimidina sililada (e) que tiene la fórmula:



en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización particular, la divulgación proporciona un compuesto en la que R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

- 10 En otro aspecto, la invención proporciona composiciones que incluyen los compuestos de 5-aza-2',2'-difluorodeoxycitidina sililada, denominado compuesto (a) de la invención. Las composiciones incluyen uno o más del compuesto (a), un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos adicionales. Las composiciones son útiles para la administración del compuesto (a) para tratar el cáncer. También se proporcionan procedimientos para preparar las composiciones de compuesto (a).
- 15 En otro aspecto de la invención, se proporcionan el compuesto (a) y las composiciones para usar en procedimientos para tratar el cáncer. En la presente se describe un procedimiento para administrar una pirimidina terapéutica a un sitio tumoral mediante permeabilidad y retención mejoradas, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición farmacéutica de la invención al sujeto que lo necesite.
- 20 En otra realización, la invención proporciona dicho compuesto (a) para su uso en un procedimiento para tratar un cáncer, que comprende administrar una cantidad efectiva de una composición farmacéutica de la invención al sujeto que lo necesita.
- En otra realización, la invención proporciona dicho compuesto (a) para su uso en un procedimiento para tratar un carcinoma de tumor sólido, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que lo necesite. Los carcinomas de tumor sólido representativos incluyen carcinomas de mama, pulmón de células no pequeñas y colon.
- 25 En otra realización más, la invención proporciona dicho compuesto (a) para su uso en un procedimiento de tratamiento de una neoplasia maligna hematológica, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que lo necesite. Las neoplasias hematológicas representativas incluyen leucemias.
- En los procedimientos indicados anteriormente, en ciertas realizaciones, el sujeto es un ser humano.

Breve descripción de los dibujos

La FIGURA 1 ilustra la liberación de 5-azacitidina de un compuesto representativo de silil-pirimidina de fórmula (b) (NUC025) en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a 20 °C

Descripción detallada de la invención

5 La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. La descripción que sigue está sujeta a esta limitación. Todos los aspectos y realizaciones no cubiertos por las reivindicaciones son meramente aspectos de la presente divulgación y no forman parte de la invención. Cualquier divulgación que se encuentre fuera del alcance de dichas reivindicaciones solo tiene fines ilustrativos y comparativos.

10 La presente divulgación proporciona compuestos farmacológicos terapéuticos que son profármacos de pirimidina sililada, composiciones que incluyen los profármacos de pirimidina sililada, procedimientos para preparar los profármacos y composiciones de pirimidina sililada, y procedimientos para tratar el cáncer usando los profármacos y composiciones de pirimidina sililada.

15 Como se señaló anteriormente, la 5-azacitidina y sus derivados son inestables en agua con la escisión hidrolítica del anillo de citosina. Esto presenta desafíos con la reconstitución de fármacos, y es un factor que afecta adversamente la vida media circulatoria, y quizás la efectividad clínica. El desarrollo de profármacos de 5-azacitidinas se complica por esta inestabilidad porque ciertos motivos pueden aumentar la inestabilidad. Por ejemplo, la adición de un resto del vehículo de ácido graso en el N4-amino, como se hizo para DHADC (5,6-dihidro-5-azadeoxicitidina) para aumentar la biodisponibilidad oral y evitar la desaminación, se ha asumido que es un riesgo para aumentar la inestabilidad de la citosina. En efecto, es posible imaginar un escenario en el que un profármaco produzca en la administración predominante de las especies inactivas al sitio del tumor (ver, por ejemplo, vías de reacción para la apertura del anillo y la hidrólisis del residuo de 5-azacitosina en el ADN en solución y después de la unión covalente al sitio activo de un DNMT descrito en Christman JK, Oncogene 21: 5483-5495, 2002). Un posible remedio es administrar profármacos de 5-aza que se puedan formular en una matriz hidrófoba en el sitio del tumor. Tal matriz adecuadamente formulada no solo evitará hidrólisis, sino que puede proporcionar otros beneficios, tal como mayor permeabilidad y retención (EPR).

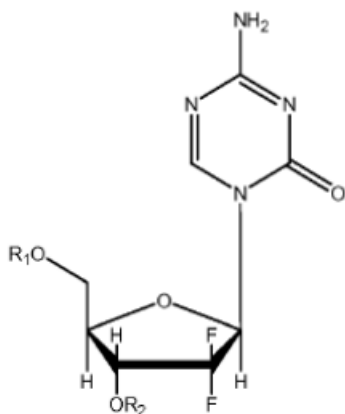
25 EPR es la propiedad por la cual ciertos tamaños de moléculas o formulaciones (tales como las nanogotas de lípidos) tienden a acumularse en el tejido tumoral a una concentración más alta que en los tejidos normales. Los tumores dependen del suministro de sangre de una neovasculatura para su suministro nutricional y de oxígeno. Estos vasos tumorales recién formados son generalmente de forma y arquitectura anormales. Tienen células endoteliales de detección mal alineadas con fenestraciones anchas que permiten la entrada de nanogotas. Además, los tejidos tumorales generalmente carecen de drenaje linfático efectivo. Por lo tanto, las nanogotas pueden penetrar los sitios del tumor preferentemente y se eliminan más lentamente, lo que lleva a la acumulación del fármaco activo en el sitio del tumor. El tamaño del nanogota es un parámetro de diseño crítico que rige su capacidad de penetración tumoral. Debido a que el transporte tumoral es un proceso de difusión limitada, se encuentra que las nanopartículas de menor tamaño (≤ 20 nm) se difunden casi universalmente de manera más eficiente a través del tejido tumoral que las partículas de mayor tamaño (≥ 100 nm).

35 La formulación de un 5-aza nucleósido en una nanogota hidrófoba requiere que el profármaco de 5-aza nucleósido sea hidrófobo y que los restos vehículos se liberen rápidamente en el sitio del tumor, antes de la escisión hidrolítica del anillo de citosina. Tal papel se puede cumplir mediante la modificación de los grupos OH del azúcar o el grupo NH_2 de la base con grupos sililo, tal como trimetilsililo (TMS). Se ha demostrado que TMS es relativamente no tóxico, aparte de la sedación, en estudios realizados en varias especies animales para la NASA por Corning. La administración intraperitoneal o intravenosa de 100-200 mg/kg de TMS dio como resultado una rápida absorción de TMS y un nivel de sangre de 1 mg/ml necesario para la anestesia ligera en roedores. Debido a los pesos moleculares de las pirimidinas y TMS, es poco probable que se alcancen los niveles que producen toxicidad después de la administración de una dosis terapéutica de una pirimidina medicinal.

40 La modificación de un nucleósido con un grupo sililo se describe en la presente. En una realización representativa, la 5-azacitidina se modificó con TMS para proporcionar 2',3',5'-tri-(trimetilsilil)-5-azacitidina (NUC025) como se describe en el Ejemplo 6.

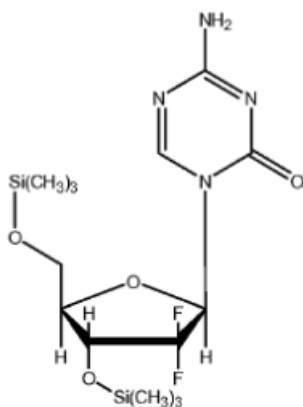
45 En un aspecto de la invención, se proporcionan profármacos de pirimidina sililada. En una realización, los profármacos de pirimidina sililada son análogos de citidina. En una realización, un profármaco de pirimidina sililada es un análogo de trimetilsilil citidina. En una realización, los profármacos de pirimidina sililada son análogos de timidina. En una realización, un profármaco de pirimidina sililada es un análogo de trimetilsilil timidina.

En una realización, la presente invención proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina, es decir, el llamado compuesto (a), que tiene la estructura:

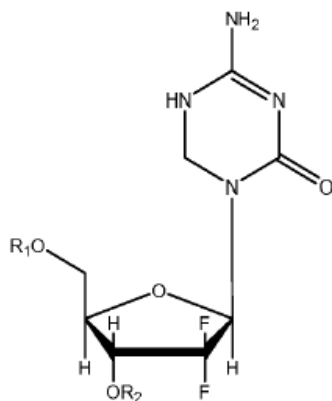


5 en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$, en la que R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$ y R_2 es hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno y R_2 es $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$. En una realización adicional, R_1 y R_2 son $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$. En una realización, R_3 , R_4 , y R_5 son metilo.

En una realización, la presente invención proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina, trimetilsilil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina que tiene la estructura:



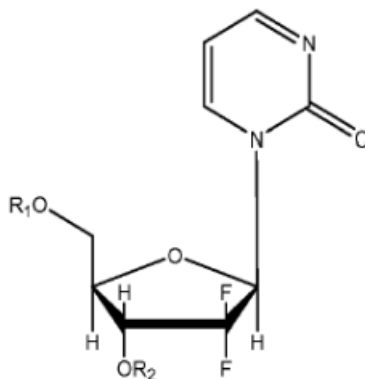
10 En una realización, la presente invención proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicitidina que tiene la estructura:



en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$, en la que R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$ y R_2 es hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno y R_2 es $\text{Si}(\text{R}_3)(\text{R}_4)(\text{R}_5)$. En una realización adicional,

R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_3 , R_4 , y R_5 son metilo.

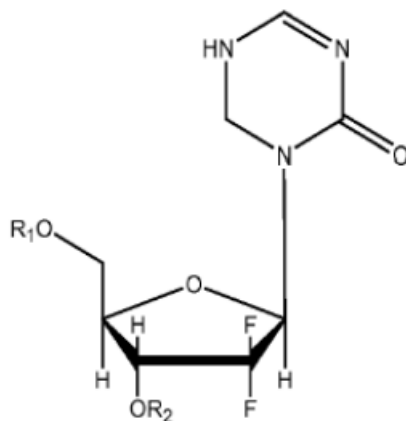
En una realización, la presente divulgación proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluorozebularina que tiene la estructura:



5

en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$, en la que R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$ y R_2 es hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno y R_2 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización adicional, R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_3 , R_4 , y R_5 son metilo.

En una realización, la presente divulgación proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azazebularina que tiene la estructura:

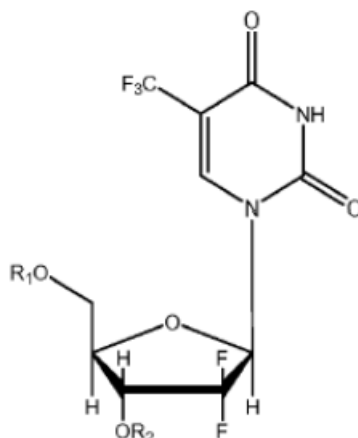


10

en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$, en la que R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$ y R_2 es hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno y R_2 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización adicional, R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_3 , R_4 , y R_5 son metilo.

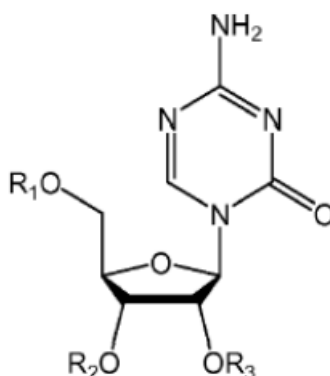
15

En una realización, la presente divulgación proporciona un profármaco sililado de 2',2'-difluorodeoxiribosa-trifluorotimidina que tiene la estructura:



en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$, en la que R_3 , R_4 , y R_5 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$ y R_2 es hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno y R_2 es $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización adicional, R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_3)(R_4)(R_5)$. En una realización, R_3 , R_4 , y R_5 son metilo.

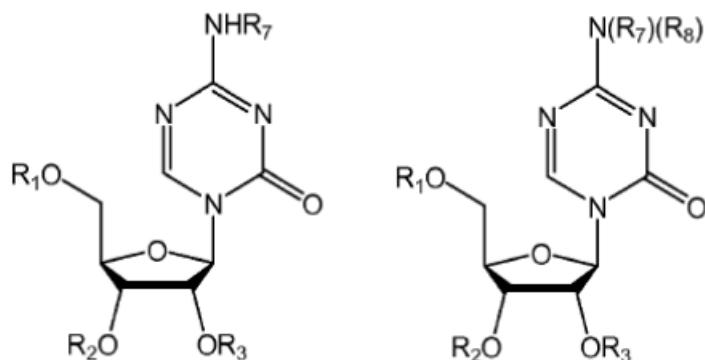
En una realización, la presente divulgación proporciona un profármaco sililado de azacitidina que tiene la estructura:



en la que R_1 , R_2 , y R_3 , se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , o R_3 , sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización, R_1 es $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_2 y R_3 son hidrógeno. En otra realización, R_1 es hidrógeno, R_2 es $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, y R_3 es hidrógeno. En una realización adicional, R_1 y R_2 son hidrógeno y R_3 es $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. De modo similar, la divulgación proporciona todas las combinaciones posibles en que dos de R_1 , R_2 , o R_3 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización, cada uno de R_1 , R_2 , y R_3 es $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización, R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

En otras realizaciones, la divulgación proporciona los profármacos de citidina indicados anteriormente que tienen uno o dos grupos R (por ejemplo, grupos TMS) acoplados al grupo amino N4.

En una realización representativa, el profármaco pirimidina N-sililada tiene la estructura:



en las que R_1 , R_2 , R_3 , R_7 , y R_8 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 , R_2 , R_3 , R_7 , o R_8 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$. En una realización, R_4 , R_5 , y R_6 son metilo.

5 En los compuestos de pirimidina sililada de la divulgación descripta anteriormente, el término "alquilo" se refiere al grupo alquilo del grupo trialquilsililo y es un grupo alquilo C_1 - C_{10} (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, i-butilo, t-butilo) que puede ser un grupo alquilo de cadena lineal, ramificada o cíclica. En ciertas realizaciones, el grupo alquilo es un grupo alquilo C_1 - C_4 . En ciertas realizaciones específicas, el grupo alquilo es un grupo metilo. En ciertas realizaciones, cada grupo alquilo del grupo trialquilsililo es el mismo (por ejemplo, trimetilsililo). En otras realizaciones, el grupo trialquilsililo incluye dos o tres grupos alquilo diferentes (por ejemplo, t-butildimetilsililo).

La presente divulgación proporciona compuestos de pirimidina sililada terapéuticos representativos. En vista de la enseñanza de la presente divulgación expuesta en la presente, se apreciará que la presente divulgación incluye versiones sililadas de compuestos de pirimidina terapéuticos (es decir, compuestos de pirimidina sililada terapéuticos). Muchos compuestos de pirimidina terapéuticos son conocidos en la técnica, así como su utilidad y limitaciones. La presente divulgación aborda esas limitaciones al proporcionar una nueva clase de compuestos de pirimidina terapéuticos: compuestos de pirimidina sililada terapéuticos. Los compuestos de pirimidina sililada terapéuticos de la invención que son compuestos de 5-aza-2',2'-difluorodesoxicitidina sililada proporcionan propiedades ventajosas y previamente inalcanzables y ventajosas a los compuestos de pirimidina terapéuticos. Las ventajas de los compuestos representativos de pirimidina sililada enumerados y demostrados en la presente acumulan compuestos de pirimidina sililada terapéuticos. El efecto de la sililación es hacer que los compuestos de pirimidina terapéuticos sean hidrófobos y se administren fácilmente usando las composiciones de la invención. En ciertos aspectos, los compuestos de pirimidina sililada de la invención son profármacos: liberan el compuesto de-sililado (es decir, compuesto de pirimidina terapéutico) in vivo (por ejemplo, por hidrólisis del enlace Si-O). Como tales, los compuestos sililados terapéuticos de la invención se administran fácilmente, tienen una biodisponibilidad aumentada y se pueden administrar ventajosamente en el sitio de acción con una efectividad mucho mejor.

En otro aspecto de la invención, se proporcionan procedimientos para preparar los profármacos de pirimidina sililada. Los compuestos de pirimidina sililada de la invención se pueden preparar para tratar un compuesto de pirimidina con un agente sililante, tal como los conocidos en la técnica (por ejemplo, cloruro de trimetilsililo). En ciertas realizaciones, para los compuestos de pirimidina que tienen grupos amina e hidroxilo reactivos con sililo, los compuestos de pirimidina sililada de la invención tienen grupos amina y grupos hidroxilo sililados. En otras realizaciones, para los compuestos de pirimidina que tienen grupos amilo e hidroxilo reactivos con sililo, los compuestos de pirimidina sililada de la invención tienen solo grupos hidroxilo sililados.

La preparación de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina se proporciona en el Ejemplo 1. La preparación de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicitidina se proporciona en el Ejemplo 2. La preparación de 2',2'-difluorozebularina se proporciona en el Ejemplo 3. La preparación de 2',2'-difluorodeoxirribosa-trifluorotimidina se proporciona en el Ejemplo 4. Los profármacos de pirimidina sililada de la invención se pueden prepararse mediante el tratamiento con un análogo de pirimidina con un exceso de cloruro de trimetilsililo y trietilamina en tetrahydrofurano. Alternativamente, los profármacos de pirimidina sililada de la invención se pueden preparar mediante el tratamiento de un análogo de pirimidina con un exceso de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano y cantidades catalíticas de sulfato de amonio a 125 °C. La preparación de un compuesto representativo de pirimidina sililada (a) de la invención, 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo, se proporciona en el Ejemplo 5.

En otros aspectos, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un profármaco de pirimidina sililada de la invención junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado para la administración a un sujeto humano o animal, ya sea solo o junto con otros agentes terapéuticos y/o anticáncer. Los profármacos de pirimidina sililada de la invención se pueden formular en una composición que además comprende vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados, que incluyen excipientes y otros compuestos que facilitan la administración de los profármacos de pirimidina sililada a un sujeto mamífero.

En una realización de la invención, el vehículo farmacéuticamente aceptable es un medio lipófilo. El medio lipófilo puede ser cualquiera de una variedad de medios lipófilos que incluyen, por ejemplo, aceites. En una realización, el medio lipófilo incluye un tocoferol (por

ejemplo, α -tocoferol). En una realización, el medio lipófilo incluye aceite de maíz. Los aceites representativos útiles como medio lipófilo incluyen los siguientes:

- 5 Ácidos grasos y sus ésteres, que incluyen ácidos carboxílicos de varias longitudes de cadena, en su mayoría de cadena lineal, pero que se pueden ramificar, cuyos ejemplos incluyen ácido cáprico, caprílico, caproico, láurico, mirístico, esteárico, oleico, linoleico, behénico y también ácidos grasos y ésteres saturados o insaturados;
- Ácidos grasos esterificados con glicerina para cultivar mono, di o triglicéridos, que pueden ser sintéticos o derivados de fuentes naturales, que incluyen, pero sin limitación, glicéridos tales como aceite de soja, aceite de semilla de algodón, aceite de colza, aceite de pescado, aceite de ricino, Capmul MCM, Captex 300, Miglyol 812, monooleato de glicerilo, triacetina, monoglicérido acetilado, tristearina, behenato de glicerilo y ésteres de ácido diacetil tartárico de monoglicéridos;
- 10 Glicéridos conjugados con otros restos, tales como polietilenglicol (por ejemplo, Labrasol, Labrafac, Cremophor EL);
- Fosfolípidos, naturales o sintéticos, tales como dimiristilfosfatidilcolina, lecitina de huevo y fosfolípidos pegilados;
- Otros ésteres grasos que incluyen alcoholes grasos (miristato de miristilo, palmitato de isopropilo) o azúcares (monooleato de sorbitano, SPAN 80, Tween 80, laurato de sacarosa);
- 15 Alcoholes grasos tales como alcohol estearílico, alcohol laurílico, alcohol bencílico, o ésteres o éteres de los mismos, tales como benzoato de bencilo;
- Vitaminas y derivados liposolubles, por ejemplo, vitamina E (que incluyen todos los tocoferoles y tocotrienoles, y derivados de tocoferol y tocotrienoles, tales como succinato de vitamina E, acetato de vitamina E y succinato de vitamina E, polietilenglicol (TPGS)).
- 20 En ciertas realizaciones, los compuestos de pirimidina sililada de la invención se pueden formular en una emulsión, tal como una nanoemulsión. La concentración del compuesto de pirimidina sililada puede variar de acuerdo con el compuesto, los componentes de la emulsión y la concentración deseada para administrar (por ejemplo, 0,5 a aproximadamente 10 mg/ml). El tamaño de las gotas de aceite en la emulsión también se puede variar según sea necesario (por ejemplo, de 10 a 200 nm o menos de 100 nm). En el Ejemplo 5 se describe una nanoemulsión que comprende un compuesto de pirimidina sililada representativo de la invención (NUC041).
- 25 En otro aspecto, en la presente se describen procedimientos para tratar sujetos humanos o animales que padecen una enfermedad celular proliferativa tal como cáncer. Las enfermedades proliferativas de células representativas tratables por los compuestos de la invención incluyen cánceres hematológicos, tales como leucemia, linfoma y mieloma, y cánceres no hematológicos, tales como carcinomas de tumor sólido (por ejemplo, mama, ovario, páncreas, colon, colorrectal, pulmón no pequeño y vejiga), sarcomas y gliomas. La presente divulgación proporciona procedimientos para tratar a un sujeto humano o animal que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más profármacos de pirimidina sililada de la invención, solos o
- 30 en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos. y/o anticáncer.
- Las composiciones que incluyen uno o más profármacos de pirimidina sililada de la invención se administran para administrar cantidades terapéuticamente efectivas del profármaco de pirimidina sililada. Las cantidades terapéuticamente efectivas de los profármacos de pirimidina sililada generalmente variarán hasta la dosis máxima tolerada, pero las concentraciones no son críticas y pueden variar ampliamente. Las cantidades precisas empleadas por el médico tratante variarán, por supuesto, de acuerdo con el
- 35 compuesto, vía de administración, afección física del paciente y otros factores. La dosis diaria se puede administrar como una dosis única o se puede dividir en dosis múltiples para la administración. La administración de los profármacos de pirimidina sililada de la invención se realiza por cualquier vía efectiva, por ejemplo, parenteral u oral.
- La cantidad de los profármacos de pirimidina sililada de la invención realmente administrada será una cantidad terapéuticamente efectiva, tal término que se usa en la presente para indicar la cantidad necesaria para producir un efecto beneficioso sustancial. Las dosis efectivas se pueden extrapolar a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de sistemas de prueba in vitro o de modelos animales. El modelo animal también se usa típicamente para determinar un intervalo de dosis y una vía de administración deseables. Tal información se puede usar posteriormente para determinar dosis y vías útiles para la administración en seres humanos u otros mamíferos. La determinación de una dosis efectiva está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica. Por lo tanto, la cantidad realmente administrada dependerá del individuo al que se aplicará el tratamiento, y preferiblemente será una cantidad optimizada de
- 40 tal manera que se logre el efecto deseado sin efectos secundarios significativos.

Los siguientes ejemplos se proporcionan con el fin de ilustrar, no limitar, la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

La preparación de 2',2'-Difluoro-5-azadeoxicitidina

- 50 Se usaron dos vías alternativas, mostradas en el Esquema 1, para preparar 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina (Compuesto IV).

A. Preparación de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina (Compuesto III) por medio de 1-bromo-2-deoxi-2,2-difluoro-

D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1).

(1). El material de partida, 2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato conocido en la técnica (Chou et al., Synthesis 1992, pp. 565-570) se convirtió en análogo 1-bromo por un procedimiento similar al descrito en el documento WO 2006/070985. La ribosa de partida (3,9 g, 10,3 mmol) se disolvió en 31 ml de tolueno y se añadió trietilamina seca (1,43 ml, 10,3 mmol). La solución se enfrió a 0 °C y se añadió cloruro de difenilfosforilo (2,64 ml, 12,3 mmol) en 8 ml de tolueno durante 15 min. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se incubó durante 3,5 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl 1 M (10,2 ml, la capa de tolueno se separó y la capa acuosa se extrajo de nuevo con 10 ml de éter. Las capas orgánicas se combinaron, se extrajeron en consecuencia con agua, NaHCO₃ saturado y NaCl saturado (cada una 20 ml) y se secaron sobre MgSO₄. Los disolventes se eliminaron y el producto se aisló por cromatografía flash sobre gel de sílice en gradiente de hexano-acetato de etilo. Rendimiento 4,6 g, 73%.

(2) Al análogo intermediario de difenilfosfato (4,6 g, 7,5 mmol) preparado como se describe en la Etapa (1), se añadió HBr en ácido acético (30%, 16,2 ml, 81,3 mmol) y la mezcla de reacción se incubó durante 6,5 h a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 80 ml de cloruro de metileno y se extrajo dos veces con agua con hielo, NaHCO₃ saturado y NaCl saturado (cada uno 100 ml). La capa orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para producir 1-bromo-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1, 3,1 g, 93%), que es una mezcla 9: 1 de isómeros α y β .

(3) Se suspendieron 5-azacitosina (98%, Aldrich, 5,0 g, 44,8 mmol) y sulfato de amonio (25 mg) en hexametildisilazano (25 ml) y se añadió clorotrimetilsilano (0,2 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 17 h. La solución transparente se enfrió, se evaporó, se co-evaporó dos veces con xileno seco y se secó al vacío para producir sólidos blanquecinos de la 5-azacitosina sililada (7 g), que se usa en gran medida en la siguiente etapa de glicosilación.

(4) Para la etapa de glucosilación 1-bromo-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1) (0,78 g, 1,77 mmol), preparado como se describe en la Etapa (2), se disolvió en 4 ml de anisol y se transfirió a los sólidos de 5-azacitosina sililada preparados como en la Etapa (3). La suspensión se calentó a 150 °C y se añadieron 2 ml de anisol para completar la disolución de todos los sólidos. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se enfrió y se añadió SnCl₄ (0,2 ml, 2 mmol). La mezcla de reacción se volvió a calentar a 150 °C durante 6 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de cloruro de metileno (30 ml), metanol (10 ml) y gel de sílice (20 g) y se secó para producir 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxi-citidina (Compuesto III). El polvo resultante se aplicó en la parte superior de la columna de gel de sílice empaquetada y los productos se aislaron por cromatografía flash en gradiente de cloroformo-metanol. Primero se eluyó el isómero β seguido de un isómero α (solo se logró una separación parcial, se obtuvo un isómero β del 12%, un isómero α 5%). La separación completa de isómeros se logró mediante RP HPLC en Gemini C18 5u (columna de 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5) -acetonitrilo.

¹H RMN en CDCl₃ para el compuesto III isómero β : 8,12 ppm (s, 1H, H6), 7,8-8,1 (m, 4H, benzoílo), 7,4-7,6 (m, 2H, benzoílo),

7,2-7,4 (m, 4H, benzoílo), 6,38 (br.t, J=8,0 Hz, 1H, H1'), 5,65 (m, 1H, H3'), 4,70 (m, 2H, H5'), 4,58 (m, 1H, H4'). ESI MS: 473,3 [M+H]⁺, 471,1 [M-H]⁻.

B. Preparación de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto IV). 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxi-citidina (Compuesto III) (15 mg, mezcla 3: 1 de isómeros α y β), preparado como en la Etapa A, se disolvió en 2 ml de MeOH anhidro y NaOMe 1 M en MeOH (0,1 ml). Después de 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se evaporó y los isómeros desprotegidos se aislaron por RP HPLC en Gemini C18 5u (columna 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5) -acetonitrilo. Inmediatamente después de la separación, las fracciones correspondientes al isómero β se mezclaron y se evaporaron a menos de 10 °C para producir 0,4 mg (19%) de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto IV).

¹H RMN en DMSO-d₆ para el compuesto IV isómero β : 8,48 ppm (s, 1H, H6), 7,79 (br, 2H, NH₂), 6,35 (br, 1H, 3'-OH), 6,07 t, J=8,0 Hz, 1H, H1'), 5,30 (br, 1H, 5'-OH), 4,90 (br, 1H, 5'-OH), 4,23 (br. m, 1H, H3'), 3,85 (m, 1H, H4'), 3,78 (m, 1H, H5'), 3,63 (m, 1H, H5'), UV 240 nm (sh) en acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5)

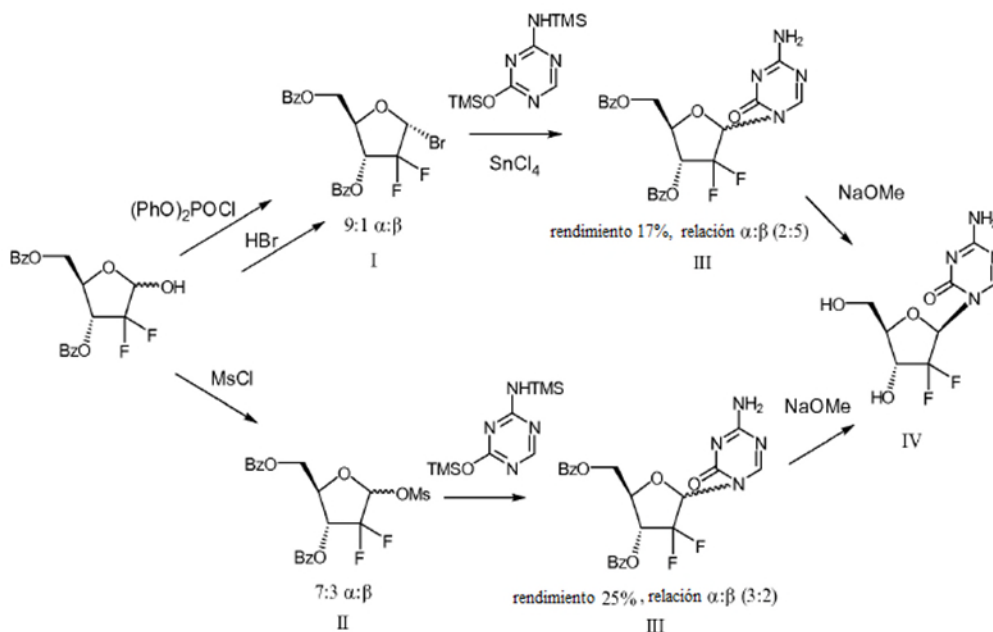
C. Preparación de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto III) por medio de 1-metilsulfonil-2-deoxi-2,2-di-fluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto II).

La 5-azacitosina sililada (2,3 g, 9 mmol) preparada como se describe en la Etapa A (3), se disolvió en 2 ml de anisol a 130 °C. 1-metilsulfonil-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto II) (0,4 g, 0,87 mmol), preparado según lo descrito por Chou et al., Synthesis 1992, pp. 565-570, se disolvió en 1 ml de anisol y se añadió a la solución caliente de la 5-azacitosina sililada. La mezcla de reacción se incubó a 150 °C durante 7 horas, se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó mediante la adición de 15 ml de cloruro de metileno, 15 g de gel de sílice y 5 ml de metanol y la suspensión se secó al vacío. El polvo resultante se aplicó sobre la parte superior de la columna de gel de sílice empaquetada y los productos se aislaron por cromatografía instantánea en gradiente de cloroformo-metanol. Las fracciones apropiadas se mezclaron y se evaporaron para producir 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto III) como una mezcla 2: 1 de isómeros α y β (100 mg, 25% de rendimiento).

D. Preparación de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto IV). 3', 5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxi citidina (Compuesto III)

(80 mg, mezcla 2: 1 de isómeros α y β), preparado como en la Etapa C, se disolvió en 2 ml de MeOH anhidro y se añadió NaOMe 1 M en MeOH (0,1 ml). Después de 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se evaporó y los isómeros desprotegidos se aislaron por RP HPLC en Gemini C18 5u (columna 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5) - acetónitrilo. Inmediatamente después de la separación, las fracciones correspondientes al isómero β se mezclaron, se evaporaron a menos de 10 °C para producir 2,1 mg (13%) de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto IV).

El tiempo de retención de RP HPLC y las características espectrales (es decir, ^1H RMN y UV) para el Compuesto IV fueron las mismas que en la Etapa B. ESI MS: 265,2 $[\text{M} + \text{H}]^+$.



Ms = metilsulfonilo; TMS = trimetilsililo; Bz = benzoílo; Ph = fenilo; Me = metilo

Esquema 1. Síntesis de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto III) y 2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto IV).

Ejemplo 2

La preparación de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicidina

La preparación de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicidina (Compuesto VI) se muestra en el Esquema 2.

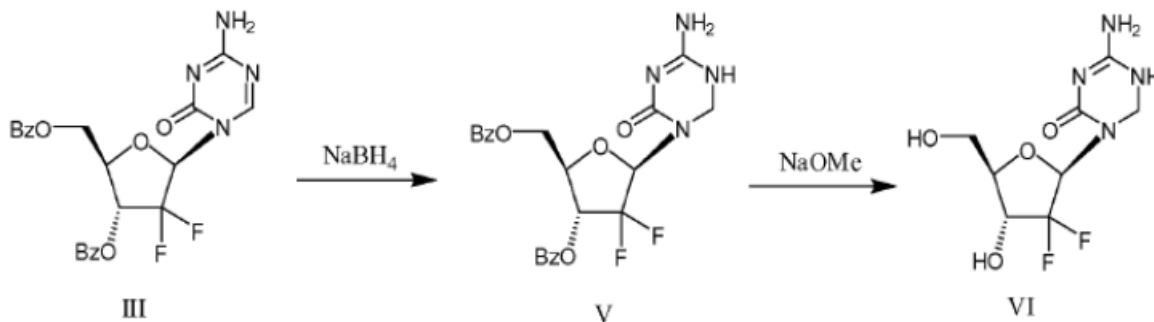
A. Preparación de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto V). El isómero β puro de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto III) (144 mg, 0,30 mmol), preparado como en el Ejemplo 1, se disolvió en 3 ml de cloruro de metileno y se añadieron trietilamina (0,12 ml) y clorotrimetilsilano (0,1 ml). Después de 0,5 horas, la mezcla de reacción se diluyó con 5 ml de ácido acético y se añadió borohidruro de sodio (100 mg, 2,6 mmol) como polvo. Después de 1 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se evaporó y se separó por RP HPLC en Gemini C18 5u (columna 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5) - acetónitrilo. Las fracciones correspondientes al producto se mezclaron y se evaporaron para producir 83 mg (57%) de 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto V).

^1H RMN en $\text{DMSO}-d_6$ para el compuesto V isómero β : 7,93-8,07 (m, 4H, benzoílo), 7,64-7,77 (m, 2H, benzoílo), 7,47-7,62 (m, 4H, benzoílo), 6,08 (t, $J=7,2$ Hz, 1H, $\text{H}1'$), 5,63 (m, 1H, $\text{H}3'$), 4,55-4,70 (m, 3H, $\text{H}4'$ y $\text{H}5'$), 4,48 (s, 2H, CH_2). ESI MS: 475,4 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

B. Preparación de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicidina (Compuesto VI). 3',5'-dibenzoil-2',2'-difluoro-5-azadeoxicidina (Compuesto V) (80 mg, 0,168 mmol), preparado como en la Etapa A, se disolvió en 6 ml de MeOH anhidro y se añadió NaOMe 1 M en MeOH (0,3 ml). Después de 1 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de ácido acético (0,02 ml), se evaporó y el producto desprotegido se aisló mediante RP HPLC en Gemini C18 5u (columna 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5)-acetónitrilo. Las fracciones apropiadas se mezclaron y se evaporaron para producir 49 mg

(95% de rendimiento) de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-azadeoxicitidina (Compuesto VI).

^1H RMN en DMSO- d_6 para el compuesto VI: 5,87 (dd, $J_1=9,6$ Hz, $J_2=10,8$ Hz, 1H, H1'), 4,51 y 4,29 (AB, 2H, CH₂), 3,98 (ddd, $J_1=8,4$ Hz, $J_2=12,8$ Hz, $J_3=12,8$ Hz, 1H, H3'), 3,67 (m, 1H, H5'), 3,58 (m, 1H, H4'), 3,52 (m, 1H, H5'). ESI MS: 267,0 [M+H]⁺.



5

Esquema 2 Síntesis de 2',2'-difluoro-5,6-dihidro-5-azadeoxicitidina (Compuesto VI).

Ejemplo de referencia 3

La preparación de 2',2'-difluorozebularina

10 La preparación de 2',2'-difluorozebularina (Compuesto VIII) se muestra en el Esquema 3.

(1) El material de partida 1-bromo-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1) se preparó como se describe en el Ejemplo 1.

15

(2) Clorhidrato de 2-hidroxipirimidina (0,57 g, 4,3 mmol) se suspendió en hexametildisilazano (100 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1,5 h. La solución transparente se decantó bajo argón, se evaporó, se coevaporó dos veces con xileno seco y se secó al vacío.

20

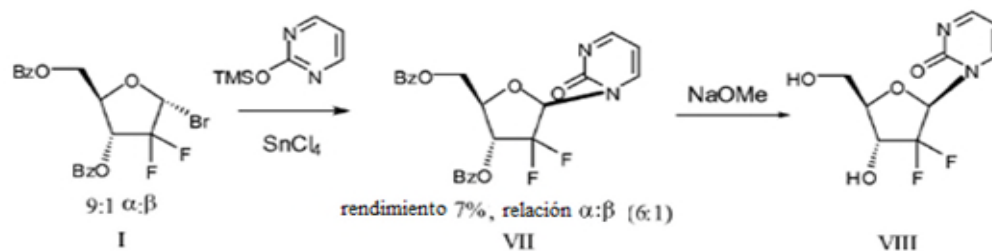
(3) Para la etapa de glicosilación, se disolvió 1-bromo-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1) (1,20 g, 2,7 mmol), preparado como en la Etapa (1), en 20 ml de dicloroetano y se transfirió al matraz que contiene la 2-hidroxipirimidina sililada. La mezcla de reacción se calentó a reflujo bajo argón durante 16 h, posteriormente se reemplazó el dicloroetano con 10 ml de anisol y la temperatura se elevó a 150 °C. La mezcla de reacción se agitó a 150 °C durante 18 h, se enfrió a temperatura ambiente y el producto, 1-β-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-ribofuranosil)-pirimidina-2-ona (Compuesto VII) se aisló como una mezcla (1: 6) de isómeros β y α mediante cromatografía flash sobre gel de sílice en metanol/cloroformo (3:97). Rendimiento: 0,09 a 7%.

25

(4) 1-β-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-ribofuranosil)pirimidina-2-ona (Compuesto VII), preparado como en las Etapas (1) a (3), (85 mg, 6: 1 mezcla de isómeros α y β) se disolvió en 2 ml de MeOH anhidro y se añadió NaOMe 1 M en MeOH (0,1 ml). Después de 1 h a 4 °C, la mezcla de reacción se evaporó y los isómeros desprotegidos se aislaron por RP HPLC en Gemini C18 5u (columna 21,2x250 mm) en gradiente de acetato de trietilamonio 50 mM (pH 7,5) -acetonitrilo. Inmediatamente después de la separación, las fracciones correspondientes al isómero β se mezclaron y se evaporaron para producir 3,4 mg (7,4%) de 2',2'-difluorozebularina (Compuesto VIII).

30

^1H RMN en DMSO- d_6 compuesto VIII isómero β: 8,66 ppm (dd, $J_1=4$ Hz, $J_2=2,4$ Hz, 1H), 8,57 (dd, $J_1=6,8$ Hz, $J_2=2,4$ Hz, 1H), 6,62 (dd, $J_1=6,8$ Hz, $J_2=4$ Hz, 1H), 6,07 (t, $J=7,2$ Hz, 1H), 4,42-4,29 (m, 1H), 4,05-3,97 (m, 2H), 3,88-3,82 (m, 1H). ESI MS: 249 [M+H]⁺.

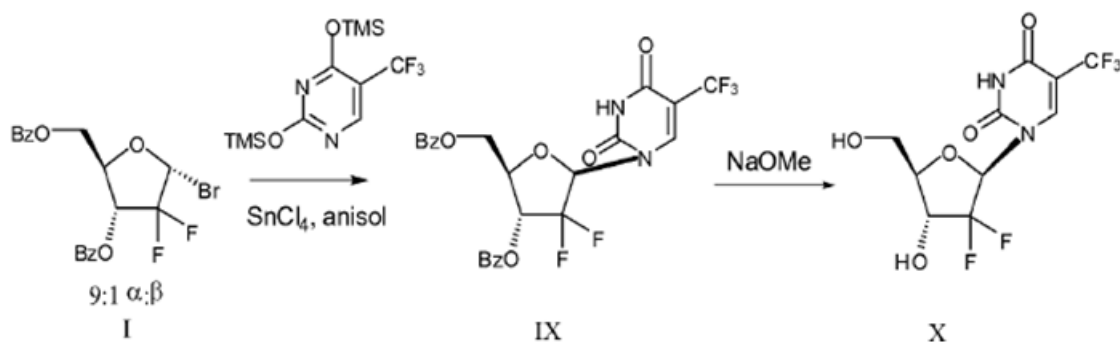


Esquema 3. Síntesis de 2',2'-difluorozebularina (Compuesto VIII).

Ejemplo de referencia 4Preparación de 2',2'-Difluorodeoxiribose-trifluorotimidina

5

La preparación de 2',2'-difluorodeoxiribosa-trifluorotimidina (Compuesto X) se muestra en el Esquema 4. 2',2'-Difluorodeoxiribosa-trifluorotimidina (Compuesto X) se prepara por glicosilación de 5-(trifluorometil)uracilo sililado con 1-bromo-2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosil-3,5-dibenzoato (Compuesto 1), preparado como en el Ejemplo 1, en anisol usando SnCl_4 como catalizador seguido de desprotección con cantidades catalíticas de metóxido de sodio en metanol.

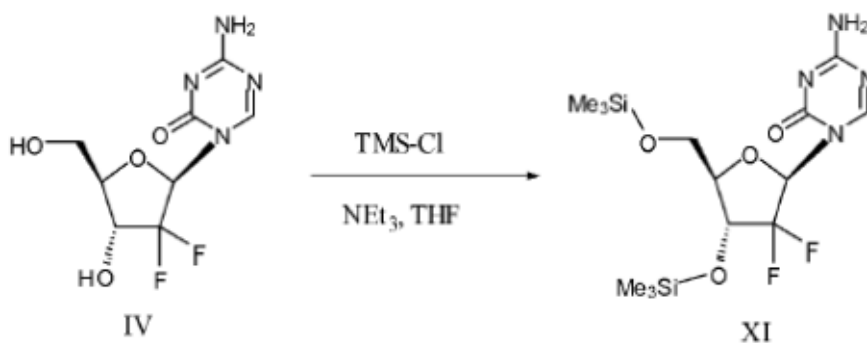


Esquema 4. Síntesis de 2',2'-difluorodeoxiribosa-trifluorotimidina (Compuesto X).

Ejemplo 5La preparación de un profármaco de pirimidina sililada representativa:2',2'-Difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (NUC041)

15

Procedimiento 1. La preparación de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (Compuesto XI) se muestra en el Esquema 5. 2',2'-Difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (Compuesto XI) se prepara mediante el tratamiento de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina (Compuesto IV), preparado como en el Ejemplo 1, con exceso de cloruro de trimetilsililo y trietilamina en tetrahidrofurano.



Esquema 5. 2',2'-Difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (Compuesto XI)

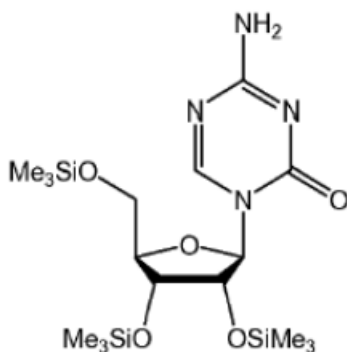
Procedimiento II. Un procedimiento alternativo para preparar 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (Compuesto XI) es el siguiente. La 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo (Compuesto XI) se prepara mediante el tratamiento de la 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina (Compuesto IV), preparada como en el Ejemplo 1, con un exceso de 1,1,1,3,3,3-hexametildisilazano y cantidades catalíticas de sulfato de amonio a 125 °C. El producto se aísla por cromatografía flash.

El compuesto XI se formuló con éxito en una nanoemulsión a una concentración de 3 mg/ml. La nanoemulsión tiene una fase oleosa que consiste en un aceite inyectable y lecitina y una fase acuosa que comprende un agente de ajuste de tonicidad, un estabilizante y agua. Las emulsiones son de tipo aceite en agua con las gotas de aceite medias de menos de 100 nm. Cada vehículo tiene un pH neutro (5-7) y es aproximadamente isotónico. La toxicidad del Compuesto XI formulado se probó en ratones. Los ratones se inyectaron por vía intravenosa en tres días consecutivos con el Compuesto XI a dosis de hasta 60 mg/kg y se observaron al final de una semana. No se observó evidencia de toxicidad medida por la pérdida de peso.

Ejemplo de referencia 6

2',3',5'-Tri(trimetilsilil)-5-azacitidina (NUC025)

En este ejemplo se describen las características de 2',3',5'-tri(trimetilsilil)-5-azacitidina (NUC025). La estructura de NUC025 se muestra continuación.



2',3',5'-Tri(trimetilsilil)-5-azacitidina (NUC025) se prepara por un procedimiento análogo a la preparación de 2',2'-difluoro-5-azadeoxicitidina-trimetilsililo descrito anteriormente en el Ejemplo 5.

La citotoxicidad in vitro de NUC025 se compara con 5-azacitidina para mamas, colon, y leucemia en la Tabla 1.

Tabla 1. Citotoxicidad in vitro de NUC025 y 5-azacitidina (IC₅₀ en µM).

Compuesto	Mamas MDA-MB-231	Colon HCT-116	Leucemia L1210
NUC025	3,28	1,08	1,18
5-azacitidinae	1,64	0,62	1,7-2,4

Los datos en la Tabla 1 muestran que NUC025 conserva la actividad de 5-azacitidina in vitro. Tales profármacos de 5-aza nucleósidos pueden demostrar superioridad in vivo, donde es importante una vida media en circulación más larga.

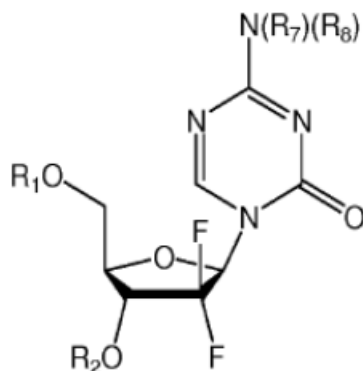
La Figura 1 ilustra la liberación de 5-azacitidina del profármaco 5-azacitidina-TMS (NUC025) por hidrólisis, lo que sugiere que, al menos en PBS a temperatura ambiente, se puede recuperar aproximadamente el 80% del fármaco activo.

Si bien se han ilustrado y descrito realizaciones ilustrativas, se apreciará que se pueden realizar varios cambios en ellas sin apartarse del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto sililado que tiene la fórmula (a), definida como sigue:

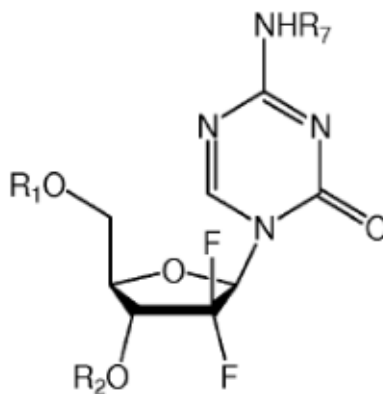
(a)



5

2. El compuesto de la Reivindicación 1 que tiene la fórmula:

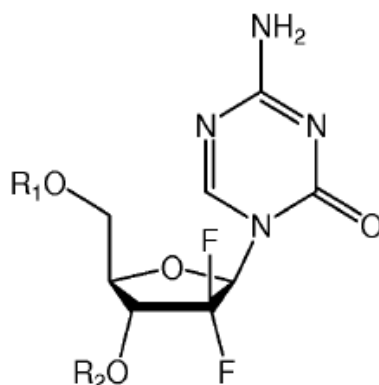
(a)



10

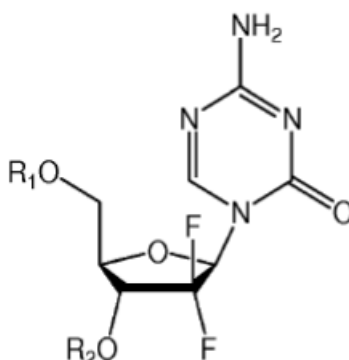
3. El compuesto de la Reivindicación 1 que tiene la fórmula:

(a)



en la que R_1 y R_2 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$, en la que R_4 , R_5 , y R_6 se seleccionan de modo independiente de hidrógeno o alquilo, con la condición de que al menos uno de R_1 o R_2 sea $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$.

4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que en (a), R_1 y R_2 son $\text{Si}(R_4)(R_5)(R_6)$ y R_4 , R_5 , y R_6 son metilo, y más preferiblemente tiene la fórmula:



en la R_1 y R_2 son $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$

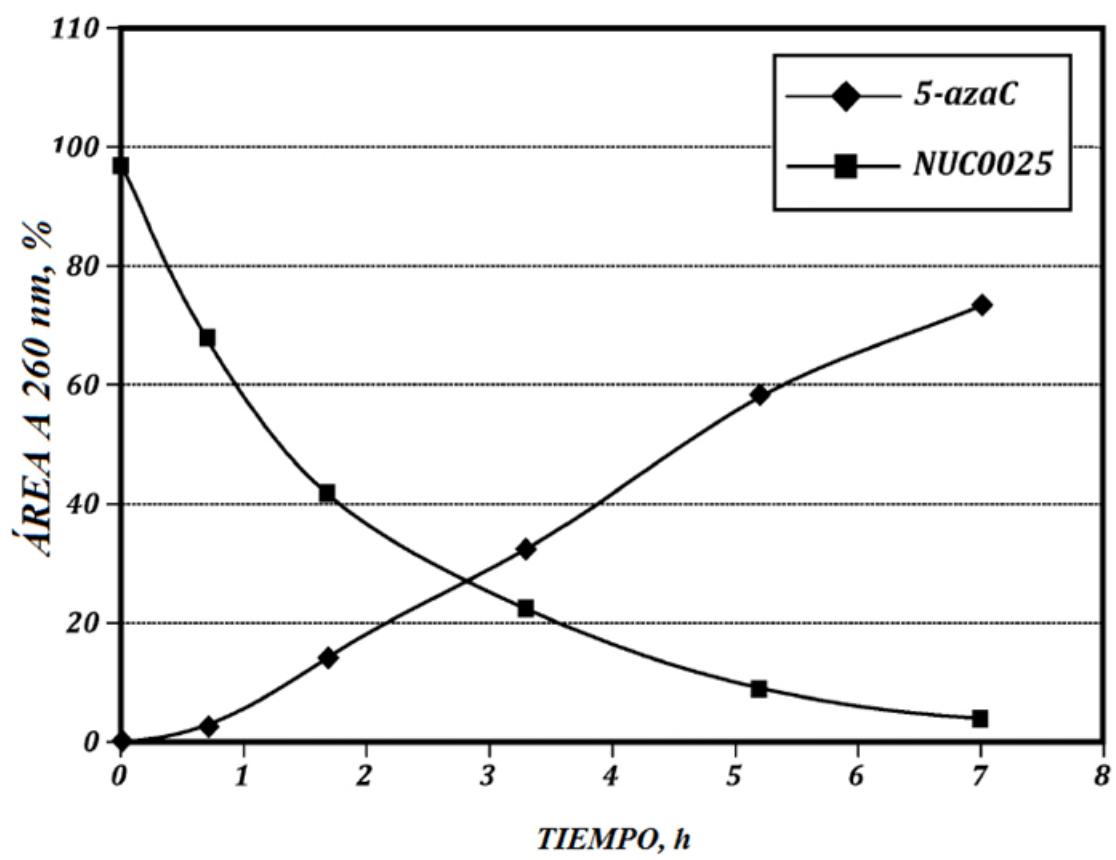
5. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto sililado de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

6. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para su uso en el tratamiento de un cáncer y un carcinoma de tumor sólido o neoplasia hematológica, mediante la administración de una cantidad efectiva del compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 a un sujeto que lo necesite.

7. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para el uso de la Reivindicación 6, en el que el carcinoma de tumor sólido se selecciona del grupo que consiste en carcinomas de mama, pulmón de células no pequeñas, y colon.

8. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para el uso de la Reivindicación 6, en el que la neoplasia hematológica es una leucemia.

9. El compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 para su uso según cualquiera de las Reivindicaciones 6 a 8, en el que el sujeto es un ser humano.

**FIG. 1**