(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 811 268**

(51) Int. CI.:

C07H 19/10 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.06.2015 PCT/GB2015/051857**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **30.12.2015 WO15198058**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.06.2015 E 15733497 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2020 EP 3160978**

(54) Título: **Profármacos de gemcitabina**

(30) Prioridad:

25.06.2014 GB 201411253
25.06.2014 IN 2050MU2014

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.03.2021

(73) Titular/es:

NUCANA PLC (100.0%)
3 Lochside Way
Edinburgh EH12 9DT, GB

(72) Inventor/es:

GRIFFITH, HUGH;
MCGUIGAN, CHRISTOPHER;
SLUSARCZYK, MAGDALENA;
SERPI, MICHAELA y
FERRARI, VALENTINA

(74) Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

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).

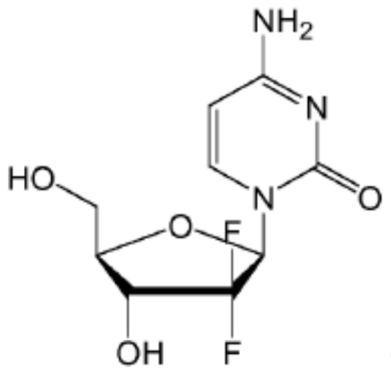
DESCRIPCIÓN

Profármacos de gemcitabina

Esta invención se refiere a formulaciones de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]]-fosfato (nombre químico: 2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-citidina-5'-O-[fenil(benzoxi-L-alaninil)]fosfato) cuando está presente como un único diastereoisómero de fosfato y, en particular, se relaciona con el diastereoisómero (S)-fosfato que ofrece un aumento notable e inesperado en la solubilidad en relación con el diastereoisómero (R). El diastereoisómero (S)-fosfato también se absorbe preferentemente en soluciones de ciclodextrina sobre el diastereoisómero (R).

Antecedentes

La gemcitabina (1; comercializada como Gemzar®) es un análogo de nucleósido eficaz que actualmente está aprobado para tratar cáncer de mama, pulmón de células no pequeñas, ovario y pancreático y ampliamente utilizado para tratar una variedad de otros cánceres, que incluyen de vejiga, biliar, colorrectal y linfoma.

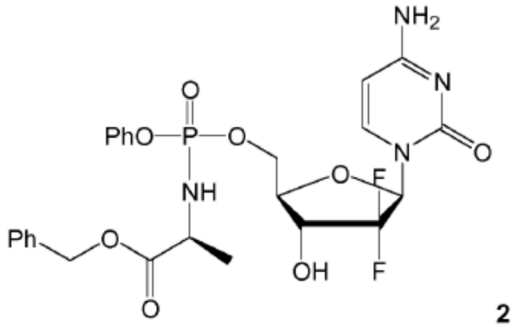


1

La utilidad clínica de la gemcitabina está limitada por una serie de mecanismos de resistencia inherentes y adquiridos. A nivel celular, la resistencia depende de tres parámetros: (i) la regulación por disminución de la desoxicitidina quinasa, necesaria para la activación en la fracción fosforilada; (ii) la expresión reducida de transportadores de nucleósidos, en particular, hENT1 requerida para la absorción por las células cancerosas; y (iii) la regulación por aumento de enzimas catalíticas, especialmente citidina desaminasa que degrada la gemcitabina.

El documento WO2005/012327 describe una serie de profármacos de nucleótidos para gemcitabina y moléculas de fármacos nucleósidos relacionados. Entre ellos, la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]]-fosfato (NUC-1031; 2) se identifica como un compuesto particularmente eficaz. Estos profármacos parecen evitar muchos de los mecanismos de resistencia inherentes y adquiridos que limitan la utilidad de gemcitabina ('Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development'; Slusarczyk et al; J. Med. Chem.; 2014, 57, 1531-1542).

La NUC-1031 2 se prepara como una mezcla de dos diastereoisómeros, epiméricos en el centro del fosfato.



2

Desafortunadamente, la NUC-1031 2 es extremadamente lipófila y por lo tanto poco soluble en agua (por cálculo: < 0.1 mg/mL), y las fracciones ionizables, nitrógeno de pirimidina e hidroxilo fenólico han calculado pKas que se encuentran fuera del rango de pH adecuado para administración parental. Es esencialmente insoluble en agua, independientemente del contenido de sal o pH, y esto tiene implicaciones para el desarrollo de formulaciones para suministrar el profármaco a dosificaciones suficientemente altas para un tratamiento efectivo. También tiene implicaciones para el desarrollo de procesos de fabricación eficientes que permitirán que NUC-1031 se produzca de manera rentable.

Es un objetivo de ciertas realizaciones de esta invención proporcionar gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato (NUC-1031; 2) en una forma que se puede formular en una composición farmacéutica eficaz.

También es un objetivo de ciertas realizaciones de esta invención proporcionar una forma de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]]-fosfato (NUC-1031; 2) que se puede preparar y almacenar durante un período prolongado de tiempo.

Es un objetivo de ciertas realizaciones de esta invención proporcionar gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato (NUC-1031; 2) en una forma que tiene una solubilidad más alta que las formas de la técnica anterior.

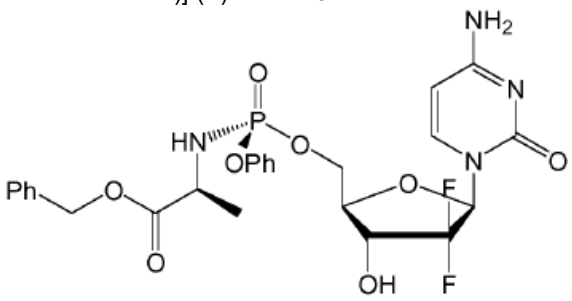
Es un objetivo de ciertas realizaciones de esta invención proporcionar gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato (NUC-1031; 2) como un diastereoisómero único en el fósforo.

Ciertas realizaciones de esta invención satisfacen algunos o todos de los objetivos anteriores.

La gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato de la presente invención es preferentemente de sustancialmente la misma actividad que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato (NUC-1031; 2). Sin embargo, puede tener una actividad ligeramente menor, pero tener otros beneficios como se describe en esta especificación si hay una fabricación o beneficio terapéutico para el uso de esta forma.

Breve resumen de la divulgación

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención se proporciona una formulación farmacéutica que comprende gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, que tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 90 %, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable; en la que la formulación es una formulación acuosa que también comprende un solvente orgánico polar.

Los inventores han descubierto una diferencia sorprendente y notable en las solubilidades de los dos diastereoisómeros. El epímero (S) 3 tiene suficiente solubilidad en mezclas de una serie de solventes orgánicos polares con agua para hacerlo adecuado para formulación y administración como agente terapéutico. El epímero (R) 4 es sustancialmente insoluble en la mayoría de las mezclas de solventes medidas. Esta diferencia notable en la solubilidad no se había identificado previamente y no se habían identificado los beneficios potenciales de esta propiedad del epímero (S). En varias de las mezclas de solventes probadas, la diferencia en la solubilidad entre el epímero (S) y el epímero (R) es mayor de 100 veces.

Sorprendentemente, el epímero (S) también se incorpora preferentemente en soluciones de ciclodextrina sobre el epímero (R). Esto no se ha observado con otros derivados de fosfato de gemcitabina.

La formulación puede ser para administración parenteral, por ejemplo, para administración intravenosa, subcutánea o intramuscular. Preferentemente, la formulación es para administración intravenosa.

La formulación puede ser una formulación acuosa que opcionalmente también comprende un solvente orgánico polar. En el caso de administración parenteral (por ejemplo, intravenosa), la formulación preferentemente también comprende un solvente orgánico polar.

La formulación también puede comprender una ciclodextrina.

En un segundo aspecto de la invención se proporciona una formulación del primer aspecto para uso médico.

En un tercer aspecto de la invención se proporciona una formulación del primer aspecto para uso en el tratamiento de cáncer.

Un solvato normalmente será un hidrato. Por lo tanto, la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato puede estar en la forma de una sal o hidrato. Puede ser que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato no esté en la forma de una sal y/o un solvato (por ejemplo, hidrato). Preferentemente, está en la forma de la base libre.

La gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 90 %. Puede tener una pureza diastereoisomérica mayor que 95 %, 98 %, 99 %, o incluso 99.5 %. 'Sustancialmente diastereoméricamente puro' se define para los fines de esta invención como una pureza diastereomerica mayor que 90 %.

El cáncer puede ser un cáncer seleccionado de: cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, colangiocarcinoma, cáncer renal, cáncer cervical, cáncer de timo, un cáncer de un origen primario desconocido. El cáncer también puede ser linfoma o leucemia.

Se incluye en esta divulgación un método para proporcionar al menos un diastereoisómero de gemcitabina-[fenil-benzoxi- L-alaninil)]-fosfato en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura, el método comprende las etapas de:

obtener una mezcla de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 4 y gemcitabina-[fenil-benzoxi- L-alaninil)]-(S)-fosfato 3;

someter la mezcla a una técnica de separación; y

una vez separada, aislar la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 4 y/o gemcitabina-[fenilbenzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura.

Se incluye en esta divulgación un método para proporcionar al menos un diastereoisómero de gemcitabina-[fenil-benzoxi- L-alaninil)]-fosfato en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura, el método comprende las etapas de:

obtener una mezcla de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 3'-protegida 4 y gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3'-protegida 3;

someter la mezcla a una técnica de separación;

una vez separada, aislar gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 3'-protegida 4 y/o gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3'-protegida 3 en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura;

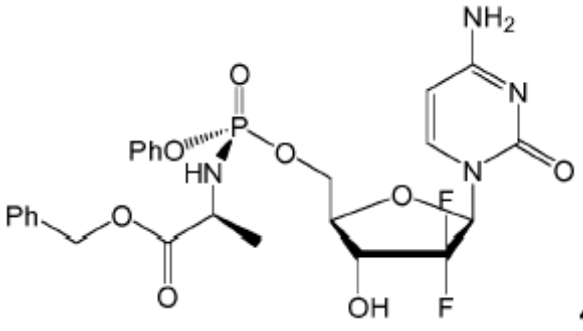
eliminar el grupo 3'-protector de uno o ambos se los diastereoisómeros separados para proporcionar gemcitabina-[fenilbenzoxi- L-alaninil)]-(R)-fosfato 4 y/o gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura.

Una gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil]]-fosfato 3'-protegida es un derivado de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato en el que el grupo 3'-hidroxi presenta un grupo protector de hidroxilo. El grupo protector en cuestión debe ser removible limpiamente. Los grupos protectores ejemplares incluyen grupos protectores de sililo (por ejemplo, tert-butildimetilsililo y trietilsililo) en cuyo caso el grupo protector se puede eliminar utilizando un reactivo seleccionado de TFA, HF, ácido fluorosilícico y fluoruro de tetrabutilamonio. Un grupo protector alternativo sería un grupo carbonato (por ejemplo, carbonato de tertbutilo) en cuyo caso el grupo protector se puede eliminar utilizando un ácido de Bronsted (por ejemplo, TFA) o un ácido de Lewis (por ejemplo, $ZnBr_2$).

La técnica de separación puede ser cromatografía, por ejemplo, cromatografía en columna, cromatografía preparativa en capa fina o HPLC preparativa. Cuando la técnica de separación es HPLC preparativa, se puede llevar a cabo utilizando una columna quiral, por ejemplo, una que comprende amilosa tris (3,5-dimetilfenilcarbamato). Un ejemplo de una columna quiral útil en el proceso de la invención es Chiralpak AD™; cuya fase estacionaria consiste en un soporte de sílice de 20 µm sobre el cual se ha recubierto físicamente amilosa tris (3,5-dimetilfenilcarbamato).

La técnica de separación puede ser la absorción selectiva en una solución de ciclodextrina. Esta técnica implica poner en contacto la mezcla con una solución de ciclodextrina de tal manera que un epímero se incorpore a la solución de ciclodextrina con preferencia sobre el otro epímero, y luego separar la solución de ciclodextrina del sólido no disuelto. La solución de ciclodextrina puede ser una solución de ciclodextrina acuosa. La separación de la solución del sólido se puede lograr mediante filtración.

La divulgación también proporciona gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 4:



4,

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma. La invención también proporciona una formulación farmacéutica que comprende gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 4, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, que tiene una pureza diastereoisomérica mayor de aproximadamente 90 %, y un excipiente farmacéuticamente aceptable, así como también usos médicos del compuesto 4 y métodos de tratamiento que utilizan el compuesto 4. La gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato puede estar en una forma sustancialmente diastereoisoméricamente pura. Puede ser que la gemcitabina-[fenil- benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato no sea una sal y/o un solvato (por ejemplo, hidrato). Preferentemente, está presente como la base libre.

Se ha mostrado que el epímero R tiene una semivida de incubación con células hepáticas humanas aisladas que es cuatro veces mayor que la del epímero S (véase el Ejemplo 4). La vida media más larga asociada con el isómero R indica una depuración intrínseca menor y debería dar como resultado un perfil farmacocinética y farmacodinámico diferente al del isómero S. Este perfil puede significar una mayor y más prolongada concentración del isómero R en la circulación sistémica y, por lo tanto, una mayor exposición al epímero R que la que se lograría con el epímero S. Por lo tanto, el AUC para el isómero R podría ser mayor, dando como resultado una exposición mayor y más prolongada a la fracción, por ejemplo, para la ruta de administración oral en la que los efectos de primer paso son más pronunciados. Esta exposición prolongada al epímero R podría permitir una exposición tumoral substancialmente prolongada al epímero R y puede dar como resultado una mayor eficacia, en la que el metabolismo de primer paso reducido en el hígado dará como resultado concentraciones de fármaco más altas. Esta propiedad diferente también podría permitir la orientación de tumores específicos en la que un perfil de PK más largo puede dar como resultado una mayor eficacia en sitios de tumores de difícil acceso en los que la vasculatura es deficiente. La exposición prolongada al epímero R puede garantizar una concentración adecuada del fármaco del metabolito activo a través de más fases del ciclo celular, incluida la división celular.

Breve descripción de los dibujos

Las realizaciones de la invención se describen adicionalmente en lo sucesivo con referencia a los dibujos acompañantes, en los que:

La Figura 1 muestra el cromatógrafo para la separación de los compuestos 3 y 4 mediante HPLC utilizando una columna Chiralpak AD y un sistema de solvente de gradiente n-heptano/IPA.

La Figura 2 muestra la estructura del compuesto 4 según lo determinado por difracción de rayos X.

La Figura 3 muestra la estructura del compuesto 3 según lo determinado por difracción de rayos X.

La Figura 4 muestra el espectro ^{31}P-RMN (202 MHz, D_2O) de la mezcla isomérica de NUC-1031 (3.12 mM), después de la adición de HP-β-CD en una relación molar 1:2.3.

La Figura 5 muestra las trazas de HPLC de NUC-1031 (3.12 mM) en MeOH (A) en H_2O después de la adición de HP-β-CD en una relación molar 1:2.3 (B).

Descripción detallada

En toda esta especificación, el término epímero S o diastereoisómero S se refiere a gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato. Del mismo modo, a lo largo de esta especificación, el término epímero R o diastereoisómero R se refiere a gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato.

Los compuestos de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento del cuerpo humano. Se pueden utilizar en el tratamiento del cuerpo del animal. En particular, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para tratar animales comerciales tales como ganado. Alternativamente, los compuestos de la presente invención se pueden utilizar para tratar animales de compañía tales como gatos, perros, etc.

Los compuestos de la invención se pueden obtener, almacenar y/o administrar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico y bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, málico, cítrico, láctico, mucico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico. Las sales básicas adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc. También se pueden formar hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato, hemioxalato y hemicalcio. En ciertas realizaciones, particularmente aquellas que se aplican al epímero S, el compuesto está en la forma de una sal de HCl o una sal de hemioxalato.

Los compuestos de la invención pueden existir en una forma de cristal única o en una mezcla de formas de cristal o pueden ser amorfos. Por lo tanto, los compuestos de la invención destinados al uso farmacéutico se pueden administrar como productos cristalinos o amorfos. Se pueden obtener, por ejemplo, como tapones sólidos, polvos, o películas mediante métodos tales como precipitación, cristalización, secado por congelación, o secado por pulverización, o secado por evaporación. Se puede utilizar secado por microondas o radiofrecuencia para este propósito.

Para los compuestos de la invención mencionados anteriormente, la dosificación administrada variará, por supuesto, con el compuesto empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado y el trastorno indicado. Por ejemplo, si el compuesto de la invención se administra por vía parenteral, entonces la dosificación del compuesto de la invención puede estar en el rango desde 0.1 hasta 5 g/m^2, por ejemplo, desde 0.5 hasta 2 g/m^2. El tamaño de la dosis para propósitos terapéuticos de los compuestos de la invención variará naturalmente de acuerdo con la naturaleza y la gravedad de las afecciones, la edad y el sexo del animal o paciente y la ruta de administración, de acuerdo con principios bien conocidos de medicina.

Se espera que los niveles de dosificación, la frecuencia de dosis y la duración del tratamiento de los compuestos de la invención difieran dependiendo de la formulación e indicación clínica, edad, y condiciones médicas comórbidas del paciente.

Un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede utilizar solo pero generalmente se administrará en forma de una composición farmacéutica en la que los compuestos de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, están en asociación con un adyuvante farmacéuticamente aceptable, diluyente o portador. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas se describen, por ejemplo, en “Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs”, ME Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

Dependiendo del modo de administración de los compuestos de la invención, la composición farmacéutica que se utiliza para administrar los compuestos de la invención comprenderá preferiblemente de 0.05 a 99 % en peso (por ciento en peso) de compuestos de la invención, más preferiblemente de 0.05 a 80 % en peso de compuestos de la invención, aún más preferiblemente de 0.10 a 70 % en peso de compuestos de la invención, y aún más preferiblemente de 0.10 a 50 % en peso de compuestos de la invención, todos los porcentajes en peso se basan en la composición total.

Para la administración oral, los compuestos de la invención se pueden mezclar con un adyuvante o un portador, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; un almidón, por ejemplo, almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina; un derivado de celulosa; un aglutinante, por ejemplo, gelatina o polivinilpirrolidona; y/o un lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio, polietilenglicol, una cera, parafina, y similares, y luego comprimir en comprimidos. Si se requieren comprimidos recubiertos, los núcleos, preparados como se describió anteriormente, se pueden recubrir con una solución de azúcar concentrada que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco y dióxido de titanio. Alternativamente, el comprimido se puede recubrir con un polímero adecuado disuelto en un solvente orgánico fácilmente volátil.

Para la preparación de cápsulas de gelatina blanda, los compuestos de la invención se pueden mezclar con, por ejemplo, un aceite vegetal o polietilenglicol. Las cápsulas de gelatina duras pueden contener gránulos del compuesto utilizando los excipientes para comprimidos mencionados anteriormente. También las cápsulas de gelatina dura se pueden rellenar con las formulaciones líquidas o semisólidas del compuesto de la invención.

Las preparaciones líquidas para aplicación oral pueden estar en forma de jarabes o suspensiones, por ejemplo, soluciones que contienen el compuesto de la invención, siendo el resto azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerol y propilenglicol. Opcionalmente, dichas preparaciones líquidas pueden contener agentes colorantes, agentes aromatizantes, agentes edulcorantes (tales como sacarina), agentes conservantes y/o carboximetilcelulosa como un agente espesante u otros excipientes conocidos por aquellos expertos en la técnica.

Para la administración parenteral (por ejemplo, intravenosa) los compuestos de la invención se pueden administrar como una solución acuosa u oleosa estéril. Los compuestos de la invención son muy lipófilos. Por lo tanto, también la formulación acuosa normalmente contendrá, un solvente orgánico polar farmacéuticamente aceptable.

Se ha mostrado que las ciclodextrinas encuentran una amplia aplicación en la administración de fármacos (Rasheed et al, Sci. Pharm., 2008, 76, 567-598). Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos. Actúan como una 'jaula molecular' que encapsula las moléculas del fármaco y altera las propiedades de esas moléculas del fármaco, tales como la solubilidad. Las ciclodextrinas comprenden unidades de α-D-glucopiranosa ligada a (α-1,4). Las ciclodextrinas pueden contener 6, 7 u 8 unidades de glucopiranosa (designadas α-, β- y γ-ciclodextrinas respectivamente). Las ciclodextrinas utilizadas en la formulación farmacéutica son a menudo β-ciclodextrinas. Los grupos hidroxilo colgantes se pueden alquilar con un grupo alquilo C_1-C_6 sustituido o no sustituido. Ejemplos de ciclodextrinas son α-ciclodextrina, β-ciclodextrina, γ-ciclodextrina, 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (HP-β-CD), sal de sodio de sulfobutiléter 3-ciclodextrina, β-ciclodextrina parcialmente metilada.

El tamaño de la dosis para propósitos terapéuticos de los compuestos de la invención variará naturalmente de acuerdo con la naturaleza y la gravedad de las afecciones, la edad y el sexo del animal o paciente y la ruta de administración, de acuerdo con principios bien conocidos de medicina.

Se espera que los niveles de dosificación, frecuencia de dosis y duraciones de tratamiento de los compuestos de la invención difieran dependiendo de la formulación e indicación clínica, edad, y afecciones médicas comórbidas del paciente.

La presente invención también incluye todas las formas marcadas isotópicamente farmacéuticamente aceptables de los compuestos 3 o 4 en los que uno o más átomos son reemplazados por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa del isótopo predominante que generalmente se encuentra en la naturaleza.

Ejemplos de isótopos adecuados para inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^{2}H y ^{3}H, carbono, tales como ^{11}C, ^{13}C y ^{14}C, cloro, tales como ^{36}Cl, flúor, tales como ^{18}F, yodo, tales como ^{123}I y ^{125}I, nitrógeno, tales como ^{13}N y ^{15}N, oxígeno, tales como ^{15}O, ^{17}O y ^{18}O, fósforo, tales como ^{32}P, y azufre, tales como ^{35}S.

Ciertos compuestos marcados isotópicamente, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles en estudios de fármaco y/o de distribución de tejido de sustrato. Los isótopos radiactivos tritio, es decir, ^{3}H, y carbono-14, es decir, ^{14}C, son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medios de detección listos.

La sustitución con isótopos más pesados tales como el deuterio, es decir, ^{2}H, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una vida media in vivo aumentada o requisitos de dosificación reducidos, y por lo tanto, puede ser preferible en algunas circunstancias.

La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C, ^{18}F, ^{15}O y ^{13}N, puede ser útil en estudios de Topografía por Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato.

Los compuestos marcados isotópicamente generalmente se pueden preparar por técnicas convencionales conocidas por aquellos expertos en la técnica o por procesos análogos a aquellos descritos utilizando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

El método de tratamiento o el compuesto para uso en el tratamiento de cáncer pueden implicar, además del compuesto de la invención, cirugía convencional o radioterapia o quimioterapia. Dicha quimioterapia puede incluir la administración de uno o más agentes activos adicionales.

Cuando se administra un agente activo adicional como parte de un método de tratamiento de la invención, dicho tratamiento de combinación se puede lograr mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Dichos productos de combinación emplean los compuestos de esta invención dentro de un rango de dosificación terapéuticamente eficaz descrito anteriormente y el uno o más de otros agentes farmacéuticamente activos dentro de su rango de dosificación aprobado.

Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden comprender otro agente activo.

El uno o más de otros agentes activos pueden ser de una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

(i) fármacos antiproliferativos/antineoplásicos y combinaciones de los mismos, tales como agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, bendamustina, melfalan, clorambucilo, busulfan, temozolamida y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo, gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, pemetrexed, citosina arabinosida, y hidroxiurea); antibióticos (por ejemplo,

antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorrubicina, daunomicina, epirrubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina); agentes antimitóticos (por ejemplo, alcaloides de la vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol y taxotero e inhibidores de poloquinasa); inhibidores de proteasoma, por ejemplo, carfilzomib y bortezomib; terapia con interferón; e inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecan, mitoxantrona y camptotecina);

(ii) agentes citostáticos tales como antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifen, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo, goserelina, leuprorelina y buserelina), progestágenos (por ejemplo, acetato de megestrol), inhibidores de aromatasa (por ejemplo, como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de 5α-reductasa tales como finasterida;

(iii) agentes antiinvasión, por ejemplo, dasatinib y bosutinib (SKI-606), e inhibidores de metaloproteinasas, inhibidores de la función del receptor del activador del plasminógeno de la uroquinasa o anticuerpos contra la hepranasa;

(iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento: por ejemplo, dichos inhibidores incluyen anticuerpos del factor de crecimiento y anticuerpos del receptor del factor de crecimiento, por ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab, inhibidores de la tirosina quinasa, por ejemplo, inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, inhibidores de la tirosina quinasa de la familia EGFR, tales como gefitinib, erlotinib y 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)-quinazolin-4-amina (Cl 1033), inhibidores de la tirosina quinasa erbB2 tales como lapatinib); inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos; inhibidores de la familia del factor de crecimiento de insulina; moduladores de reguladores de proteínas de la apoptosis celular (por ejemplo, inhibidores de Bcl-2); inhibidores de la familia del factor de crecimiento derivado de plaquetas tales como imatinib y/o nilotinib (AMN107); inhibidores de serina/treonina quinasas (por ejemplo, inhibidores de señalización Ras/Raf tales como inhibidores de farnesil transferasa, por ejemplo, sorafenib, tipifarnib y lonafarnib), inhibidores de señalización celular a través de MEK y/o AKT quinasas, inhibidores de c-kit, inhibidores de abl quinasa, inhibidores de quinasa PI3, inhibidores de quinasa Plt3, inhibidores de quinasa R CSF-1, receptor de IGF, inhibidores de quinasa; inhibidores de aurora quinasas e inhibidores de quinasas dependientes de ciclina tales como inhibidores de CDK2 y/o CDK4;

(v) agentes antiangiogénicos tales como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular, [por ejemplo, el anticuerpo del factor de crecimiento de células endoteliales anti-vasculares bevacizumab (Avastin™); talidomida; lenalidomida; y, por ejemplo, un inhibidor de la tirosina quinasa del receptor VEGF tal como vandetanib, vatalanib, sunitinib, axitinib y pazopanib;

(vi) enfoques de terapia génica, que incluyen, por ejemplo, enfoques para sustituir genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante;

(vii) enfoques de inmunoterapia, que incluyen, por ejemplo, terapia con anticuerpos tales como alemtuzumab, rituximab, ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) y ofatumumab; interferones tales como interferón α; interleucinas tales como IL-2 (aldesleucina); inhibidores de interleucina, por ejemplo, inhibidores de IRAK4; vacunas contra el cáncer que incluyen vacunas profilácticas y de tratamiento tales como vacunas contra el HPV, por ejemplo, Gardasil, Cervarix, Oncophage y Sipuleucel-T (Provenge); y moduladores de receptores de tipo toll, por ejemplo, TLR-7 o agonistas de TLR-9; y

(viii) agentes citotóxicos, por ejemplo, fludaribina (fludara), cladribina, pentostatina (Nipent™);

(ix) esteroides tales como corticosteroides, que incluyen glucocorticoides y mineralocorticoides, por ejemplo, aclometasona, dipropionato de aclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, dipropionato de beclometasona, betametasona, dipropionato de betametasona, fosfato de betametasona sodio, valerato de betametasona, budesonida, clobetasona, butirato de clobetasona, propionato de clobetasol, cloprednol, cortisona, acetato de cortisona, cortivazol, desoxicortona, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato de dexametasona sodio, isonicotinato de dexametasona, difluorocortolona, fluclorolona, flumetasona, flunisolida, fluocinolona, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortin butilo, fluorocortisona, fluorocortolona, caproato de fluocortolona, pivalato de fluocortolona, fluorometolona, fluprednideno, acetato de fluprednideno, flurandrenolona, fluticasona, propionato de fluticasona, halcinonida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, aceponato de hidrocortisona, buteprato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, icometasona, enbutato de icometasona, meprednisona, metilprednisolona, mometasona parametasona, monohidrato de furoato de mometasona, prednicarbato, prednisolona, prednisona, tixocortol, tixocortol pivalato, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, alcohol triamcinolona y sus derivados farmacéuticamente aceptables respectivos. Se puede utilizar una combinación de esteroides, por ejemplo, una combinación de dos o más esteroides mencionados en este párrafo;

(x) terapias dirigidas, por ejemplo, inhibidores de PI3Kd, por ejemplo, idelalisib y perifosina; o compuestos que inhiben PD-1, PD-L1 y CAR T.

El uno o más agentes activos adicionales también pueden ser antibióticos.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones de esta especificación, las palabras “comprenden” y “contienen” y las variaciones de ellas significan “que incluyen, pero no se limitan a”, y no están destinadas a (y no) excluyen otras fracciones, aditivos, componentes, enteros o etapas. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, el singular abarca el plural a menos que el contexto requiera lo contrario. En particular, cuando se utiliza el artículo indefinido, la especificación se debe entender como que contempla la pluralidad y la singularidad, a menos que el contexto requiera lo contrario.

Se debe entender que los rasgos, enteros, características, compuestos, fracciones químicas o grupos descritos en conjunto con un aspecto particular, realización o ejemplo de la invención son aplicables a cualquier otro aspecto, realización o ejemplo descritos en este documento, a menos que sean incompatibles con ellos. Todas las características divulgadas en esta especificación (que incluyen las reivindicaciones, resumen y dibujos acompañantes), y/o todas las etapas de cualquier método o proceso divulgado de esta manera, se pueden combinar en cualquier combinación, excepto las combinaciones en las que al menos algunas de dichas características y/o etapas son mutuamente excluyentes. La invención no está restringida a los detalles de ninguna de las realizaciones anteriores. La invención se extiende a una combinación novedosa, o cualquier combinación novedosa, de las características divulgadas en esta especificación (que incluyen cualesquier reivindicaciones, resumen y dibujos acompañantes), o a una combinación novedosa, o cualquier combinación novedosa, de las etapas de cualquier método o proceso divulgado de esta manera.

Se dirige la atención del lector a todos los papeles y documentos que se presentan simultáneamente con o antes de esta especificación en relación con esta solicitud y que están abiertos a inspección pública con esta especificación, y se incorporan en este documento los contenidos de todos dichos papeles y documentos por referencia.

Las siguientes abreviaturas se utilizan en esta especificación:

DMF - N,N-dimetilformamida	DMSO –dimetilsulfóxido
IPA - alcohol isopropílico	NMP - N-metilpirrolininona
PEG – polietilenglicol	TBDMS - tert-butildimetilsililo
TFA - ácido trifluoroacético	

Ejemplo 1

Los isómeros (R) y (S) se separaron por HPLC bajo las siguientes condiciones:

Equipo: serie Agilent 1200™ con detector DAD
Índice de fluidez: 1.0 mL/min
Columna: Chiralpak AD™; 250 x 4.6 mm ID (fase normal)
Temperatura: ambiente
Tamaño de partícula: 20 µm
Carga: disuelto en MeOH; 10 g/L
Solvente: n-heptano/IPA 10 -> 50 % de IPA

El cromatograma se muestra en la Figura 1. El epímero (S) se eluyó a 8.6 min y el epímero (R) se eluyó a 10.3 minutos.

Métodos de caracterización y Materiales: Los espectros de RMN de protón (^{1}H), carbono (^{13}C), fósforo (^{31}P) y de flúor (^{19}F) se registraron en un espectrómetro Bruker Avance 500 a 25 ºC. Los espectros se autocalibraron al pico de solvente deuterado y todas las ^{13}C RMN y ^{31}P RMN se desacoplaron con protones. Se comprobó que la pureza de los compuestos finales era > 95 % mediante análisis por HPLC utilizando Varian Polaris C18-A (10 µM) como una columna analítica con una elución de gradiente de H_2O/MeOH desde 100/0 hasta 0/100 en 35 min. El análisis por HPLC se realizó por Varian Prostar (detector de LC Workstation-Varian prostar 335 LC).

2’-Desoxi-2’,2’-difluoro-D-citidina-5’-O-[fenil(benciloxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3

(ES+) m/z, encontrado: (M + Na^+) 603.14. $C_{25}H_{27}F_2N_4O_8NaP$ requerido: (M^+) 580.47.

^{31}P RMN (202 MHz, MeOD): δ_P 3.66

^{1}H RMN (500 MHz, MeOD): δ_H 7.58 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38 - 7.32 (m, 7H, ArH), 7.26 - 7.20 (m, 3H, ArH), 6.24 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-1’), 5.84 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (sistema AB, J_{AB} = 12.0 Hz, 2H, OCH_2Ph), 4.46 - 4.43 (m, 1H, H-5’), 4.36 - 4.31 (m, 1H, H-5’), 4.25 - 4.19 (m, 1H, H-3’), 4.07 - 4.00 (m, 2H, H-4’, $CHCH_3$), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, $CHCH_3$).

^{19}F RMN (470 MHz, MeOD): δ_F - 118.0 (d, J = 241 Hz, F), - 120.24 (amplio d, J = 241 Hz, F).

^{13}C RMN (125 MHz, MeOD): δ_C 174.61 (d, $^{3}J_{C-P}$= 5.0 Hz, C=O, éster), 167.63 (C-NH_2), 157.74 (base C=O), 152.10 (d, $^{2}J_{C-P}$ = 7.0 Hz, C-Ar), 142.40 (CH-base), 137.22 (C-Ar), 130.90, 129.63, 129.39, 129.32, 126.32 (CH-Ar), 124.51 (d,

$^{1}J_{C-F}$ = 257 Hz, CF_2), 121.47, 121.43 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.92 (señal amplia, C-1'), 80.31 (C-4'), 71.27 (aparente t, $^{2}J_{C-F}$= 23.7 Hz, C-3'), 68.03 (OCH_2Ph), 65.73 (d, $^{2}J_{C-P}$ = 5.30 Hz, C-5'), 51.66 ($CHCH_3$), 20.42 (d, $^{3}J_{C-P}$ = 6.25 Hz, $CHCH_3$).

El HPLC inverso, eluyendo con H_2O/MeOH desde 100/0 hasta 0/100 en 35 min, mostró un pico de diastereoisómero con t_R = 22.53 min.

2'-desoxi-2',2'-difluoro-D-citidina-5'-O-[fenil(benciloxi-L-alaninil)]-(R)-fosfato 4.

(ES+) m/z, encontrado: (M + Na^+) 603.14. $C_{25}H_{27}F_2N_4O_8NaP$ requerido: (M^+) 580.47.

^{31}P RMN (202 MHz, MeOD): δ_P 3.83

^{1}H RMN (500 MHz, MeOD): δ_H 7.56 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-6), 7.38 - 7.31 (m, 7H, ArH), 7.23 - 7.19 (m, 3H, ArH), 6.26 (t, J = 7.5 Hz, 1H, H-1'), 5.88 (d, J = 7.5 Hz, 1H, H-5), 5.20 (s, 2H, OCH_2Ph), 4.49 - 4.46 (m, 1H, H-5'), 4.38 - 4.34 (m, 1H, H-5'), 4.23 - 4.17 (m, 1H, H-3'), 4.07 - 4.01 (m, 2H, H-4', $CHCH_3$), 1.38 (d, J = 7.2 Hz, 3H, $CHCH_3$).

^{19}F RMN (470 MHz, MeOD): δ_F - 118.3 (d, J = 241 Hz, F), - 120.38 (amplio d, J = 241 Hz, F).

^{13}C RMN (125 MHz, MeOD): δ_C 174.65 (d, $^{3}J_{C-P}$ = 5.0 Hz, C=O, éster), 167.65 (C-NH_2), 157.75 (C=O base), 152.10 (d, $^{2}J_{C-P}$ = 7.0 Hz, C-Ar), 142.28 (CH-base), 137.50 (C-Ar), 130.86, 129.63, 129.40, 129.32, 126.31 (CH-Ar), 124.50 (d, $^{1}J_{C-F}$ = 257 Hz, CF_2), 121.44, 121.40 (CH-Ar), 96.67 (CH-base), 85.90 (señal amplia, C-1'), 80.27 (C-4'), 71.30 (aparente t, $^{2}J_{C-F}$ = 23.7 Hz, C-3'), 68.02 (OCH_2Ph), 65.50 (C-5'), 51.83 ($CHCH_3$), 20.22 (d, $^{3}J_{C-P}$= 7.5 Hz, $CHCH_3$).

El HPLC inverso, eluyendo con H_2O/MeOH desde 100/0 hasta 0/100 en 35 min, mostró un pico de diastereoisómero con t_R = 21.87 min.

Los datos de difracción de rayos X también se obtuvieron para los dos isómeros y las imágenes resultantes se muestran en las Figuras 2 y 3. Los datos de difracción correspondientes y la metodología se proporcionan en las Tablas 1 a 4 a continuación.

Tabla 1. Datos de cristal y refinamiento de la estructura para el epímero (R) 4.

Código de identificación	shelx		
Fórmula empírica	$C_{25}H_{27}F_2N_4O_8P$		
Peso de la fórmula	580.47		
Temperatura	296 (2) K		
Longitud de onda	1.54184 Å		
Sistema de cristal	Monoclínico		
Grupo espacial	C 2		
Dimensiones de la celda unitaria	a = 19.2280 (3) Å	α = 90 °.	
	b = 10.22330 (10) Å	β = 97.966 (2) °	
	c = 13.6911 (2) Å	γ = 90 °.	
Volumen	2665.34 (6) $Å^3$		
Z	4		
Densidad (calculada)	1.447 Mg/m^3		
Coeficiente de absorción	1.541 mm^{-1}		
F (000)	1208		
Tamaño de cristal	0.584 x 0.095 x 0.051 mm^3		
Rango Theta para la recolección de datos	3.259 a 73.477 °.		
Rangos de índice	-23 <= h <= 23, -12 <= k <= 12, -17 <= l <= 13		
Reflexiones recogidas	9684		
Reflexiones independientes	5150 [R (int) = 0.0239]		
Integridad a theta = 67.684 °	99.9 %		
Corrección de absorción	Semi-empírica de equivalentes		
Transmisión máxima y mínima	1.00000 y 0.61719		
Método de refinamiento	mínimos cuadrados de matriz completa sobre F^2		
Datos/restricciones/parámetros	5150/549/437		
Bondad de ajuste sobre F^2	1.065		
Índices R finales [I> 2sigma (I)]	R1 = 0.0646, wR2 = 0.1759		
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0681, wR2 = 0.1793		
Parámetro de estructura absoluta	0.039 (10)		
Coeficiente de extinción	n/a		
Mayor diferencia pico y agujero	0.477-0.917 $e.Å^{-3}$		

Tabla 2. Coordenadas atómicas (x 10^4) y parámetros de desplazamiento isotrópicos equivalentes ($Å^2$ x 10^3) para epímero (R) 4.

U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U^{ij} ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
N(1)	746(2)	9565(4)	4120(3)	35(1)
C(1)	1373(2)	10267(5)	4426(4)	40(1)
C(2)	779(3)	12200(5)	4030(4)	40(1)
C(3)	131(3)	11526(5)	3717(4)	45(1)
C(4)	141(3)	10216(5)	3785(4)	39(1)
C(5)	723(2)	8163(4)	4257(4)	33(1)
C(6)	1301(2)	6686(5)	5412(3)	34(1)
C(7)	1730(2)	6675(4)	4553(3)	33(1)
C(8)	1228(3)	7319(5)	3735(4)	37(1)
C(9)	1755(3)	6761(6)	6387(4)	43(1)
C(10)	1727(3)	3180(6)	7861(5)	50(1)
C(11)	1763(4)	2447(7)	7027(5)	61(2)
C(12)	1751(4)	1097(8)	7088(7)	75(2)
C(13)	1724(5)	533(8)	7970(9)	94(3)
C(14)	1685(6)	1247(9)	8799(8)	97(3)
C(15)	1693(5)	2625(8)	8758(6)	78(2)
P(1)	1047(1)	5375(1)	7561(1)	43(1)
F(1)	1535(2)	7981(3)	3064(2)	54(1)
F(2)	828(2)	6372(3)	3227(2)	54(1)
N(2)	792(3)	13496(4)	3968(4)	53(1)
N(3)	1370(2)	11570(4)	4362(4)	44(1)
O(1)	1897(2)	9608(4)	4734(4)	54(1)
O(2)	868(2)	7849(4)	5276(3)	42(1)
O(3)	1921(2)	5414(4)	4294(3)	42(1)
O(4)	1354(2)	6700(4)	7211(3)	48(1)
O(5)	1755(2)	4556(4)	7796(3)	51(1)
O(6)	514(2)	4743(5)	6869(4)	63(1)
N(4)	789(3)	5715(6)	8600(5)	69(1)
O(7)	595(5)	5712(9)	10681(7)	76(1)
O(8)	1614(5)	4778(9)	10851(7)	73(1)
C(16)	1339(8)	6191(13)	9486(10)	72(1)
C(17)	1345(8)	7650(14)	9611(10)	75(1)
C(18)	1162(8)	5543(19)	10418(11)	73(1)
C(19)	1420(3)	4227(5)	11796(4)	74(1)
C(20)	1213(3)	2833(5)	11556(4)	74(1)
C(21)	1737(3)	1889(5)	11701(4)	74(1)
C(22)	1562(3)	570(5)	11626(4)	74(1)
C(23)	863(3)	195(5)	11406(4)	73(1)
C(24)	339(3)	1139(5)	11261(4)	74(1)
C(25)	514(3)	2458(5)	11336(4)	74(1)
N(4A)	789(3)	5715(6)	8600(5)	69(1)
O(7A)	643(8)	6651(15)	10878(10)	71(1)
O(8A)	1156(10)	4892(18)	10491(12)	73(1)
C(16A)	1034(13)	6570(20)	9296(16)	72(1)
C(17A)	797(12)	7900(20)	9187(16)	74(2)
C(18A)	945(13)	6100(20)	10317(17)	72(1)
C(19A)	974(5)	4324(9)	11444(7)	74(1)
C(20A)	986(5)	2873(9)	11442(7)	74(1)
C(21A)	1654(5)	2345(9)	11684(7)	74(1)
C(22A)	1747(5)	996(9)	11687(7)	74(1)

U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U^{ij} ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
C(23A)	1172(5)	176(9)	11448(7)	74(1)
C(24A)	504(5)	704(9)	11206(7)	74(1)
C(25A)	411(5)	2052(9)	11203(7)	74(1)

Tabla 3. Datos de cristal y refinamiento de la estructura para epímero (S) 3.

Código de identificación	shelx
Fórmula empírica	$C25.29H_{26.44}F_2N_{4,14}O8$ P
Peso de la fórmula	585.44
Temperatura 293 (2) K	
Longitud de onda 1.54184 Å	
Sistema de cristal	Monoclínico
Grupo espacial P 2_1	
Dimensiones de la celda unitaria	a = 11.3844 (3) Å α = 90 ° b = 34.8283 (7) Å β = 111.282 (4) ° c = 15.1260 (6) Å γ = 90 °.
Volumen 5588.5 (3) Å3	
Z 8	
Densidad (calculada) -	1.392 Mg/m^3
Coeficiente de absorción	1.477 mm-1
F (000) 2434	
Tamaño de cristal	0.249 x 0.072 x 0.042 mm3
Rango Theta para recolección de datos	3.135 a 73.481 °.
Rangos de índice	-13 <= h <= 12, -42 <= k <= 42, -17 <= l <= 18
Reflexiones recogidas	43816
Reflexiones independientes	21792 [R (int) = 0.0582]
Integridad a theta =67.684 °	100.0 %
Corrección de absorción	Semi-empírica de equivalentes
Transmisión máxima y mínima	1.00000 y 0.62509
Método de refinamiento de mínimos cuadrados de matriz completa sobre F2	
Datos/restricciones/parámetros	21792/2/1478
Bondad de ajuste en F21.022	
Índices R finales [I> 2sigma (I)]	R1 = 0.0628, wR2 = 0.1597
Índices R (todos los datos)	R1 = 0.0921, wR2 = 0.1794
Parámetro de estructura absoluta	0.031 (13)
Coeficiente de extinción	n/a
Mayor diferencia pico y agujero	0.513 y -0.413 e.Å-3

Tabla 4. Coordenadas atómicas (x 104) y parámetros de desplazamiento isotrópico equivalentes (Å2x 103) para el epímero (S)

U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
C(1)	-2481(7)	1599(2)	6585(6)	35(2)
C(2)	-4079(6)	1825(2)	7037(5)	36(2)
C(3)	-3292(7)	2138(2)	7558(6)	40(2)
C(4)	-2138(7)	2159(2)	7573(6)	40(2)
C(5)	-417(6)	1916(2)	7113(6)	37(2)
C(6)	1520(6)	2176(2)	7885(6)	37(2)
C(7)	1182(7)	2311(2)	6853(6)	41(2)
C(8)	-198(7)	2183(2)	6399(6)	42(2)
C(9)	2187(7)	2464(2)	8638(6)	40(2)
C(10)	-428(7)	3331(2)	8699(6)	42(2)
C(11)	-661(8)	3061(2)	9279(7)	52(2)
C(12)	-1894(8)	2980(2)	9149(8)	53(2)
C(13)	-2880(8)	3159(3)	8495(7)	59(2)
C(14)	-2631(9)	3426(4)	7913(9)	71(3)
C(15)	-1403(9)	3517(3)	8012(7)	61(2)
C(16)	3026(7)	3528(2)	8008(6)	44(2)
C(17)	4074(8)	3825(2)	8156(7)	52(2)

U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
C(18)	3226(7)	3213(2)	7405(6)	46(2)
C(19)	2875(10)	3054(3)	5787(8)	65(3)
C(20)	4128(8)	3142(2)	5690(6)	46(2)
C(21)	4412(9)	3504(2)	5462(6)	48(2)
C(22)	5504(9)	3580(3)	5340(7)	59(2)
C(23)	6360(9)	3281(3)	5425(8)	67(3)
C(24)	6068(10)	2917(3)	5643(9)	73(3)
C(25)	4979(10)	2851(3)	5777(7)	62(2)
N(1)	-1680(6)	1893(2)	7097(5)	36(1)
N(2)	-3652(6)	1572(2)	6561(5)	38(1)
N(3)	-5247(6)	1787(2)	7003(6)	50(2)
N(4)	3092(6)	3390(2)	8954(5)	44(2)
O(1)	-2035(5)	1369(2)	6152(5)	49(1)
O(2)	360(5)	2074(1)	7991(4)	39(1)
O(3)	1997(5)	2165(2)	6434(5)	50(2)
O(4)	1475(5)	2819(1)	8445(4)	39(1)
O(5)	805(5)	3441(1)	8776(4)	41(1)
O(6)	2374(5)	3056(2)	10168(4)	43(1)
O(7)	3851(6)	2925(2)	7682(5)	51(1)
O(8)	2644(6)	3304(2)	6471(5)	57(2)
P(1)	1979(2)	3167(1)	9166(1)	38(1)
F(1)	-960(4)	2496(2)	6274(4)	56(1)
F(2)	-474(5)	2023(2)	5530(4)	62(1)
C(26)	-2061(6)	6176(2)	4177(5)	33(1)
C(27)	-3538(6)	5940(2)	4770(6)	35(2)
C(28)	-2710(7)	5634(2)	5256(6)	38(2)
C(29)	-1565(7)	5637(2)	5238(6)	38(2)
C(30)	84(6)	5918(2)	4754(5)	32(1)
C(31)	1757(6)	5545(2)	4799(6)	34(2)
C(32)	2320(6)	5811(2)	5667(5)	34(2)
C(33)	1125(7)	6014(2)	5697(6)	38(2)
C(34)	2224(7)	5144(2)	4906(6)	35(2)
C(35)	882(8)	4453(2)	6664(7)	50(2)
C(36)	404(11)	4719(4)	7049(10)	78(3)
C(37)	-867(11)	4722(4)	6911(10)	88(4)
C(38)	-1658(11)	4449(4)	6353(11)	91(4)
C(39)	-1148(11)	4166(4)	5937(10)	84(4)
C(40)	101(10)	4166(3)	6074(9)	69(3)
C(41)	4806(7)	4794(2)	7341(6)	43(2)
C(42)	6103(8)	4628(3)	7868(8)	59(2)
C(43)	4987(7)	5214(3)	7111(7)	48(2)
C(44)	5647(11)	5817(3)	7891(9)	71(3)
C(45)	7060(10)	5779(2)	8217(8)	60(2)
C(46)	7713(12)	5808(4)	7623(9)	79(3)
C(47)	8991(14)	5754(5)	7926(10)	98(4)
C(48)	9642(12)	5675(4)	8866(10)	82(3)
C(49)	9007(11)	5644(3)	9451(9)	74(3)
C(50)	7752(11)	5689(3)	9171(8)	67(3)
N(5)	-1179(5)	5908(2)	4744(5)	34(1)
N(6)	-3210(5)	6187(2)	4213(5)	35(1)
N(7)	-4662(6)	5986(2)	4836(5)	43(2)

U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
N(8)	4159(6)	4572(2)	6488(5)	41(1)
O(9)	-1723(5)	6398(1)	3670(4)	40(1)
O(10)	423(4)	5538(1)	4567(4)	36(1)
O(11)	3246(5)	6065(2)	5588(4)	41(1)
O(12)	2070(5)	4969(1)	5727(4)	37(1)
O(13)	2175(5)	4448(2)	6814(4)	43(1)
0(14)	2253(5)	4294(1)	5142(4)	41(1)
0(15)	5126(5)	5327(2)	6402(4)	47(1)
0(16)	5079(6)	5439(2)	7854(5)	59(2)
P(2)	2638(2)	4552(1)	5976(1)	36(1)
F(3)	848(4)	5870(2)	6437(3)	53(1)
F(4)	1260(4)	6399(1)	5827(4)	52(1)
C(51)	1164(6)	6520(2)	10539(5)	33(2)
C(52)	-905(6)	6744(2)	9936(6)	35(2)
C(53)	-566(7)	7031(2)	9380(6)	40(2)
C(54)	599(7)	7038(2)	9410(6)	36(2)
C(55)	2751(6)	6779(2)	9946(5)	32(1)
C(56)	4386(6)	7140(2)	9914(5)	32(1)
C(57)	4124(6)	6867(2)	9056(5)	34(2)
C(58)	2905(7)	6665(2)	9004(5)	34(2)
C(59)	4765(6)	7544(2)	9783(6)	35(2)
C(60)	1742(7)	8055(2)	7650(7)	47(2)
C(61)	1252(10)	7835(3)	6826(8)	68(3)
C(62)	84(11)	7676(4)	6616(10)	82(3)
C(63)	-591(8)	7726(3)	7205(9)	64(3)
C(64)	-89(8)	7946(2)	7989(8)	54(2)
C(65)	1092(8)	8113(2)	8209(7)	52(2)
C(66)	5145(7)	7905(2)	7409(6)	41(2)
C(67)	6043(9)	8071(3)	6954(7)	53(2)
C(68)	5468(8)	7483(2)	7619(6)	42(2)
C(69)	5155(10)	6864(3)	6889(8)	60(2)
C(70)	6264(9)	6846(2)	6585(7)	53(2)
C(71)	6155(10)	6982(3)	5686(8)	59(2)
C(72)	7172(12)	6977(3)	5408(9)	71(3)
C(73)	8315(12)	6830(3)	5991(10)	75(3)
C(74)	8438(12)	6699(4)	6868(10)	81(3)
C(75)	7418(11)	6703(3)	7169(8)	67(3)
N(9)	1491(5)	6777(2)	9943(5)	34(1)
N(10)	-10(5)	6508(2)	10508(5)	35(1)
N(11)	-2054(6)	6705(2)	9902(5)	41(2)
N(12)	5259(6)	8126(2)	8254(5)	41(1)
O(17)	2023(4)	6309(1)	11077(4)	39(1)
O(18)	3243(4)	7154(1)	10110(4)	35(1)
O(19)	5136(5)	6622(1)	9151(4)	39(1)
O(20)	3850(4)	7708(1)	8941(4)	37(1)
O(21)	2929(5)	8222(2)	7826(4)	46(1)
O(22)	4481(5)	8389(1)	9527(4)	41(1)
O(23)	6271(6)	7362(2)	8322(4)	49(1)
O(24)	4745(6)	7264(2)	6883(5)	53(2)
P(3)	4158(2)	8129(1)	8706(1)	36(1)
F(5)	1915(4)	6800(2)	8253(3)	50(1)

U (eq) se define como un tercio de la traza del tensor Uij ortogonalizado

	x	y	z	U(eq)
F(6)	2937(5)	6285(1)	8908(4)	53(1)
C(76)	3540(7)	11117(2)	8649(6)	35(2)
C(77)	1484(7)	10884(2)	8173(6)	39(2)
C(78)	1778(7)	10570(2)	7671(6)	40(2)
C(79)	2942(7)	10551(2)	7677(5)	35(2)
C(80)	5100(7)	10796(2)	8131(5)	35(2)
C(81)	6303(6)	10530(2)	7384(6)	35(2)
C(82)	6961(7)	10396(2)	8421(6)	40(2)
C(83)	6006(7)	10527(2)	8865(6)	41(2)
C(84)	6246(7)	10233(2)	6633(6)	39(2)
C(85)	3528(7)	9348(2)	6559(6)	38(2)
C(86)	2822(8)	9666(2)	6114(7)	48(2)
C(87)	1628(8)	9720(2)	6144(7)	48(2)
C(88)	1173(9)	9470(3)	6643(9)	67(3)
C(89)	1910(11)	9160(4)	7098(11)	94(5)
C(90)	3074(10)	9099(3)	7046(9)	71(3)
C(91)	7615(8)	9178(2)	7289(7)	49(2)
C(92)	8505(9)	8866(2)	7193(9)	64(3)
C(93)	8450(7)	9499(3)	7889(6)	47(2)
C(94)	9666(9)	9667(3)	9478(7)	62(3)
C(95)	10946(8)	9549(3)	9561(6)	50(2)
C(96)	11759(10)	9775(3)	9326(8)	61(2)
C(97)	12923(11)	9654(4)	9378(10)	84(4)
C(98)	13298(11)	9271(4)	9690(10)	84(4)
C(99)	12498(11)	9039(3)	9906(8)	70(3)
C(100)	11361(10)	9177(3)	9876(8)	63(3)
N(13)	3848(5)	10818(2)	8143(5)	34(1)
N(14)	2369(6)	11140(2)	8647(5)	38(1)
N(15)	343(6)	10931(2)	8180(5)	48(2)
N(16)	6823(6)	9309(2)	6359(5)	44(2)
O(25)	4392(5)	11344(2)	9089(4)	46(1)
O(26)	5042(5)	10633(1)	7266(4)	39(1)
O(27)	8180(5)	10544(2)	8843(5)	51(2)
O(28)	5706(5)	9886(1)	6841(4)	39(1)
O(29)	4702(5)	9262(1)	6535(4)	39(1)
O(30)	4937(5)	9639(1)	5117(4)	41(1)
O(31)	8836(5)	9768(2)	7578(5)	50(1)
O(32)	8700(6)	9428(2)	8821(5)	62(2)
P(4)	5510(2)	9535(1)	6125(1)	36(1)
F(7)	5347(5)	10213(1)	8974(4)	55(1)
F(8)	6542(5)	10684(2)	9723(4)	61(1)
C(101)	6810(20)	9411(8)	10080(20)	93(8)
C(102)	6300(20)	9155(6)	9290(15)	83(7)
N(17)	7140(30)	9630(9)	10710(20)	148(12)

Ejemplo 2

Las solubilidades de NUC-1031 y sus diastereoisómeros se determinaron en un rango de sistemas solventes farmacéuticamente aceptables. El protocolo adoptado fue el siguiente:

Se preparó un pequeño volumen, 1 - 2 mL, de cada sistema solvente y se agregó un peso del compuesto en cuestión. Las soluciones se agitaron durante aproximadamente 4 horas y luego se filtraron con membrana de 0.45 µL. La concentración del compuesto en cuestión en el filtrado se determinó luego por ensayo de HPLC.

Con base en el esquema de dosificación de gemcitabina utilizado en el tratamiento del cáncer pancreático, la dosis ajustada de peso molecular de NUC-1031 sería de aproximadamente 3200 mg, proporcionada como una infusión una vez por semana. Como indicación del nivel de solubilidad requerido, tomando un objetivo nocional de un volumen de infusión de 500 mL, la solubilidad requerida del NUC-1031 sería > 6 mg/ml en el fluido de infusión. Sin embargo, este nivel de solubilidad es solo una indicación y las solubilidades a continuación pueden proporcionar terapias efectivas.

Tabla 5 muestra la solubilidad de una mezcla epimérica de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato 2 en un rango de solventes adecuados para administración intravenosa.

Solvente	Aspecto	Ensayo (mg/ml)
Etanol	Solubilizado rápidamente, después de 30 minutos precipitado en pasta blanca	
Glicerol	API evidente	
Propilenglicol	Precipitación evidente después de 30 minutos	371
PEG 400	Precipitación evidente después de 120 minutos	385
NMP	Solución clara	> 207
DMSO	Solución clara	> 217

Tabla 6 muestra la solubilidad de los dos epímeros 3 y 4 de gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-fosfato en un rango de mezclas de solvente/agua.

Solvente (porcentaje en volumen)	Solubilidad epímero (R) (mg/ml) 4	Solubilidad epímero (S) (mg/ml)3
PROPILENGLICOL (10 %)	0	0.23
PROPILENGLICOL (50 %)	0.11	11.29
PEG400 (10 %)	0	0.46
PEG400 (50 %)	0.27	32.13
ETANOL (10 %)	0	0.27
ETANOL (50 %)	0.69	34.79

Como se puede ver en la Tabla 6, el epímero (R) 4 es sustancialmente insoluble en 10 % de mezclas de solventes orgánicos polares en agua. El epímero (S) 3, por otro lado, muestra una solubilidad significativamente mejorada. En 50 % de mezclas de solventes orgánicos polares en agua, el epímero (S) 3 puede ser más de 100 veces más soluble que el epímero (R) 4. Por lo tanto, el epímero (S) puede proporcionar una terapia potencialmente muy conveniente y efectiva.

Ejemplo 3

Para evaluar la captación diferencial de los y epímeros (R) y (S) en ciclodextrina, se registraron los espectros de ^{31}P RMN de la mezcla de isómeros NUC-1031 después del tratamiento con HP-β-CD en D_2O.

Estudios de RMN. Se registraron ^{1}H RMN (500 MHz) y ^{31}P RMN (202 MHz) en un espectrómetro Bruker Avance de 500 MHz a 25 ° C. Los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm) en relación con D_2O interno (δ 4.9 ^{1}H RMN) o externo 85% de H_3PO_4 (δ 0.00 ^{31}P RMN). Ambos estudios de HPLC y RMN se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

Estudios de HPLC. El análisis analítico de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se realizó utilizando un sistema ThermoScientific. Los análisis de HPLC de fase inversa se llevaron a cabo en un SCIENTIFIC Hypersil Gold C18, 5 µ, 150 x 4.6 mm, eluyendo con H_2O/CH_3CN de 90/10 a 0/100 en 30 minutos a un índice de fluidez de 1 mL/min y a la longitud de onda de detección de 280 nm. Los tiempos de retención de los epímeros NUC-1031 (disueltos en MeOH) se observan respectivamente a 13.58 min para el epímero (S) 3 y a 13.44 min para el epímero (R) 4 bajo estas condiciones (Figura 5A).

Se pesaron 2.36 mg de la mezcla de isómeros NUC-1031 (1:1.1 (S):(R)) y se transfirieron a un tubo de RMN. Luego se disolvieron 13.3 mg de HP-β-CD en 1.3 mL de óxido de deuterio y esta solución se agregó al tubo de RMN (relación molar 1:2.3 NUC1031:HP-β-CD) (NOTA: no todo el sólido se disolvió en la solución).

El espectro de ^{31}P RMN muestra que HP-β-CD puede mejorar la solubilidad del NUC-1031 epímero (S) 3 (4.14 Hz) con respecto al epímero (R) (4.00 Hz), la relación observada de epímeros (R) y(S) en solución es 6.6:1 a favor del epímero (S) (Figura 4).

Se diluyeron 0.5 mL de la solución de D_2O del estudio de RMN a 1 mL mediante la adición de 0.5 mL de agua (1.15 mg/mL). Se inyectaron 20 µL de esta solución en la HPLC.

El análisis por HPLC de la muestra de RMN confirmó que el epímero (S) 3 diluido se recoge en una solución mejor que el epímero (R) 4, la relación observada de epímeros (S) y (R) en la solución es 5:1 a favor del epímero (S), en general de acuerdo con los datos de RMN (Figura 5B).

Estudios similares realizados con otro derivado de fosfato de gemcitabina no mostraron diferencias entre la absorción de los (S)- y epímero (R)s de ese derivado en una solución de ciclodextrina.

Ejemplo 4

La depuración y la biodisponibilidad de la mayoría de los medicamentos están fuertemente influenciadas por su metabolismo de primer paso en el hígado. Es posible estimar la “estabilidad metabólica” hepática relativa in vitro al incubar compuestos con hepatocitos criopreservados y determinar la cantidad inicial frente a la cantidad final del compuesto de prueba en las mezclas de incubación.

El siguiente procedimiento es un ensayo de HPLC-MS/MS que utiliza suspensión de hepatocitos criopreservados humanos agrupados.

Matriz de ensayo

Hepatocitos humanos: género mixto y grupo de 10

Densidad celular final: 1 millón (10^6) células viables/mL

Protocolo experimental

Los hepatocitos criopreservados agrupados se descongelan, se lavan y se resuspenden en tampón Krebs-Heinslet (pH 7.3). La reacción se inicia al agregar el compuesto de prueba (concentración final 1 µM) en la suspensión celular e incubar en un volumen final de 100 µL en una placa de 96 pozos de fondo plano durante 0 minutos y 120 minutos, respectivamente, a 37 ° C/5% de CO_2. La reacción se detiene al agregar 100 µL de acetonitrilo a la mezcla de incubación. Luego, las muestras se mezclan suavemente y brevemente en un agitador de placa, se transfiere completamente a una placa de 96 pozos con fondo en V de 0.8 mL, y se centrifuga a 2550 xg durante 15 minutos a temperatura ambiente. Cada sobrenadante (150 µL) se transfiere a un tubo agrupado limpio, seguido por análisis HPLC-MS/MS sobre un sistema de triple cuadrupolo Thermo Electron.

Este ensayo se modificó para la determinación de la vida media. En este caso, los puntos de tiempo de muestreo son 0, 30, 60, 90 y 120 minutos.

Compuestos de referencia

Se probaron cuatro compuestos de referencia (1 µM) simultáneamente con los compuestos de prueba. El propranolol es relativamente estable con los hepatocitos humanos, mientras que el flurazepam, naloxona y terfenadina son relativamente inestables con los hepatocitos humanos.

Métodos analíticos

Las muestras se analizan mediante HPLC-MS/MS (RP) utilizando monitorización de reacción seleccionada (SRM). Las condiciones de HPLC consisten en una bomba binaria HP1100 con muestreador automático, un modo mixto C-12, columna de 2 x 20 mm, y un gradiente.

Análisis de los datos

Las áreas de pico correspondientes al compuesto de prueba se registran por HPLC-MS/MS. La estabilidad metabólica, expresada como porcentaje del compuesto de prueba restante, se calcula al comparar las áreas de pico del compuesto de prueba a las 2 horas con el tiempo cero. En el caso de la determinación de la vida media, la vida media se estima a partir de la pendiente del rango lineal inicial de la curva logarítmica del compuesto de prueba restante (%) frente al tiempo, suponiendo una cinética de primer orden.

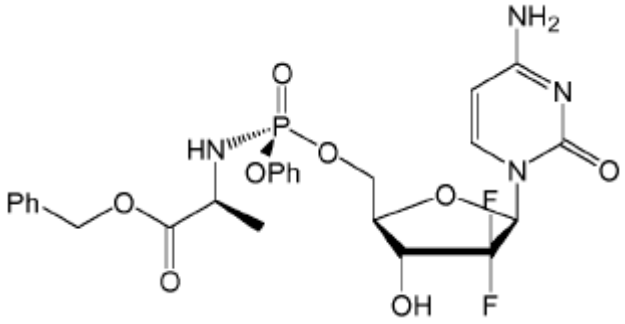
Los resultados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7 muestra las depuraciones intrínsecas del epímero S, el epímero R y una mezcla de los dos epímeros.

	Concentración de prueba (M)	Tiempo de incubación (minutos)	% de compuesto restante				Vida media (minuto)				Clint
			1ro	2do	3ro	Media	1ro	2do	3ro	Media	
Mezcla R/S	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	72.9	72.5	82.2	76	13.10
	1.0E-06	30	64.3	68.7	74.3	69.1					13.10
	1.0E-06	60	56.5	56.3	60.3	57.7					13.10
	1.0E-06	90	59.6	55.9	45.2	53.6					13.10
	1.0E-06	120	36.9	56.8	53.9	49.2					13.10
S	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	40.5	36.5	35.0	37	26.60
	1.0E-06	30	47.2	57.6	52.9	52.6					26.60
	1.0E-06	60	35.8	32.0	30.4	32.7					26.60
	1.0E-06	90	25.0	26.0	30.2	27.0					26.60
	1.0E-06	120	31.0	30.6	35.6	32.4					26.60
R	1.0E-06	0	100.0	100.0	100.0	100.0	471.6	> 120	> 120	> 120	< 8.2
	1.0E-06	30	80.2	86.9	94.3	87.1					< 8.2
	1.0E-06	60	97.4	{2.1}	{1.3}	97.4					< 8.2
	1.0E-06	90	73.6	91.6	88.0	84.4					< 8.2
	1.0E-06	120	83.8	108.5	111.4	101.2					< 8.2

REIVINDICACIONES

1. Una formulación farmacéutica que comprende gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de la misma, que tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 90 %, y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable; en la que la formulación es una formulación acuosa que también comprende un solvente orgánico polar.

2. Una formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación es adecuada para administración parental.

3. Una formulación farmacéutica de la reivindicación 2, en la que la formulación es adecuada para administración intravenosa.

4. Una formulación farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que la formulación comprende adicionalmente una ciclodextrina.

5. Una formulación farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la formulación es adecuada para administración oral.

6. Una formulación farmacéutica de cualquier reivindicación precedente, en la que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 está en la forma de una base libre.

7. Una formulación farmacéutica de cualquier reivindicación precedente, en la que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 95 %.

8. Una formulación farmacéutica de la reivindicación 7, en la que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 98 %.

9. Una formulación farmacéutica de la reivindicación 8, en la que la gemcitabina-[fenil-benzoxi-L-alaninil)]-(S)-fosfato 3 tiene una pureza diastereoisomérica mayor que 99.5 %.

10. Una formulación farmacéutica de cualquier reivindicación precedente, para uso en el tratamiento de cáncer.

11. Una formulación farmacéutica para uso de la reivindicación 10, en la que el cáncer se selecciona de: cáncer pancreático, cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de vejiga, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, colangiocarcinoma, cáncer renal, cáncer cervical, cáncer de timo, un cáncer de un origen primario desconocido, linfoma o leucemia.

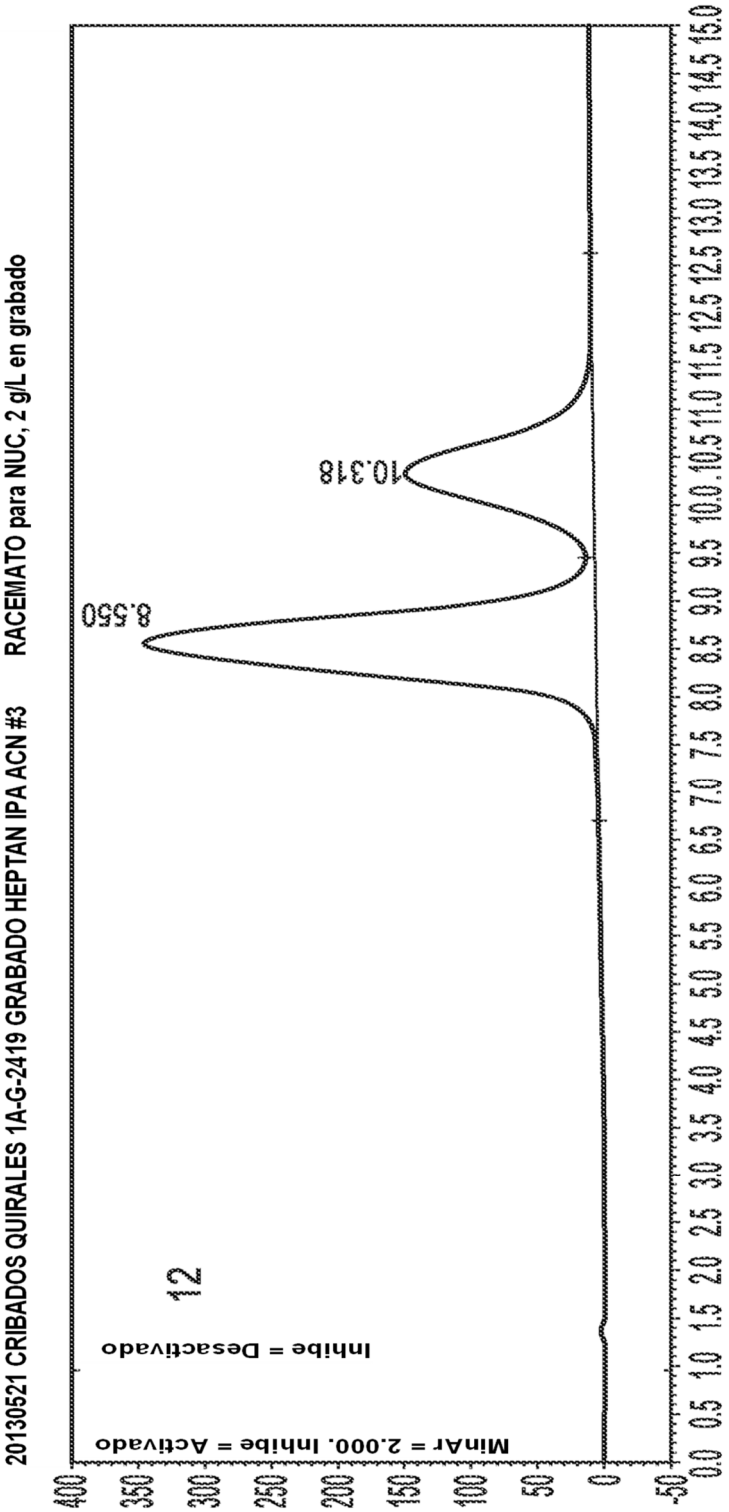

20130521 CRIBADOS QUIRALES 1A-G-2419 GRABADO HEPTAN IPA ACN #3 RACEMATO para NUC, 2 g/L en grabado
MinAr = 2.000. Inhibe = Activado
Inhibe = Desactivado
12
8.550
10.318
400
350
300
250
200
150
100
50
0
-50
0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 10.0 10.5 11.0 11.5 12.5 12.5 13.0 13.5 14.0 14.5 15.0

FIG. 1

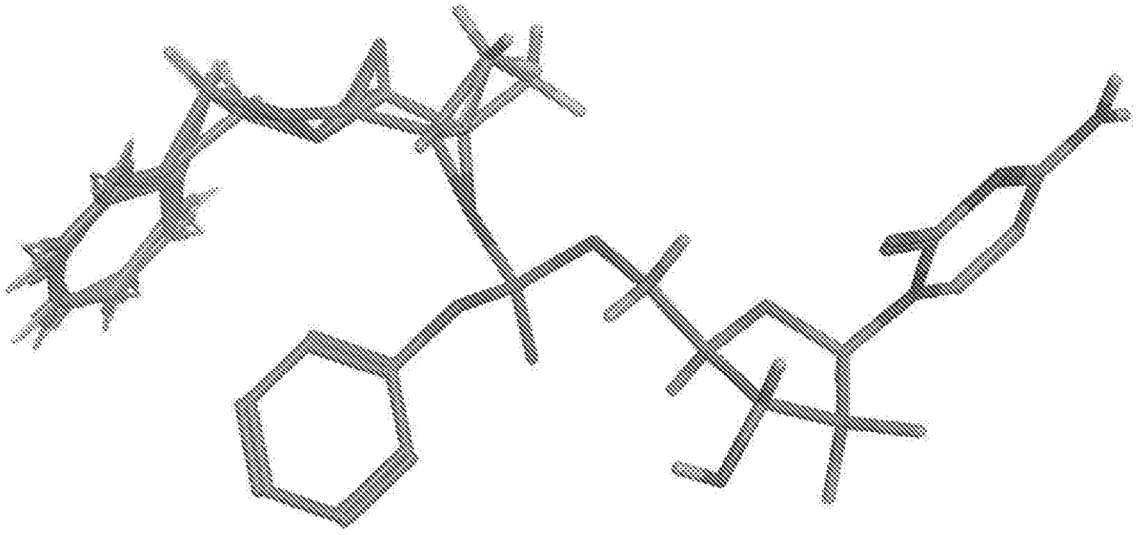


FIG. 2

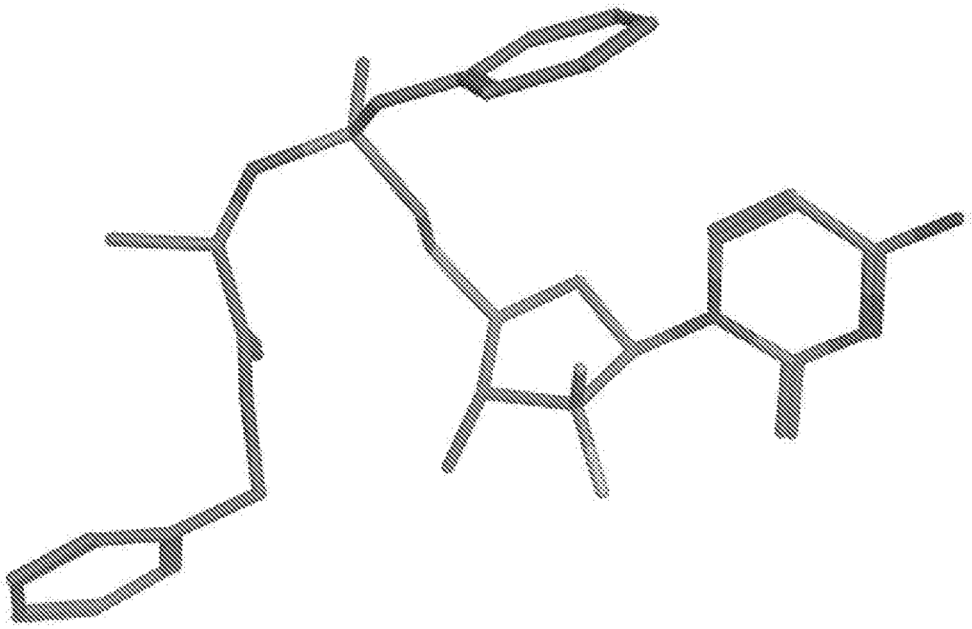


FIG. 3

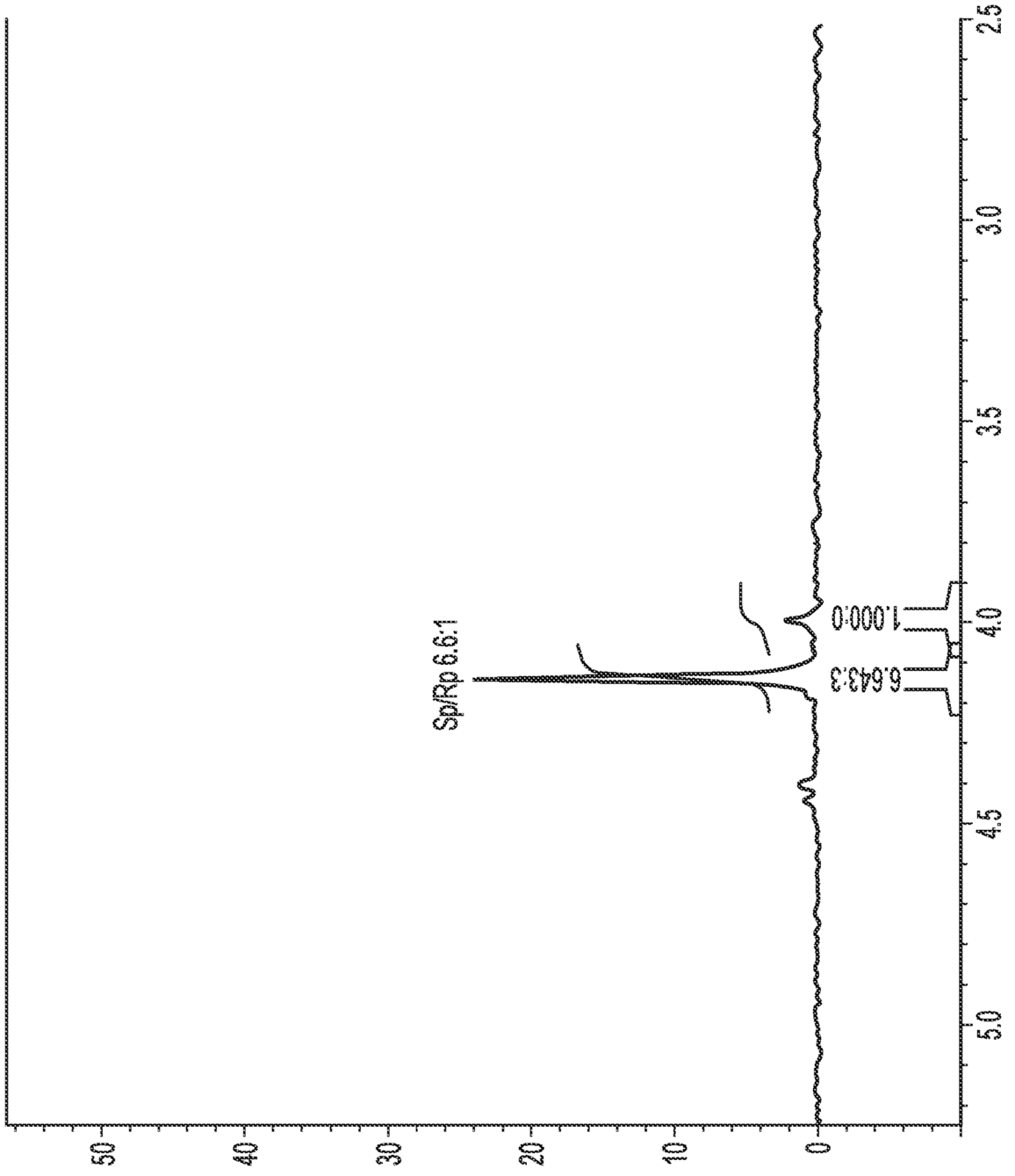


FIG. 4

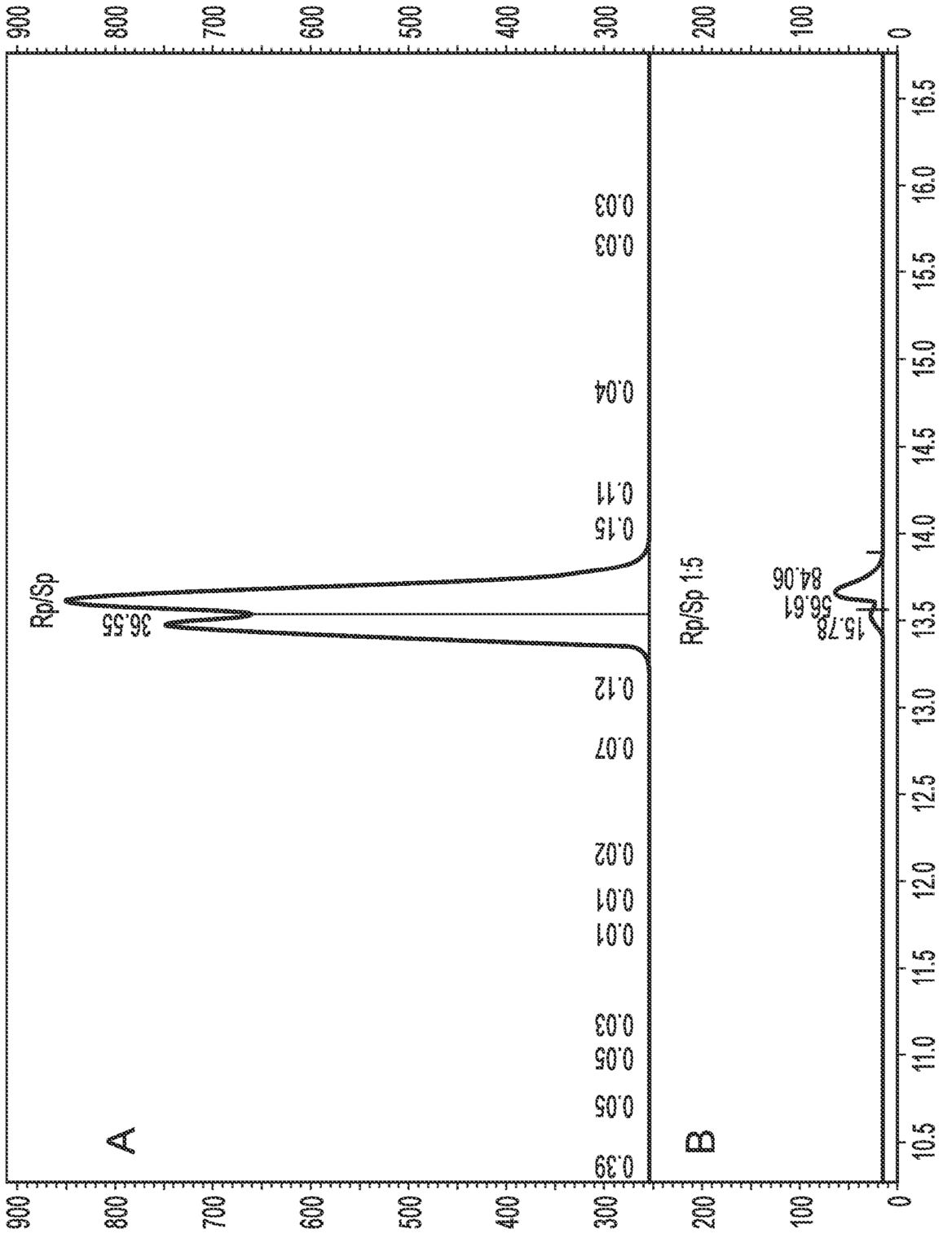

A
B
Rp/Sp
36.55
Rp/Sp 1:5
15.78
56.61
84.06
0.39
0.05
0.05
0.03
0.01
0.01
0.02
0.07
0.12
0.15
0.11
0.04
0.03
0.03
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
10.5
11.0
11.5
12.0
12.5
13.0
13.5
14.0
14.5
15.0
15.5
16.0
16.5

FIG. 5