

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 959 891**

51 Int. Cl.:

A61K 31/416 (2006.01)
A61K 31/555 (2006.01)
A61K 33/24 (2009.01)
C07F 15/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/26 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 33/243 (2009.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.05.2018** **PCT/US2018/031436**
87 Fecha y número de publicación internacional: **08.11.2018** **WO18204930**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.05.2018** **E 18794220 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.07.2023** **EP 3618827**

54 Título: **Producción de trans-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] y composiciones del mismo**

30 Prioridad:

05.05.2017 US 201762501984 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.02.2024

73 Titular/es:

BOLD THERAPEUTICS INC. (100.0%)
850 West Hastings Street, Suite 515
Vancouver, BC, V6C 1E1, CA

72 Inventor/es:

VOJKOVSKY, TOMAS;
SILL, KEVIN y
CARIE, ADAM

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Observaciones:

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

ES 2 959 891 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

Producción de trans-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] y composiciones del mismo

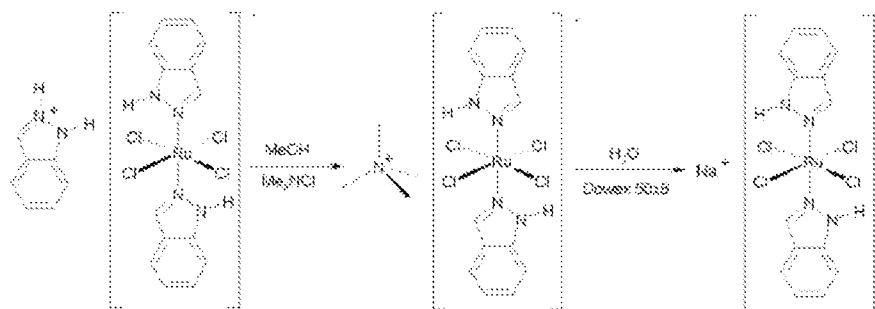
- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional en los Estados Unidos con el número de serie 62/501.984, presentada en el 5 de mayo, 2017.

Campo de la invención

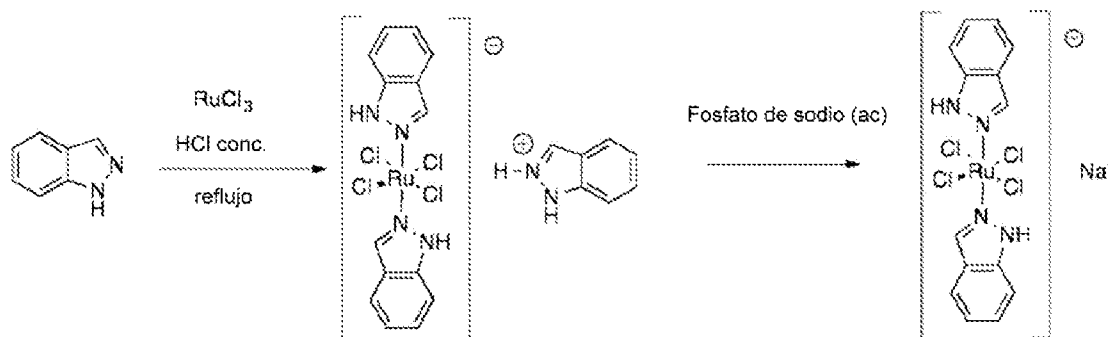
- 10 Esta invención en general se refiere a composiciones que comprenden trans-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio y cesio así como métodos para sintetizar dicho rutenato.

Antecedentes de la invención

- 15 En la bibliografía existen varios métodos para la preparación de trans-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio (también conocido como KP1339, NKP-1339, IT-139, y $\text{Na}[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_4(\text{Hind})_2]$). El documento WO 2008/154553 en general se refiere a la síntesis química, y en particular a un método de hacer una sal de metal alcalino de trans-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)]. Además, W. Peti et al, Eur. J. Inorg. Chem. 1999, 1551-1555 divulga el siguiente esquema de síntesis.



- 25 En este método, la solubilidad limitada de la sal cloruro de tetrametilamonio produce un requisito para altos volúmenes de solvente. Además, hay preocupaciones de toxicidad con respecto al uso de sales de tetrametilamonio. Se describe un proceso adicional en la patente en Estados Unidos No. 8.362.266. Este proceso proporciona un método de hacer el compuesto *M-trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)], en donde M es un catión de metal alcalino, dicho método comprende las etapas de: (1) hacer reaccionar, en una solución acuosa o una mezcla de agua y un primer solvente orgánico que es soluble en agua, *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio con una sal inorgánica de dicho catión de metal alcalino M, para formar el compuesto *M-trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] y una sal inorgánica de indazol; y (2) extraer dicho indazol de dicho *M-trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] con un segundo solvente orgánico que no sea sustancialmente soluble en agua. Este método se resume en el esquema siguiente.



- 35 El método descrito anteriormente es eficaz; sin embargo, la necesidad para la etapa de extracción y los tiempos de retención relacionados puede limitar el tamaño de lote eficaz. Además, la pureza del compuesto está directamente relacionada a la duración de tiempo que el compuesto está en el medio acuoso, básico. Los rendimientos globales para este método están en el 20-35%. Por tanto, un método que no utiliza un proceso de extracción, evita un medio básico acuoso, tiene alto rendimiento y produce un compuesto con niveles de pureza altos es muy deseable. Además, una metodología que evita la extracción y grandes cantidades de solventes orgánicos también es deseable. Una metodología principalmente enfocada en precipitación seguida por filtración satisfaría esta necesidad.

Breve descripción de las figuras

Figura 1. Pureza del principio activo IT-139 en solución a granel preparada y almacenada refrigerada (2-8°C) y a temperatura ambiente (18-22°C).

Figura 2. Cromatograma de HPLC para IT-139 almacenado refrigerado (2-8°C) durante 18 horas.

Figura 3. Cromatograma de HPLC para IT-139 almacenado a temperatura ambiente (18-22°C) durante 18 horas.

Figura 4. Cromatograma de HPLC usando el **método de HPLC #3** de **fórmula I-b** preparado usando metodología sintética previa divulgada en la patente en EE UU No. 8.362.266.

Figura 5. Cromatograma de HPLC usando el **método de HPLC #2** de **fórmula I-b** preparado usando un método sintético previo.

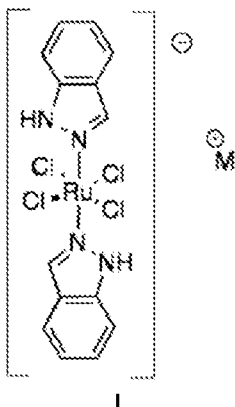
Figura 6. Cromatograma de HPLC usando el **método de HPLC #3** de **fórmula I-b** preparado usando la metodología sintética de la presente invención.

Figura 7. Cromatograma de HPLC usando el **método de HPLC #2** de **fórmula I-b** preparado usando la metodología sintética de la presente invención.

Descripción detallada de ciertas formas de realización de la invención

1. Descripción general:

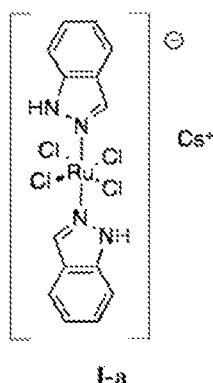
Como se describe en el presente documento, se proporcionan métodos para preparar sales de metales alcalinos de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)]. Tales compuestos incluyen los de fórmula I.



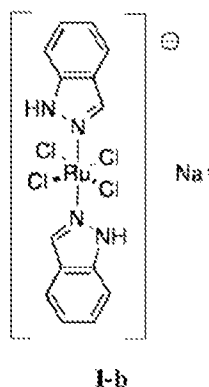
en donde M es un catión de metal alcalino.

Según la reivindicación 1, la presente invención proporciona intermedios sintéticos útiles para preparar tales compuestos.

Según la reivindicación 6, la presente invención también proporciona métodos para la preparación de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de cesio como se representa en la **fórmula I-a** a continuación.



Según la reivindicación 7, la presente invención también proporciona métodos para la preparación de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio como se representa en la **fórmula I-b** a continuación.



2. Definiciones:

- Se entiende que los términos *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, KP1339, NKP-1339, IT-139, y $\text{Na}[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_4(\text{Hind})_2]$ representan todos el mismo compuesto (**fórmula I-b**) y se pueden usar de forma intercambiable.

Como se usa en el presente documento, el término amorfo se refiere a un sólido no cristalino que carece de orden de largo alcance.

- Los compuestos de esta invención incluyen los descritos en general anteriormente, y se ilustran adicionalmente por las formas de realización, subformas de realización y especies divulgadas en el presente documento. Como se usa en el presente documento, las siguientes definiciones se aplicarán a menos que se indique de otra manera. Para los fines de esta invención, los elementos químicos se definen según la tabla periódica de los elementos, versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª Ed. Además, los principios generales de química orgánica se describen en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª Ed., Ed.: Smith, M.B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

- El término "alifático" o "grupo alifático", como se usa en el presente documento, indica una fracción hidrocarbonada que puede ser de cadena lineal (es decir, sin ramificar), ramificada, o cíclica (incluyendo policíclica fusionada, en puente, y espirofusionada) y puede estar completamente saturada o puede contener una o más unidades de insaturación, pero que no es aromática. A menos que se especifique de otra manera, los grupos alifáticos contienen 1-20 átomos de carbono. En algunas formas de realización, los grupos alifáticos contienen 1-10 átomos de carbono. En otras formas de realización, los grupos alifáticos contienen 1-8 átomos de carbono. En aun otras formas de realización, los grupos alifáticos contienen 1-6 átomos de carbono, y en todavía otras formas de realización, los grupos alifáticos contienen 1-4 átomos de carbono. Los grupos alifáticos incluyen, pero no están limitados a, grupos alquilo, alquenilo y alquinilo lineales o ramificados, e híbridos de los mismos tal como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alquenilo.

- El término "heteroátomo" significa uno o más de oxígeno, azufre, nitrógeno, fósforo o silicio. Esto incluye cualquier forma oxidada de nitrógeno, azufre, fósforo o silicio; la forma cuaternizada de cualquier nitrógeno básico, o, un nitrógeno sustituible de un anillo heterocíclico incluyendo =N-, como en 3,4-dihidro-2H-pirrolilo, -NH- como en pirrolidinilo, o =N(R¹)- como en pirrolidinilo sustituido en N.

El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que una fracción tiene una o más unidades de insaturación.

5 Como se usa en el presente documento, el término "cadena hidrocarbonada de C₁₋₁₂ bivalente, saturada o insaturada, lineal o ramificada" se refiere a cadenas de alquileo, alquilenilo y alquinileno bivalentes que son lineales o ramificadas como se define en el presente documento.

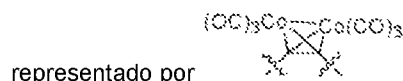
10 El término "arilo" usado solo o como parte de una fracción mayor como en "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxialquilo", se refiere a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos y tricíclicos que tienen un total de cinco a catorce miembros de anillo, en donde al menos un anillo en el sistema es aromático y en donde cada anillo en el sistema contiene de tres a siete miembros de anillo. El término "arilo" se puede usar de forma intercambiable con el término "anillo arilo".

15 Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden contener fracciones "opcionalmente sustituidas". En general, el término "sustituido", esté precedido por el término "opcionalmente" o no, significa que uno o más hidrógenos de la fracción designada están sustituidos con un sustituyente adecuado. A menos que se indique de otra manera, un grupo "opcionalmente sustituido" puede tener un sustituyente adecuado en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en cualquier estructura determinada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado de un grupo especificado, el sustituyente puede ser el mismo o diferente en cada posición. Las combinaciones de sustituyentes previstas por esta invención son preferiblemente las que producen la formación de compuestos estables o químicamente factibles. El término "estable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que no se alteran sustancialmente cuando se someten a condiciones que permiten su producción, detección, y, en ciertas formas de realización, su recuperación, purificación, y uso para uno o más de los fines divulgados en el presente documento.

25 Los sustituyentes monovalentes en un átomo carbono sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" son independientemente halógeno; $-(CH_2)_{0-4}R^o$; $-(CH_2)_{0-4}OR^o$; $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^o$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^o)_2$; $-(CH_2)_{0-4}SR^o$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, que puede estar sustituido con R^o ; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ que puede estar sustituido con R^o ; $-CH=CHPh$, que puede estar sustituido con R^o ; $-NO_2$; $-CN$; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^o)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^o)C(O)R^o$; $-N(R^o)C(S)R^o$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^o)C(O)NR^o_2$; $-N(R^o)C(S)NR^o_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^o)C(O)OR^o$; $-N(R^o)N(R^o)C(O)R^o$; $-N(R^o)N(R^o)C(O)NR^o_2$; $-N(R^o)N(R^o)C(O)OR^o$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)R^o$; $-C(S)R^o$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^o$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR^o$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)SiR^o_3$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R^o$; $-OC(O)(CH_2)_{0-4}SR^o$; $-SC(S)SR^o$; $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R^o$; $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR^o_2$; $-C(S)NR^o_2$; $-C(S)SR^o$; $-SC(S)SR^o$; $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR^o_2$; $-C(O)N(OR^o)R^o$; $-C(O)C(O)R^o$; $-C(O)CH_2C(O)R^o$; $-C(NOR^o)R^o$; $-(CH_2)_{0-4}SSR^o$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R^o$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR^o$; $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R^o$; $-S(O)_2NR^o_2$; $-(CH_2)_{0-4}S(O)R^o$; $-N(R^o)S(O)_2NR^o_2$; $-N(R^o)S(O)_2R^o$; $-N(OR^o)R^o$; $-C(NH)-NR^o_2$; $-P(O)_2R^o$; $-P(O)R^o_2$; $-OP(O)R^o_2$; $-OP(O)(OR^o)_2$; $-SiR^o_3$; $-(alquileo\ lineal\ o\ ramificado\ de\ C_{1-4})O-N(R^o)_2$; o $-(alquileo\ lineal\ o\ ramificado\ de\ C_{1-4})C(O)O-N(R^o)_2$; en donde cada R^o puede estar sustituido como se define posteriormente y es independientemente hidrógeno, alifático de C₁₋₆, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros, que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R^o , tomadas junto a su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo mono- o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o arilo de 3-12 miembros que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre, que pueden estar sustituidos como se define posteriormente.

45 Los sustituyentes monovalentes en R^o (o el anillo formado al tomar dos apariciones independientes de R^o junto con sus átomos intermedios), son independientemente halógeno, $-(CH_2)_{0-2}R^*$, $-(haloR^*)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^*$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^*)_2$, $-O(haloR^*)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^*$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^*$, $-(CH_2)_{0-2}SR^*$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$, $-(CH_2)_{0-2}NHR^*$, $-(CH_2)_{0-2}NR^*_2$, $-NO_2$, $-SiR^*_3$, $-OSiR^*_3$, $-C(O)SR^*$, $-(alquileo\ lineal\ o\ ramificado\ de\ C_{1-4})C(O)OR^*$, o $-SSR^*$, en donde cada R^* está sin sustituir o donde precedido por "halo" está sustituido solo con uno o más halógenos, y se selecciona independientemente de alifático de C₁₋₄, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros, que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Tales sustituyentes divalentes en un átomo de carbono saturado de R^o incluyen $=O$ y $=S$.

50 Los sustituyentes divalentes en un átomo de carbono saturado de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen los siguientes: $=O$, $=S$, $=NNR^*_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHC(O)OR^*$, $=NNHS(O)_2R^*$, $=NR^*$, $=NOR^*$, $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$, o $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático de C₁₋₆ que puede estar sustituido como se define posteriormente, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Los sustituyentes divalentes que están unidos a carbonos sustituibles vecinales de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen: $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$, en donde cada aparición independiente de R^* se selecciona de hidrógeno, alifático de C₁₋₆ que puede estar sustituido como se define posteriormente, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o arilo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Un sustituyente tetravalente que está unido a carbonos de metileno sustituibles vecinales de un grupo "opcionalmente sustituido" es el grupo dicobalto hexacarbonilo



cuando se representa con los metilenos que lo portan.

Los sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R* incluyen halógeno, -R*, -(haloR*), -OH, -OR*, -O(haloR*), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR*, -NH₂, -NHR*, -NR*₂, o -NO₂, en donde cada R* está sin sustituir o donde precedido por "halo" está sustituido solo con uno o más halógenos, y se es independientemente alifático de C₁₋₄, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o anillo de 5-6 miembros, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

Los sustituyentes adecuados en un nitrógeno sustituible de un grupo "opcionalmente sustituido" incluyen -R[†], -NR[†]₂, -C(O)R[†], -C(O)OR[†], -C(O)C(O)R[†], -C(O)CH₂C(O)R[†], -S(O)₂R[†], -S(O)₂NR[†]₂, -C(S)NR[†]₂, -C(NH)NR[†]₂, o -N(R[†])S(O)₂R[†], en donde cada R[†] es independientemente hidrógeno, alifático de C₁₋₆ que puede estar sustituido como se define posteriormente, -OPh sin sustituir, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o anillo de 5-6 miembros sin sustituir que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre, o, a pesar de la definición anterior, dos apariciones independientes de R[†], tomadas junto a su(s) átomo(s) intermedio(s), forman un anillo mono- o bicíclico saturado, parcialmente insaturado o anillo de 3-12 miembros sin sustituir que tiene 0-4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre.

Los sustituyentes adecuados en el grupo alifático de R[†] son independientemente halógeno, -R*, -(haloR*), -OH, -OR*, -O(haloR*), -CN, -C(O)OH, -C(O)OR*, -NH₂, -NHR*, -NR*₂, o -NO₂, en donde cada R* está sin sustituir o donde precedido por "halo" está sustituido solo con uno o más halógenos, y es independientemente alifático de C₁₋₄, -CH₂Ph, -O(CH₂)₀₋₁Ph, o un anillo saturado, parcialmente insaturado o anillo de 5-6 miembros, que tiene 0-4 heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno, o azufre.

Los grupos hidroxilo protegidos se conocen bien en la técnica e incluyen los descritos en detalle en *Protecting Groups in Organic Synthesis*, T. W. Greene y P. G. M. Wuts, 3ª edición, John Wiley & Sons, 1999.

Los ejemplos de grupo hidroxilo adecuadamente protegido además incluyen, pero no están limitados a, ésteres, carbonatos, éteres alílicos de sulfonatos, éteres, éteres de sililo, éteres alquílicos, éteres de arilalquilo, y éteres de alcoxilalquilo. Los ejemplos de ésteres adecuados incluyen formiatos, acetatos, propionatos, pentanoatos, crotonatos, y benzoatos. Los ejemplos específicos de ésteres adecuados incluyen formiato, formiato de benzoilo, cloroacetato, trifluoroacetato, metoxiacetato, trifenilmetoxiacetato, p-clorofenoxiacetato, 3-fenilpropionato, 4-oxopentanoato, 4,4-(etilenditio)pentanoato, pivaloato (trimetilacetato), crotonato, 4-metoxi-crotonato, benzoato, p-bencilbenzoato, 2,4,6-trimetilbenzoato. Los ejemplos de carbonatos incluyen carbonato de 9-fluorenilmetilo, etilo, 2,2,2-tricloroetilo, 2-(trimetilsilil)etilo, 2-(fenilsulfonil)etilo, vinilo, alilo, y p-nitrobencilo. Los ejemplos de éteres de sililo incluyen éter de trimetilsililo, trietilsililo, t-butildimetilsililo, t-butildifenilsililo, trisopropilsililo y otros éteres de trialkilsililo. Los ejemplos de éteres de alquilo incluyen éter de metilo, bencilo, p-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, tritilo, t-butilo, y alilo, o derivados de los mismos. Los éteres de alcoxilalquilo incluyen acetales tal como éter de metoximetilo, metiltiommetilo, (2-metoxietoxi)metilo, benciloximetilo, beta-(trimetilsilil)etoximetil, y tetrahidropiran-2-ilo. Los ejemplos de éteres de arilalquilo incluyen éteres de bencilo, p-metoxibencilo (MPM), 3,4-dimetoxibencilo, O-nitrobencilo, p-nitrobencilo, p-halobencilo, 2,6-diclorobencilo, p-cianobencilo, y 2- y 4-picolilo.

Las aminas protegidas se conocen bien en la técnica e incluyen las descritas en detalle en Greene (1999). Las aminas monoprotegidas además incluyen, pero no están limitadas a, aralquilaminas, carbamatos, alil aminas, amidas y similares. Los ejemplos de fracciones amino monoprotegidas incluyen t-butilcarbonilamino (-NHBOC), etiloxycarbonilamino, metiloxycarbonilamino, tricloroetiloxycarbonilamino, aliloxycarbonilamino (-NHAlloc), benciloxycarbonilamino (-NHCBZ), alilamino, bencilamino (-NHBn), fluorenilmetilcarbonilo (-NHFMoc), formamido, acetamido, cloroacetamido, dicloroacetamido, tricloroacetamido, fenilacetamido, trifluoroacetamido, benzamido, t-butildifenilsililo y similares. Las aminas diprotegidas incluyen aminas que están sustituidas con dos sustituyentes independientemente seleccionados de los descritos anteriormente como aminas monoprotegidas, y además incluyen iminas cíclicas, tal como ftalimida, maleimida, succinimida y similares. Las aminas diprotegidas también incluyen pirroles y similares como 2,2,5,5-tetrametil-[1,2,5]azadisilolidina y similares, y azida.

Los aldehídos protegidos se conocen bien en la técnica e incluyen los descritos en detalle en Greene (1999). Los aldehídos protegidos además incluyen, pero no están limitados a, acetales acíclicos, acetales cíclicos, hidrazonas, iminas y similares. Los ejemplos de tales grupos incluyen dimetil acetal, dietil acetal, diisopropil acetal, dibencil acetal, bis(2-nitrobencil) acetal, 1,3-dioxanos, 1,3-dioxolanos, semicarbazonas, y derivados de los mismos.

Los ácidos carboxílicos se conocen bien en la técnica e incluyen los descritos en detalle en Greene (1999). Los ácidos carboxílicos protegidos además incluyen, pero no están limitados a, ésteres alifáticos de C₁₋₆ opcionalmente sustituidos, ésteres de anillo opcionalmente sustituidos, éteres de sililo, ésteres activados, amidas, hidracidas, y similares. Los ejemplos de tales grupos ésteres incluyen éster de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, bencilo y fenilo, en donde cada grupo está opcionalmente sustituido. Los ácidos carboxílicos protegidos adicionales incluyen oxazolinas y orto ésteres.

Los tioles se conocen bien en la técnica e incluyen los descritos en detalle en Greene (1999). Los tioles protegidos además incluyen, pero no están limitados a, disulfuros, tioéteres, tioéteres de sililo, tioésteres, tiocarbonatos, y tiocarbamatos, y similares. Los ejemplos de tales grupos incluyen, pero no están limitados a tioéteres de alquilo,

tioéteres de bencilo y bencilo sustituido, tioéteres de trifenilmetilo, y tioéster de tricloroetoxicarbonilo, por nombrar unos pocos.

A menos que se afirme otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también se pretende que incluyan todas las formas enantioméricas, diastereoméricas, y geométricas (o conformacionales) de la estructura; por ejemplo, las configuraciones R y S para cada centro asimétrico, isómeros de doble enlace Z y E, e isómeros conformacionales Z y E. Por tanto, los isómeros estereoquímicos individuales, así como las mezclas enantioméricas, diastereoméricas y geométricas (o conformacionales) de los presentes compuestos están dentro del ámbito de la invención. A menos que se manifieste otra cosa, todas las formas tautoméricas de los compuestos de la invención están dentro del ámbito de la invención. Además, a menos que se manifieste otra cosa, las estructuras representadas en el presente documento también se pretende que incluyan compuestos que se diferencian solo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen la presente estructura excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C están dentro del ámbito de esta invención. Tales compuestos son útiles, por ejemplo, como en experimentos de dispersión de neutrones, como herramientas analíticas o sondas en ensayos biológicos.

La expresión "forma posológica unitaria" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de la formulación inventiva apropiada para el sujeto que se va a tratar. Sin embargo, se entenderá que el uso diario total de las composiciones de la presente invención lo decidirá el médico dentro del ámbito del juicio médico racional. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier sujeto u organismo particular dependerá de una variedad de factores incluyendo el trastorno que se trata y la gravedad del trastorno; la actividad del agente activo específico empleado; la composición específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del sujeto; el tiempo de administración y la velocidad de excreción del agente activo específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos y/o terapias adicionales usadas en combinación o coincidentes con compuesto(s) específico(s) empleado(s), y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

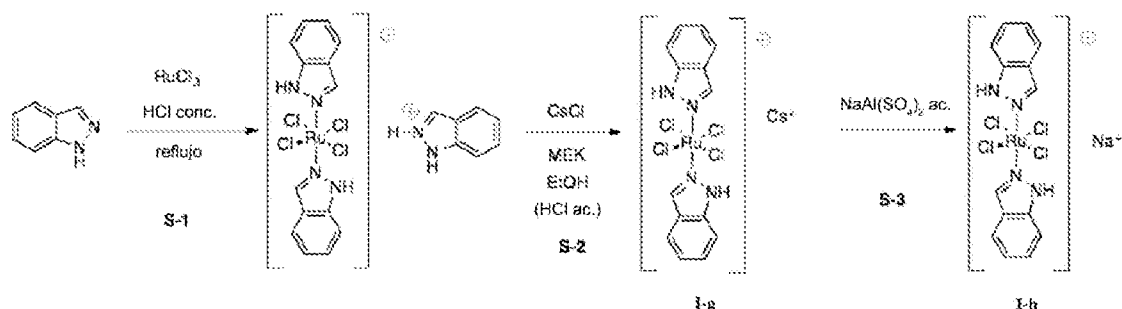
El término "aproximadamente" cuando se refiere a un valor medible tal como una cantidad, una duración temporal, y similares, se refiere a variaciones del $\pm 20\%$ o en algunos casos del $\pm 10\%$, o en algunos casos del $\pm 5\%$, o en algunos casos del $\pm 1\%$, o en algunos casos del $\pm 0,1\%$ del valor especificado, ya que tales variaciones son apropiadas para realizar los métodos divulgados.

3. Descripción de formas de realización ejemplares:

3.1 Principio activo

En ciertas formas de realización, los presentes compuestos en general se preparan según el esquema I mostrado a continuación:

Esquema I



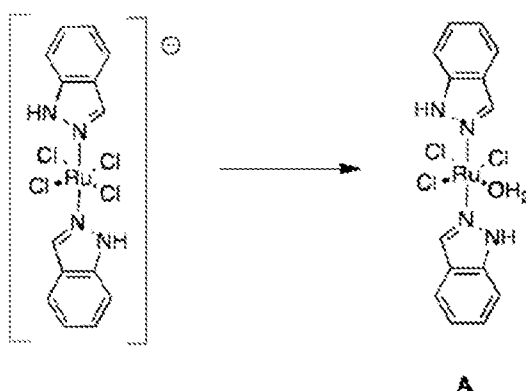
En un aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para preparar compuestos de **fórmula I** según las etapas representadas en el **esquema I** anterior. En la etapa **S-1**, se hace reaccionar cloruro de rutenio (III) con indazol para formar la sal de indazolio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)]. Esta etapa (**S-1**) se conoce bien en la técnica, véase Keppler et. al. *Inorganic Chemistry*, **26**, 1987. En la etapa **S-2**, la sal de indazolio se convierte a la sal de cesio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)], **fórmula I-a**, por tratamiento con cloruro de cesio. Un experto en la materia reconocerá esto como un intercambio de sal de la sal de indazolio a la sal de cesio. Según la reivindicación 8, en la etapa **S-3**, la sal de cesio de **fórmula I-a** se convierte a la sal de sodio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)], **fórmula I-b**, por tratamiento con sulfato de sodio y aluminio. Un experto en la materia reconocerá esto como un intercambio de sal de la sal de cesio a la sal de sodio.

En ciertas formas de realización, cada una de las etapas sintéticas anteriormente mencionadas se puede realizar secuencialmente con aislamiento de cada intermedio realizado después de cada etapa. Alternativamente, cada una

de las etapas **S-1**, **S-2** y **S-3**, representadas en el esquema I anterior, se puede realizar de una manera mediante la cual no se realiza aislamiento de intermedios.

Un experto en la materia reconocerá que las etapas **S-1**, **S-2** y **S-3** implican la preparación de primero la sal de indazolio, después la sal de cesio, después la sal de sodio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)]. Además, la patente en Estados Unidos No. 8.362.266 describe la preparación de **fórmula I-b** directamente de la sal de indazolio. Un aspecto de la presente invención incluye la preparación de **fórmula I-a** como un intermedio den la síntesis de **fórmula I-b**. Se descubrió que el intermedio de sal de cesio es preferido sobre los métodos existentes porque la pureza del producto y el rendimiento global se pueden aumentar significativamente sobre métodos existentes. Sin querer estar vinculado a ninguna teoría particular, se cree que la razón para este aumento en rendimiento y pureza es debido a la dificultad en aislar la sal de indazolio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)]. Se ha encontrado que este material es muy difícil de aislar como sustancia pura libre de solvente, ya que el material filtrado posee agua y ácido clorhídrico residuales. Una ruta de degradación propuesta del material se muestra en el **esquema II** a continuación.

Esquema II



El **esquema II** muestra la preparación de compuesto **A** (*mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)], que resulta del desplazamiento de un átomo de cloro por una molécula de agua. La impureza, compuesto **A**, también se conoce como el complejo acuoso en la bibliografía. La producción de compuesto **A** se puede limitar por la exclusión de agua o manteniendo una concentración apreciablemente alta de iones cloruro. Por ejemplo, la **fórmula I-b** es mucho más estable en soluciones de cloruro de sodio o ácido clorhídrico que en agua pura. Un experto en la materia reconocerá que mantener una concentración de iones cloruro reduce las posibilidades de desplazamiento de un cloruro en el complejo de rutenio por agua. Además, se descubrió que la velocidad de acuación (o preparación del compuesto **A**) está muy aumentada en soluciones básicas.

Puesto que el producto de degradación primario es una reacción de acuación, en particular una que se acelera en soluciones acuosas básicas, sería preferible evitar etapas de reacción que implican disolver los compuestos de **fórmula I** en agua.

Una forma de realización proporciona un método para preparar la **fórmula I-b** preparando *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio, aislar el material por filtración, secar hasta que el material sea el 200%-500% en masa del rendimiento teórico para su uso en **S-2**. En otras formas de realización, la invención proporciona un método para preparar la **fórmula I-b** preparando *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio, aislar el material por filtración, secar hasta que el material sea el 245%-425% en masa del rendimiento teórico para su uso en **S-2**.

Otro aspecto es la introducción de la etapa **S-2** en la preparación de la **fórmula I-b**. La etapa **S-2** implica la preparación de intermedio de cesio, la **fórmula I-a**. Se encontró sorprendentemente que el intermedio de cesio era una etapa crítica de la presente invención porque se puede aislar por precipitación y filtración, se puede secar sin inducir degradación (como se observa con la sal de indazolio), y el polvo seco es estable en condiciones ambientales. Como se ha afirmado anteriormente, el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio se aísla por filtración como lo que se puede describir mejor como una sustancia de tipo barro. La estabilidad de este compuesto mejora por la presencia de ácido clorhídrico (iones cloruro). Lavar el filtrado con solventes polares (por ejemplo, metanol) también produce su degradación. Por tanto, la mejor práctica es preparar el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio, aislar por filtración y usar directamente para **S-2** sin retraso. **S-2** consiste en mezclar *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio y cloruro de cesio en un solvente adecuado. Los solventes adecuados pueden ser alcohol con de 1 a 5 átomos de carbono, un diol con 2-4 átomos de carbono, agua, cetonas con de 1 a 6 átomos de carbono, éteres cíclicos que contienen de 4 a 7 átomos de carbono, amidas con de 1 a 4 átomos de carbono, DMSO, sulfolano, ésteres con de 4 a 6 átomos de carbono, hidrocarburos clorados con 1 o 2 átomos de carbono, hidrocarburos aromáticos líquidos, nitrilos con 2-6 átomos de carbono, o mezcla de los mismos.

En un aspecto, **S-2** consiste en mezclar *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio y cloruro de cesio en etanol y metil etil cetona para proporcionar la **fórmula I-a**. El intermedio de sal de cesio se recogió filtrando la mezcla de reacción y lavando con etanol. En algunas formas de realización **S-2** utiliza 1-10 equivalentes de cloruro de cesio en la mezcla de reacción. En otras formas de realización **S-2** utiliza 2-4 equivalentes de cloruro de cesio en la mezcla de reacción. En la forma de realización preferida, la presente invención proporciona un método de preparar la **fórmula I-b**, en donde se usan 2,8 equivalentes de cloruro de cesio en la etapa **S-2**. Los solventes preferidos para **S-2** son mezclas que contienen etanol, y las más preferidas son mezclas etanol-metil etil cetona (MEK), debido a su capacidad para formar un solvato de MEK cristalino de la sal de cesio, que ayuda la purificación. El solvato de MEK obtenido en este caso después de ello se transforma fácilmente a una forma hidrato más estable de la sal de cesio, mediante un tratamiento con etanol acuoso.

Otro aspecto de la invención según la reivindicación 7 es la etapa **S-3** que convierte el intermedio de sal de cesio (**fórmula I-a**) a la sal de sodio deseada, **fórmula I-b**. Las metodologías previas para proporcionar la **fórmula I-b**, descritas en el presente documento, incluyen el tratamiento de una solución acuosa de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] con una sal de sodio en condiciones básicas. Como se ha descrito anteriormente, las condiciones acuosas, básicas producen una degradación al compuesto **A**. Para abordar esta cuestión, se desarrolló la etapa **S-3** que convierte la **fórmula I-a** a **fórmula I-b** mezclando con sulfato de sodio y aluminio ($\text{NaAl}(\text{SO}_4)_2$). Este intercambio de sal se realizó mezclando el sulfato de sodio y aluminio y la **fórmula I-a** en agua. La reacción se realiza a alta concentración de modo que la mezcla de reacción es heterogénea. La fuerza motriz para la reacción es las solubilidades diferenciales de sulfato de sodio y aluminio y sulfato de cesio y aluminio. El sulfato de sodio y aluminio es soluble en agua y proporciona una fuente de iones sodio. El sulfato de cesio y aluminio es insoluble en agua, y precipita fuera de la mezcla de reacción. Por tanto, el contraión cesio se elimina continuamente de la solución de reacción, produciendo la formación de la **fórmula I-b**. El sulfato de cesio y aluminio insoluble y la **fórmula I-b** se aíslan por filtración. La **fórmula I-b** se disuelve en un solvente adecuado y el sulfato de cesio y aluminio se elimina por filtración. Los solventes adecuados incluyen alcoholes de bajo peso molecular (con de 1 a 5 átomos de carbono), cetonas con de 3 a 6 átomos de carbono, nitrilos con de 2 a 5 átomos de carbono, ésteres con de 3 a 6 átomos de carbono, amidas con de 1 a 4 átomos de carbono, agua, dioles con de 1 a 4 átomos de carbono, DMSO, sulfolano, agua, o una combinación de los mismos. El solvente más preferido para la extracción sólida es acetonitrilo. La **fórmula I-b** se precipita después con un antisolvente adecuado y se recupera por filtración. Los antisolventes adecuados incluyen éteres con de 3 a 8 átomos de carbono, hidrocarburos cíclicos, acíclicos o aromáticos con de 5 a 8 átomos de carbono, hidrocarburos clorados con de 1 a 4 átomos de carbono, benzo trifluoruro, clorobenceno, carbonato de metilo. El antisolvente más preferido es metil tert-butil éter (MTBE).

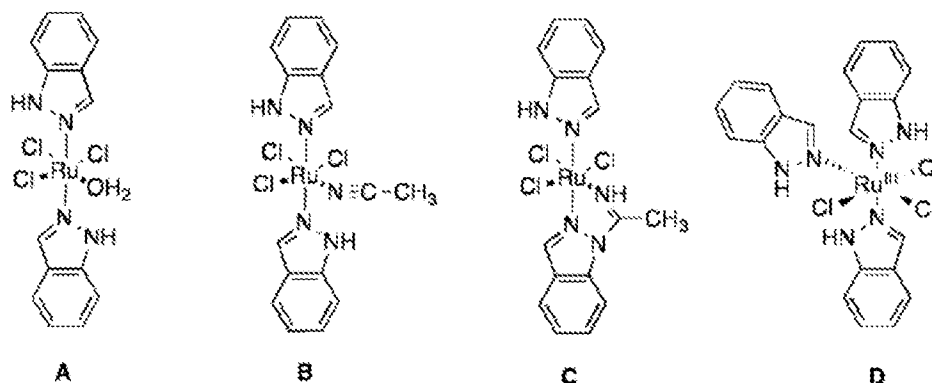
En algunas formas de realización, se proporciona un método para preparar la **fórmula I-b**, en donde la concentración de sulfato de sodio y aluminio en la etapa **S-3** es de 0,5 M a 1,65 M. En la forma de realización preferida, la concentración de sulfato de sodio y aluminio en la etapa **S-3** es 1,1M.

En algunas formas de realización, se proporciona un método para preparar la **fórmula I-b**, en donde la temperatura de reacción de la etapa **S-3** es de -5°C a 50°C. En la forma de realización preferida, la presente invención proporciona un método para preparar la **fórmula I-b**, en donde la temperatura de reacción de la etapa **S-3** es de 20°C a 25°C.

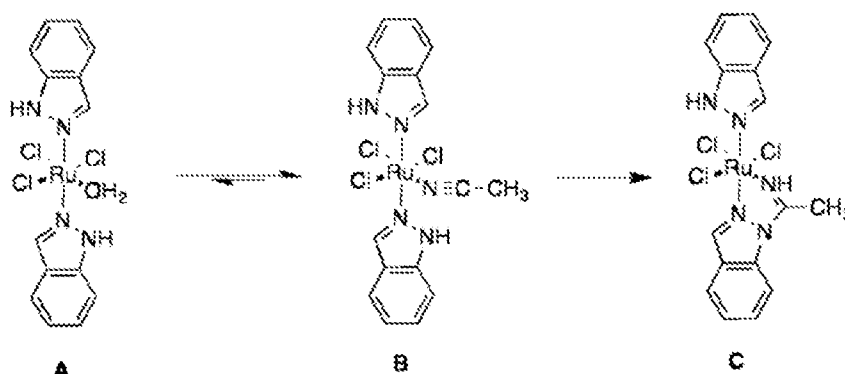
En algunas formas de realización, se proporciona un método para preparar la **fórmula I-b**, en donde el tiempo de reacción de la etapa **S-3** es de 12 horas a 168 horas. En la forma de realización preferida, la presente invención proporciona un método para preparar la **fórmula I-b**, en donde el tiempo de reacción de la etapa **S-3** es 30 horas.

Aún otro aspecto es una etapa de purificación en la que el cesio residual se elimina de la **fórmula I-b**. Este proceso implica agitar la **fórmula I-b** en presencia de tamices moleculares de 4Å con metanol, seguido por la precipitación con MTBE. Sin querer estar vinculado a ninguna teoría particular, se cree que los átomos de cesio tienen una afinidad por los poros de 4Å presentes en los tamices moleculares. Además, se descubrió que impurezas de solvente vestigiales se pueden eliminar del producto deseado agitando y lavando con una solución de MTBE que está saturada con agua. El uso de esta etapa de purificación final da la **fórmula I-b** de la mayor pureza.

La caracterización de los compuestos diana que contienen rutenio requirió múltiples técnicas. La espectroscopía de resonancia magnética nuclear de los compuestos de rutenio es difícil debido al estado de espín nuclear 5/2, por tanto, se emplearon métodos de caracterización alternativos, incluyendo HPLC y difracción de rayos x (cristalografía). Con el fin de caracterizar por completo la pureza de IT-139, se prepararon a propósito un número de compuestos que se cree son impurezas en la composición final de IT-139, es decir, los compuestos **A**, **C** y **D**. La identidad de las impurezas **A**, **C** y **D** se confirmó por difracción de rayos x. El compuesto **B** es un complejo inestable que se cree puede ser un intermedio en la formación del compuesto **C**. La estructura de los compuestos de impurezas es como sigue:



Una vez se prepararon e identificaron los compuestos de impurezas, sus tiempos de retención se analizaron por HPLC, de modo que la identidad y el porcentaje de impureza se pudo cuantificar rápidamente por análisis de HPLC. Durante este proceso, se observó que el complejo acuoso, compuesto **A**, produjo múltiples picos en el HPLC, y que el perfil cromatográfico cambiaría como función del tiempo. Se descubrió que el complejo acuoso estaba reaccionando con el acetonitrilo en la fase móvil para formar un aducto de acetonitrilo, compuesto **B**, y que este aducto posteriormente reaccionaba para formar un derivado covalente con acetonitrilo, compuesto **C**. (Véase Inorganic Chemistry, 2008, v47, p 6513-6523). Esta reacción se representa en el **esquema III** a continuación.



Los tiempos de retención relativos para cada compuesto se enumeran en la tabla siguiente (Tabla 1).

Tabla 1: Tiempos de retención relativos de HPLC para fórmula I-b, compuesto A, compuesto B, compuesto C, y compuesto D.

Complejo	Marcador de compuesto	RRT
$\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$	Compuesto A	1,10
$\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$	Compuesto C	1,07
$\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$	Compuesto B	1,28
$\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_3$	Compuesto D	1,59
$\text{Na}[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_4(\text{Hind})_2]$	Fórmula I-b	1,0

En algunas formas de realización, los tiempos de retención relativos (RRT) descritos en la tabla 1 se pueden definir por un intervalo. Por ejemplo, el RRT del compuesto **A** puede ser 1,09 +/- 0,02, el RRT del compuesto **B** puede ser 1,28 +/- 0,02, el RRT del compuesto **C** puede ser 1,06 +/- 0,03, y el RRT del compuesto **D** puede ser 1,59 +/- 0,03.

Puesto que el complejo acuoso (compuesto **A**) formará rápidamente los compuestos **B** y **C** en la fase móvil para el análisis de HPLC, se determina que la cantidad de compuesto **A** en la muestra enviada para análisis de HPLC es la suma de las áreas de pico correspondientes a los compuestos **A**, **B** y **C**. Un beneficio de la metodología sintética presentada en el presente documento sobre otras metodologías sintéticas es el alto nivel de pureza que se puede lograr por la presente invención como se muestra en la reivindicación 1. Las metodologías previas descritas anteriormente proporcionan un producto final (principio activo) que contiene el 4-8% de compuesto **A** como una impureza. Como comparación, menos del 2% de compuesto **A** es fácilmente alcanzable con la presente invención. La reivindicación 1 de la presente invención proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio y compuesto **A**, en donde no hay más del 1,0% en peso de compuesto **A** en la composición. Una forma de realización preferida proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-

indazol)rutenato (III)] de sodio y compuesto **A**, en donde no hay más del 0,5% en peso de compuesto **A** en la composición.

Otro beneficio de la presente invención sobre metodologías sintéticas previas es una reducción en las cantidades de impurezas producidas. Las metodologías sintéticas previas descritas anteriormente (véase, por ejemplo, patente en EE UU No. 8.362.266) con frecuencia se analizaron usando un método de HPLC (por ejemplo, método de HPLC #3, véase posteriormente) que no resolvía las impurezas (compuesto **A**, compuesto **B** y compuesto **C**) del principio activo (**Fórmula I-b**). La figura 4 ilustra el principio activo preparado usando otras metodologías sintéticas analizado usando el método de HPLC #3, mientras la figura 5 ilustra el mismo principio activo analizado usando un método analítico (método de HPLC #2, véase posteriormente) que resuelve la **fórmula I-b** de las impurezas compuesto **A**, compuesto **B** y compuesto **C**. Consecuentemente, el principio activo sintetizado usando otras metodologías describió una pureza de aproximadamente el 99,5% (analizado con el método de HPLC #3), sin embargo, el mismo material analizado usando el método de HPLC #2 demostró que la pureza era realmente aproximadamente alrededor del 76,4% de **fórmula I-b** contaminado con aproximadamente el 7,3% de compuesto **A**, aproximadamente el 11,0% de compuesto **B** y aproximadamente el 0,36% de compuesto **C**. La presente invención proporciona una composición que comprende **fórmula I-b** en una pureza de aproximadamente el 99,9% analizado con el método de HPLC #3. La presente invención proporciona una composición que comprende aproximadamente el 96,3% de **fórmula I-b**, aproximadamente el 1,1% de compuesto **A**, aproximadamente el 1,7% de compuesto **B** y aproximadamente el 0,2% de compuesto **C**. Los datos de HPLC se reproducen en la tabla siguiente (tabla 2).

Tabla 2: Análisis de fórmula I-b, compuesto A, compuesto B, y compuesto C preparados usando la presente invención y el método sintético previo

Método de síntesis	Método de análisis	Fórmula I-b (% de área)	Impurezas		
			Compuesto A (% de área)	Compuesto B (% de área)	Compuesto C (% de área)
Metodología previa	método de HPLC #3	99,5	n/a ¹	n/a ¹	n/a ¹
Metodología previa	método de HPLC #2	76,4	7,3	11,0	0,36
Presente invención	método de HPLC #3	99,9	n/a ¹	n/a ¹	n/a ¹
Presente invención	método de HPLC #2	96,3	1,1	1,7	0,2

¹ Impurezas no resultas de la fórmula I-b.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), y Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind).

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) y cesio.

La reivindicación 1 de la presente invención proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), y Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) y cesio,

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio no es menos que aproximadamente el 95,5 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O) no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN) no es más de aproximadamente el 2,5 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) no es más de aproximadamente el 2,0 por ciento en peso de la composición,

y el cesio no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización preferida proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, cesio y opcionalmente Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), y Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind):

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre aproximadamente el 95,5 y aproximadamente el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O) está entre aproximadamente el 0 y aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN) está entre aproximadamente el 0 y aproximadamente el 2,5 por ciento en peso de la composición,

el Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) está entre aproximadamente el 0 y aproximadamente el 2,0 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0 y aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización preferida proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio,

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre aproximadamente el 95,5 y aproximadamente el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 2,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 2,0 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,0001 y aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización preferida proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio,

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre aproximadamente el 95,5 y aproximadamente el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 0,75 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 1,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre aproximadamente el 0,001 y el 1,25 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,0001 y aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización preferida proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio,

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre aproximadamente el 95,5 y aproximadamente el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre aproximadamente el 0,001 y aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre aproximadamente el 0,001 y el 0,5 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,0001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

3.2. Producto farmacéutico

Formas de realización adicionales proporcionan métodos para preparar productos farmacéuticos que contienen la sal de sodio de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] (es decir, IT-139).

Un aspecto proporciona un método para preparar un producto farmacéutico liofilizado estéril que contiene *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio. Esta formulación sería adecuada para administración a un paciente. La formulación está compuesta de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, un tampón de pH, y un agente crioprotector. El método general para proporcionar dicha formulación comprende las etapas de preparar una solución tampón acuosa, preparar una solución crioprotectora acuosa, disolución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio en la solución tampón, adición de la solución crioprotectora, filtración estéril (por ejemplo, filtración aséptica), llenado de viales en condiciones estériles, y liofilización en condiciones estériles. Los tampones adecuados incluyen, pero no están limitados a: citrato, TRIS, acetato, EDTA, HEPES, tricina, e imidazol. El uso de un tampón fosfato es posible, pero no preferido. Un aspecto preferido es el uso de un tampón de ácido cítrico/citrato de sodio. Los agentes crioprotectores adecuados incluyen, pero no están limitados a: azúcares, monosacáridos, disacáridos, polialcoholes, manitol, sorbitol, sacarosa, trehalosa, dextrano y dextrosa. Un aspecto preferido es el uso de manitol como el agente crioprotector.

Como se ha descrito anteriormente, en el presente documento, el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio se puede degradar en agua al compuesto A (esquema II). Un experto en la materia reconocerá que limitar esta reacción de degradación sería ventajoso para obtener el producto con la mayor pureza. Se encontró que enfriar la

solución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio durante el proceso de formulación se encontró que reducía mucho la cantidad de compuesto **A** presente en el producto liofilizado. En un aspecto, la solución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio se enfría a 4°C durante el proceso de formulación. En otro aspecto de la invención, la solución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio se enfría a 2-8°C durante el proceso de formulación. En otro aspecto de la invención, la solución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio se enfría a 2-15°C durante el proceso de formulación.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, un tampón adecuado, y manitol. En algunas formas de realización, un tampón adecuado comprende un tampón citrato. Por ejemplo, en algunas formas de realización, un tampón citrato comprende citrato de sodio y ácido cítrico.

Una forma de realización una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, y manitol.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol y *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)].

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, y manitol, en donde el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es amorfo.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol y *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)], en donde el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es amorfo.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio, en donde el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es amorfo.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,4 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,4 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,2 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,40 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

la composición es un polvo liofilizado,

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,40 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,01 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

la composición es un polvo liofilizado,

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,3 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,1 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] está entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,3 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,1 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

la composición es un polvo liofilizado,

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es desde aproximadamente el 11,5 hasta aproximadamente el 14,0 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es desde aproximadamente el 43,9 hasta aproximadamente el 53,7 por ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es desde aproximadamente el 25,7 hasta aproximadamente el 23,1 por ciento en peso de la composición,

el manitol es desde aproximadamente el 11,5 hasta aproximadamente el 14,0 por ciento en peso de la composición,

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] es desde aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,3 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,1 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

la composición es un polvo liofilizado,

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es desde aproximadamente el 10,2 hasta aproximadamente el 15,3 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es desde aproximadamente el 39,0 hasta aproximadamente el 58,5 por ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es desde aproximadamente el 20,5 hasta aproximadamente el 30,8 por ciento en peso de la composición,

el manitol es desde aproximadamente el 10,2 hasta aproximadamente el 15,3 por ciento en peso de la composición,

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] es desde aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,3 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,1 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, citrato de sodio, ácido cítrico, manitol, *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] y una sal de cesio;

en donde:

la composición es un polvo liofilizado,

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es desde aproximadamente el 10,2 hasta aproximadamente el 15,3 por ciento en peso de la composición,

el *mer,trans*-[Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O)] es desde aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 0,3 por ciento en peso de la composición,

y el cesio está entre aproximadamente el 0,00001 y aproximadamente el 0,1 por ciento en peso de la composición.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, y citrato de sodio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el manitol es aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es aproximadamente el 0,187 por ciento en peso de la composición,

y el citrato de sodio es aproximadamente el 0,093 en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, y citrato de sodio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

y el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 0,25 en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, y citrato de sodio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición,

y el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 1 en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,187 por ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,093 por ciento en peso de la composición,

y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más del 0,5 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 0,25 en peso de la composición,

y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ es desde aproximadamente el 0 hasta aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 1 en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más del 0,5 por ciento en peso de la composición,

y el cesio no es más de 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es aproximadamente el 49,61 por ciento en peso de la composición,

el manitol es aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es aproximadamente el 0,187 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,093 por ciento en peso de la composición,

y el cesio es aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 0,5 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,

y el cesio es de aproximadamente el 0,1 hasta aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 1 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición,

y el cesio es de aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es aproximadamente el 49,61 por ciento en peso de la composición,

el manitol es aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es aproximadamente el 0,187 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,093 por ciento en peso de la composición,

5 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más del 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más del 1,25 por ciento en peso de la composición,

10 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más del 1,0 por ciento en peso de la composición

y el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

15 Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio;

en donde:

20 el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es aproximadamente el 46,61 por ciento en peso de la composición,

el manitol es aproximadamente el 49,86 por ciento en peso de la composición,

25 el ácido cítrico es aproximadamente el 0,187 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es aproximadamente el 0,093 por ciento en peso de la composición,

30 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más del 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más del 1,25 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más del 1,0 por ciento en peso de la composición

35 y el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

40 Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio;

en donde:

45 el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 40 hasta aproximadamente el 60 por ciento en peso de la composición,

50 el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,01 hasta aproximadamente el 0,5 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,

55 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición

60 y el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

65 Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 70 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,001 hasta aproximadamente el 1 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 1 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición

y el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

Una forma de realización proporciona una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio;

en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio es de aproximadamente el 20 hasta aproximadamente el 80 por ciento en peso de la composición,

el manitol es de aproximadamente el 20 hasta aproximadamente el 80 por ciento en peso de la composición,

el ácido cítrico es de aproximadamente el 0,0001 hasta aproximadamente el 5 ciento en peso de la composición,

el citrato de sodio es de aproximadamente el 0,00001 hasta aproximadamente el 5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición

y el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición. En algunas de tales formas de realización, la composición es un polvo liofilizado.

3.3 Formas posológicas unitarias

En algunas formas de realización, se proporciona una forma posológica unitaria que comprende una formulación o composición descrita en el presente documento. La expresión "forma posológica unitaria" como se usa en el presente documento se refiere a una unidad físicamente discreta de una formulación proporcionada apropiada para el sujeto que se va a tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de la formulación proporcionada lo decidirá el médico dentro del ámbito del juicio médico racional. El nivel de dosis eficaz específico para cualquier sujeto u organismo particular dependerá de una variedad de factores incluyendo el trastorno que se trata y la gravedad del trastorno; la actividad del agente activo específico empleado; la formulación específica empleada; la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del sujeto; el tiempo de administración y la velocidad de excreción del agente activo específico empleado; la duración del tratamiento; fármacos y/o terapias adicionales usadas en combinación o coincidentes con compuesto(s) específico(s) empleado(s), y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

Las composiciones se pueden proporcionar como una forma posológica unitaria. En algunas formas de realización, un vial que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio es una forma posológica unitaria.

En algunas formas de realización, un vial que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, y cesio se proporciona como una forma posológica unitaria.

En algunas formas de realización, un vial que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ y cesio se proporciona como una forma posológica unitaria.

5 Además, también abarcados por la divulgación son paquetes y/o kits farmacéuticos que comprenden composiciones descritas en el presente documento, o una forma posológica unitaria que comprende una composición proporcionada, y un envase (por ejemplo, un embalaje en lámina metálica o plástico, u otro envase adecuado). Opcionalmente, se proporcionan además instrucciones para el uso en tales kits.

10 En algunas formas de realización, las composiciones se pueden proporcionar como una unidad posológica unitaria. En efecto, un vial que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio es una forma posológica unitaria representada en la tabla 3

Tabla 3: Componentes farmacéuticos

Componente	Función	% en peso	Cantidad/vial
<i>trans</i> -[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio	Activo	47,5	100 mg
Manitol	Crioprotector	47,5	100 mg
Ácido cítrico	Componente de tampón	3,37	7,1 mg
Citrato de sodio	Componente de tampón	1,63	3,4 mg

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 3 además comprenden cesio;

en donde:

20 el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición.

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 3 además comprenden cesio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$;

en donde:

el cesio no es más de aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,
 y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica se selecciona de esas en la tabla 4:

Tabla 4: Intervalos de componentes farmacéuticos

Componente	Función	Intervalo de % en peso	Cantidad/vial
<i>trans</i> -[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio	Activo	42,75-52,25	90-110 mg
Manitol	Crioprotector	42,75-52,25	90-110 mg
Ácido cítrico	Componente de tampón	3,033-3,707	6,39-7,81 mg
Citrato de sodio	Componente de tampón	1,467-1,793	3,06-3,74 mg

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 4 además comprenden cesio;

en donde:

40 el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición.

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 4 además comprenden cesio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$;

en donde:

el cesio no es más de aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,
 y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición.

En algunas formas de realización, las composiciones se pueden proporcionar como una forma posológica unitaria. En efecto, un vial que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, manitol, ácido cítrico, citrato de sodio es una forma posológica unitaria representada en la tabla 5:

5 **Tabla 5: Componentes farmacéuticos**

Componente	Función	% en peso	Cantidad/vial
<i>trans</i> -[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio	Activo	49,86	300 mg
Manitol	Crioprotector	49,86	300 mg
Ácido cítrico	Componente de tampón	0,188	1,13 mg
Citrato de sodio	Componente de tampón	0,092	0,55 mg

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 5 además comprenden cesio;

10 en donde:

el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición.

15 En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 5 además comprenden cesio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$;

en donde:

20 el cesio no es más de aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,
 y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición.

En algunas formas de realización, la composición farmacéutica se selecciona de esas en la tabla 6:

25 **Tabla 6: Componentes farmacéuticos**

Componente	Función	Intervalo de % en peso	Cantidad/vial
<i>trans</i> -[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio	Activo	44,87-54,85	270-330 mg
Manitol	Crioprotector	44,87-54,85	270-330 mg
Ácido cítrico	Componente de tampón	0,169-0,207	1,02-1,24 mg
Citrato de sodio	Componente de tampón	0,0828-0,1012	0,495-0,605 mg

En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 6 además comprenden cesio;

30 en donde:

el cesio no es más del 0,25 por ciento en peso de la composición.

35 En algunas formas de realización, los componentes farmacéuticos descritos en la tabla 6 además comprenden cesio, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$;

en donde:

40 el cesio no es más de aproximadamente el 0,25 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más de aproximadamente el 0,5 por ciento en peso de la composición,
 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más de aproximadamente el 1,25 por ciento en peso de la composición,
 y el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más de aproximadamente el 1,0 por ciento en peso de la composición.

45 En algunas formas de realización los componentes son como se describe en cualquiera de las tablas 3-6, y además comprenden cesio en una cantidad de aproximadamente el 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,010, 0,015, 0,020, 0,025, 0,030, 0,035, 0,040, 0,045, 0,050, 0,055, 0,060, 0,065, 0,070, 0,075, 0,080, 0,085, 0,090, 0,095, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50 por ciento en peso de la composición.

50 **3.4. La composición para uso en métodos de tratamiento**

En algunas formas de realización, la presente divulgación se refiere al uso de las composiciones descritas en el presente documento en un método para tratar cáncer en un sujeto en necesidad de ello que comprende administrar

al sujeto una composición proporcionada de IT-139 descrita anteriormente y en el presente documento. En algunas de tales formas de realización, el sujeto es un paciente humano.

5 En algunas formas de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un sujeto en necesidad de ello que comprende administrar una composición proporcionada de IT-139 descrita anteriormente y en el presente documento en combinación con un agente de quimioterapia.

10 En algunas formas de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un sujeto en necesidad de ello que comprende administrar una composición proporcionada de IT-139 descrita anteriormente y en el presente documento en combinación con un agente de inmuno-oncología.

15 Según otra forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar un cáncer seleccionado de mama, ovario, cuello uterino, próstata, testículos, aparato genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratoacantoma, pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma indiferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado y conductos biliares, carcinoma de riñón, trastornos mieloides, trastornos linfoides, de Hodgkin, de células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labio, lengua, boca, faringe, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y sistema nervioso central, y leucemia, que
20 comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Según otra forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar un cáncer seleccionado de mama, ovario, cuello uterino, próstata, testículos, aparato genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratoacantoma, pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma indiferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado y conductos biliares, carcinoma de riñón, trastornos mieloides, trastornos linfoides, de Hodgkin, de células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labio, lengua, boca, faringe, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y sistema nervioso central, y leucemia, que
30 comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un agente de quimioterapia.

35 Según otra forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar un cáncer seleccionado de mama, ovario, cuello uterino, próstata, testículos, aparato genitourinario, esófago, laringe, glioblastoma, neuroblastoma, estómago, piel, queratoacantoma, pulmón, carcinoma epidermoide, carcinoma de células grandes, carcinoma de células pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, hueso, colon, adenoma, páncreas, adenocarcinoma, tiroides, carcinoma folicular, carcinoma indodiferenciado, carcinoma papilar, seminoma, melanoma, sarcoma, carcinoma de vejiga, carcinoma de hígado y conductos biliares, carcinoma de riñón, trastornos mieloides, trastornos linfoides, de Hodgkin, de células pilosas, cavidad bucal y faringe (oral), labio, lengua, boca, faringe, intestino delgado, colon-recto, intestino grueso, recto, cerebro y sistema nervioso central, y leucemia, que
40 comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un agente de inmuno-oncología.

45 Otra forma de realización proporciona composiciones como se describen en el presente documento para uso en un método para tratar cáncer reduciendo la cantidad de GRP78 en células cancerosas después de la administración de IT-139.

50 Según otra forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer reduciendo la cantidad de GRP78 en células cancerosas después de la administración de IT-139 en combinación con un agente quimioterapéutico, en donde la administración de IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, produce una reducción en la cantidad de GRP78 en comparación con la administración del agente de quimioterapia.

55 Según otra forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer reduciendo la cantidad de GRP78 en células cancerosas después de la administración de IT-139 en combinación con un agente de inmuno-oncología, en donde la administración de IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, produce una reducción en la cantidad de GRP78 en comparación con la administración del agente de inmuno-oncología solo.

60 El orden de administración de los agentes terapéuticos se debe considerar cuidadosamente. Sin querer estar vinculado a ninguna teoría particular, el mecanismo de acción y disminución de GRP78 dicta que cualquier agente quimioterapéutico se debe administrar primero, seguido por IT-139 para el máximo beneficio terapéutico. Como se ha manifestado anteriormente, el tratamiento con una gama de agentes quimioterapéuticos produce un aumento de estrés en el ER, que induce la producción de GRP78. Este proceso es un mecanismo de supervivencia celular. La
65 administración de IT-139 disminuye el nivel de GPR78 inducida por estrés, que elimina una ruta de supervivencia celular. El resultado final es muerte de células cancerosas aumentada y efecto antitumoral aumentado.

Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un paciente en necesidad de ello, que comprende las etapas de:

- 5 1) administrar al paciente un agente de quimioterapia;
- 2) posteriormente administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, al paciente; y
- 3) opcionalmente repetir las etapas 1 y 2.

10 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra 1 día después del agente de quimioterapia. En otras formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra 1 semana después del agente de quimioterapia. En aun otras formas de realización, IT-139 se administra a un paciente entre 1 y siete días después del agente de quimioterapia.

15 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente con el agente de quimioterapia. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, y el agente de quimioterapia se administran en aproximadamente 20-28 horas uno de otro, o en aproximadamente 22-26 horas uno de otro, o en aproximadamente 24 horas uno de otro.

20 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra antes del agente de quimioterapia. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 8-16 horas antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 10-14 horas antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 12 horas antes del agente de quimioterapia.

25 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 20-28 antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 22-26 horas antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 24 horas antes del agente de quimioterapia.

30 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 44-52 antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 46-50 horas antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 48 horas antes del agente de quimioterapia.

35 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 64-80 antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 70-74 horas antes del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 72 horas antes del agente de quimioterapia.

40 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra antes del agente de quimioterapia. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 8-16 horas después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 10-14 horas después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 12 horas después del agente de quimioterapia.

45 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 20-28 después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 22-26 horas después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 24 horas después del agente de quimioterapia.

50 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 44-52 después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 46-50 horas después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 48 horas después del agente de quimioterapia.

55 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 64-80 después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 70-74 horas después del agente de quimioterapia, o al menos aproximadamente 72 horas después del agente de quimioterapia.

En ciertas formas de realización, el agente quimioterapéutico se selecciona del grupo que consiste en gemcitabina, nanopartícula de albúmina paclitaxel, paclitaxel, docetaxel, cabazitaxel, oxaliplatino, cisplatino, carboplatino, doxorubicina, daunorubicina, sorafenib, everolimus y vemurafenib. En ciertas formas de realización, el agente quimioterapéutico es gemcitabina.

60 Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tatar cáncer pancreático en un paciente en necesidad de ello, que comprende las etapas de:

- 1) administrar gemcitabina y nanopartícula de albúmina paclitaxel;
- 2) posteriormente administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- 65 3) opcionalmente repetir las etapas 1 y 2.

- En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente con gemcitabina. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, y gemcitabina se administran en aproximadamente 20-28 horas uno de otro, o en aproximadamente 22-26 horas uno de otro, o en aproximadamente 24 horas uno de otro.
- 5 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra antes de gemcitabina. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 8-16 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 10-14 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 12 horas antes de gemcitabina.
- 10 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 20-28 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 22-26 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 24 horas antes de gemcitabina.
- 15 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 44-52 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 46-50 horas antes de gemcitabina, o al menos aproximadamente 48 horas antes de gemcitabina.
- 20 Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un paciente en necesidad de ello, que comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un agente de inmuno-oncología. En ciertas formas de realización, el agente de inmuno-oncología se administra al paciente antes de la administración de IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra simultáneamente con el agente de inmuno-oncología. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, y el agente de inmuno-oncología se administran en aproximadamente 20-28 horas uno de otro, o en aproximadamente 22-26 horas uno de otro, o en aproximadamente 24 horas uno de otro.
- 30 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra antes del agente de inmuno-oncología. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 8-16 horas antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 10-14 horas antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 12 horas antes del agente de inmuno-oncología.
- 35 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 20-28 antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 22-26 horas antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 24 horas antes del agente de inmuno-oncología.
- 40 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 44-52 antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 46-50 horas antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 48 horas antes del agente de inmuno-oncología.
- 45 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 64-80 antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 70-74 horas antes del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 72 horas antes del agente de inmuno-oncología.
- 50 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra después del agente de inmuno-oncología. En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 8-16 horas después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 10-14 horas después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 12 horas después del agente de inmuno-oncología.
- 55 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 20-28 después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 22-26 horas después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 24 horas después del agente de inmuno-oncología.
- 60 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 44-52 después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 46-50 horas después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 48 horas después del agente de inmuno-oncología.
- 65 En ciertas formas de realización, el IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra al menos aproximadamente 64-80 después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 70-74

horas después del agente de inmuno-oncología, o al menos aproximadamente 72 horas después del agente de inmuno-oncología.

5 En ciertas formas de realización, el agente de inmuno-oncología se selecciona del grupo que consiste en citoquinas, inhibidores del punto de control y anticuerpos diferentes de anticuerpos de PD-1. En ciertas formas de realización, el agente de inmuno-oncología se selecciona del grupo que consiste en interferón, interleuquina, anticuerpos contra PD-L1, alentuzumab, ipilimumab, ofatumumab, atezolizumab y rituximab.

10 Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un paciente en necesidad de ello, que comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo contra PD-1. En ciertas formas de realización, el anticuerpo anti PD-1 se administra antes de la administración del IT-139, o una formulación farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un paciente en necesidad de ello, que comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un anticuerpo contra PD-L1. En ciertas formas de realización, el anticuerpo anti PD-L1 se administra antes de la administración del IT-139, o una formulación farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Según una forma de realización, las composiciones descritas en el presente documento son para uso en un método para tratar cáncer en un paciente en necesidad de ello, que comprende administrar IT-139, o una composición farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un agente de inmuno-oncología diferente de un anticuerpo contra PD-1. En ciertas formas de realización, el agente de inmuno-oncología diferente de un anticuerpo
25 contra PD-1 se administra antes de la administración del IT-139, o una formulación farmacéuticamente aceptable del mismo.

Ejemplificación

30 Con el fin de que la invención descrita en el presente documento se entienda más completamente, se exponen los siguientes ejemplos. Se entenderá que estos ejemplos son para fines ilustrativos solo y no se deben interpretar como que limitan esta invención en modo alguno.

Métodos analíticos.

35 Se utilizaron los siguientes métodos analíticos para caracterizar las composiciones de la presente invención.

Método de HPLC 1. Se determinaron el ensayo y la identidad de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio por cromatografía líquida de alta presión con detección UV a 292 nm. El producto farmacéutico IT-139 se disolvió en agua a una concentración de 1 mg/ml, y se inyectaron 10 µl en una columna de HPLC Agilent Zorbax SB-C18 (3 µm, 4,6 x 150 mm). La fase móvil A consistía en ácido trifluoroacético al 0,1% en agua y la fase móvil B consistía en ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo. La separación se logró por flujo en gradiente a 1,0 ml/minuto de modo que la fase móvil A constituye desde el 90% hasta el 10% desde el tiempo cero hasta 12 minutos, con la fase móvil B que constituye del 10% al 90% durante 12 minutos. El gradiente se invirtió después desde el 10% de fase móvil A y el 90% de fase móvil B al 90% de A y el 10% de B desde 12 minutos a 13 minutos. Esto siguió hasta el final de la carrera a los 15 minutos. El tiempo de retención del analito fue de 7,7 minutos. La temperatura de la muestra se mantuvo a 5°C, y la temperatura de la columna se mantuvo a 25°C.

Método de HPLC 2. Se usan dos métodos de HPLC porque dos impurezas diferentes coeluyen usando el método de HPLC 1. Las sustancias relacionadas para el producto farmacéutico IT-139 se determinaron por cromatografía líquida de alta presión con detección UV a 292 nm. El producto farmacéutico IT-139 se disolvió en agua a una concentración de 1 mg/ml, y se inyectaron 10 µl en una columna de HPLC Agilent Zorbax SB-C18 (3 µm, 4,6 x 150 mm). La fase móvil A consistía en ácido trifluoroacético al 0,1% en agua y la fase móvil B consistía en ácido trifluoroacético al 0,1% en acetonitrilo. La separación se logró por flujo en gradiente a 1,0 ml/minuto de modo que la fase móvil A constituye desde el 90% hasta el 10% desde el tiempo cero hasta 15 minutos, con la fase móvil B que constituye del 10% al 90% durante 15 minutos. El gradiente se mantuvo al 10% de A y el 90% de B desde 15 minutos hasta 19,9 minutos. El gradiente se invirtió después al 90% de A y el 10% de B desde 19,9 minutos hasta 20 minutos, y se mantuvo hasta el final de la carrera a los 26 minutos. La temperatura de la muestra se mantuvo a 5°C, y la temperatura de la columna se mantuvo a 25°C.

Método de HPLC 3. El análisis que no resuelve la fórmula I-b del compuesto A, compuesto B, y compuesto C usa cromatografía líquida de alta presión con detección UV a 292 nm. El producto farmacéutico IT-139 se disolvió en agua a una concentración de 0,5 mg/ml, y se inyectaron 10 µl en una columna de HPLC Phenomenx Luna, Fenil-Hexil (150 x 3 mm x 3 µm). La fase móvil consistía en metanol al 25% (volumen/volumen) en tampón de acetato de amonio 20 mM con ácido acético 4 mM. La separación se logró por flujo isocrático a 1,0 ml/min durante un tiempo de carrera total de 27 minutos con la temperatura de la columna mantenida a 25°C.

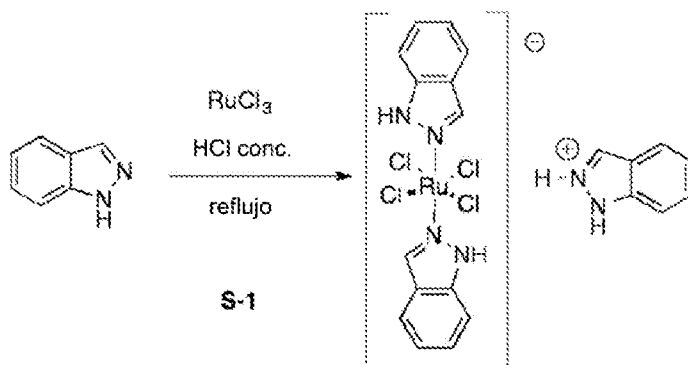
Análisis elemental. Galbraith Laboratories (Knoxville, TN) realizó todas las medidas de análisis elemental. El análisis de carbono, hidrógeno, y nitrógeno se realizó usando el procedimiento de operación estándar ME-14, que requiere 1-5 mg pesados en una cápsula de estaño seguido por combustión a 920-980°C en un analizador PerkinElmer 2400 Series II CHNS/O. El análisis de sodio y rutenio se realizó por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplada inductivamente usando el procedimiento de operación estándar ME-70 e instrumento ICP-OES Optima 5300. El análisis de cesio se realizó por espectrometría de emisión atómica de plasma acoplada inductivamente usando el procedimiento de operación estándar ME-30.

Difracción de rayos X. Los datos de rayos X se recogieron en un difractómetro de cristal único Bruker D8 Ventura con detector PHOTON 100 CMOS, fuente μ S de cobre MX y dispositivo de baja temperatura Oxford Cryostream Plus o un difractómetro de cristal único Bruker Smart Apex2 con radiación de cobre con recogida de datos a temperatura ambiente.

Ejemplo 1 – Purificación de cloruro de rutenio

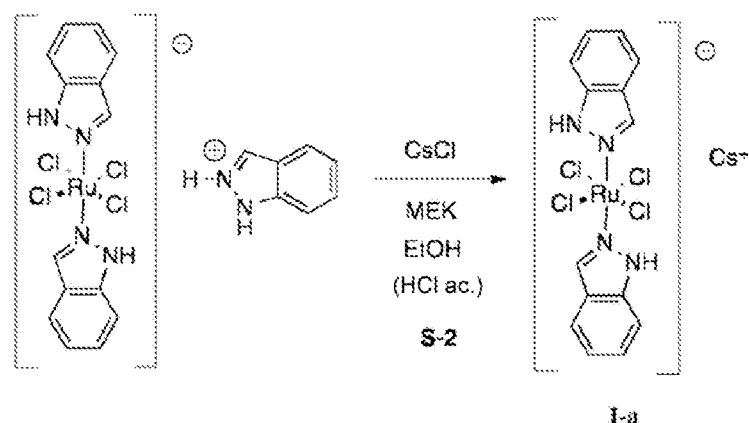
Se combinó $\text{RuCl}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (100,0 g) con HCl conc. 600 ml y etanol al 99% 600 ml. La mezcla se destiló en aire a presión normal, para reducir el volumen de la mezcla por debajo de 400 ml. La solución de cloruro de rutenio concentrada resultante que permanecía en el matraz de destilación se enfrió después a temperatura ambiente, se filtró a través de un embudo Buchner de vidrio de porosidad media, el embudo Buchner y el matraz se enjuagaron con HCl conc. y los filtrados combinados se diluyeron con HCl conc. adicional hasta aproximadamente 500 ml de volumen total.

Ejemplo 2 – Preparación de la sal de indazolio



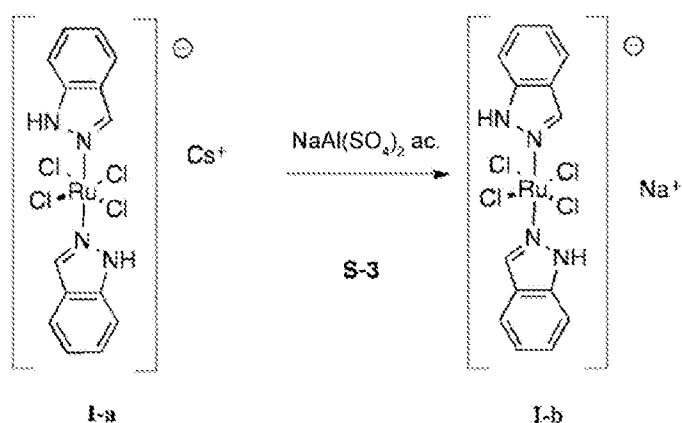
Se combinaron 300,0 g de 1H-indazol (2,54 mol; 6,64 eq.) con agua (800 ml). Se añadió HCl concentrado (4 l), la mezcla se agitó hasta que se disolvió (20 min). Esta solución de indazol se cargó en un reactor de vidrio y teflón agitado enchaquetado de 15 l, con un agitador en forma de pala eficaz grande, termosonda interna, condensador de reflujo enfriado con aire rematado con un tubo de salida de gas (para la liberación del gas HCl) y embudo de adición de tamaño de 0,5 l con un tallo extendido con tubería de polietileno. Se combinaron 4,0 l adicionales de HCl conc. con la solución de indazol en el reactor, y la mezcla se agitó y calentó hasta que la temperatura interna alcanzó 90°C, la velocidad de agitación se subió entonces, a 250 rpm, y la temperatura se mantuvo a 90°C durante al menos 30 min. La solución de RuCl_3 del ejemplo 1 se añadió después cuidadosamente gota a gota durante un período de aproximadamente 5 horas, desde el embudo con el tallo extendido con tubería de polietileno, mientras se mantenía la agitación rápida a 250 rpm. Después de completar la adición, el embudo de adición se enjuagó con una pequeña cantidad de HCl concentrado (2 x 50 ml) y los enjuagues también se añadieron al reactor. El volumen combinado de la mezcla de reacción era 9,5 l; el producto precipitó en forma de copos microcristalinos tostados. Después de completar la adición, la reacción se agitó a 250 rpm a 90°C durante 10 horas adicionales. La mezcla de reacción se enfrió a 25°C con agitación, se transfirió a través de la válvula de drenaje inferior a un cubo de plástico de polietileno. El producto precipitado se recogió por filtración en un embudo de filtro de vidrio de porosidad media de 3 l. El reactor y la pala agitadora se lavaron con HCl 2 M, los lavados se añadieron al material en el embudo filtro. Los sólidos obtenidos se enjuagaron exhaustivamente con HCl 2 M adicional, aproximadamente 2 l, y después se secaron parcialmente por succión durante la noche. Esto proporcionó 598 g de sal de indazolio cruda, húmeda con HCl 2 M residual, como un sólido pegajoso marrón. Análisis de HPLC: Método 1: 97,7%, Método 2: 98,0%.

Ejemplo 3 – Preparación de la sal de cesio



Un matraz de boca ancha de 10 l se cargó con la sal de indazolio húmeda del ejemplo 2 y se añadió CsCl en polvo sólido 180,0 g (1,07 mol; 2,8 eq.). Etanol no desnaturalizado puro el 99% (1,8 l) se combinó con MEK (2,0 l) se combinó con la mezcla de la sal de indazolio y CsCl en un matraz de 10 l. La mezcla se agitó mecánicamente usando una pala de Teflón ancha, a 22°C. Al principio durante 5 min a 200 rpm seguido por agitación a alta velocidad durante 2 horas a 700 rpm. La suspensión naranja resultante se recogió por filtración usando un embudo Buchner de vidrio de porosidad media (3 l), los sólidos se lavaron con etanol al 99% exhaustivamente y el material de la torta de filtro se secó parcialmente por succión, durante aproximadamente 1 hora. El material obtenido, que contenía la sal de cesio en forma de un solvato de MEK de color naranja entremezclado con el CsCl sobrante, se transfirió a un vaso de precipitado de 4 l grande. Se añadió un litro de una mezcla de etanol con agua 2:1 (v/v) al sólido de la sal de Cs cruda en un vaso de precipitado. La suspensión de agitó mecánicamente a 350 rpm durante 15 minutos en un vaso de precipitado abierto: durante este tiempo el color naranja brillante de la suspensión del solvato de MEK se volvió a un color rojo-marrón canela de hidrato. Los sólidos se recogieron por filtración usando el mismo embudo Buchner usado previamente para filtrar la sal de Cs. Los sólidos obtenidos se lavaron exhaustivamente con etanol al 99%, aproximadamente 1 litro. El material se secó por succión y después al vacío durante 14 horas (durante la noche). El rendimiento fue 226,90 g (0,350 mol) de sólido rojo-marrón canela, análisis de HPLC: no se detectó indazol libre, Método 1: 98,6%, Método 2: 99,0% puro. Resultados del análisis elemental determinado: Cs: 21,6%, Ru: 16,6%, Cl: 21,96%. Valores teóricos para el dihidrato: Cs: 20,5%, Ru: 15,6%, Cl: 21,88%. Valores teóricos para el monohidrato: Cs: 21,1%, Ru: 16,0%, Cl: 22,51%. El análisis de difracción de rayos X de un monocristal de una muestra secada al vacío indicaba aproximadamente el 50% de densidad de ocupación de las dos moléculas de agua de hidrato en la estructura cristalina.

Ejemplo 4 – Preparación de la sal de sodio



Se añadió gradualmente Al₂(SO₄)₃·18H₂O sólido 1000 g (3,0 moles de Al) a agua D.I. agitada (2,0 l) seguido por Na₂SO₄ sólido 213,0 g (3,0 moles de Na). La mezcla se agitó hasta la disolución completa (aproximadamente 30 min), el volumen de solución total se ajustó a 2,7 l de volumen por adición de agua D.I. La solución 1,1 M resultante se filtró antes del uso a través de una membrana SteriCup Durapore de 0,45 micrómetros fina, para obtener 2,7 l de solución 1,1 M de NaAl(SO₄)₂. Esta solución 1,1 M de NaAl(SO₄)₂ se combinó con 226,9 g de la sal de Cs (0,350 mol) del ejemplo 5, en un vaso de precipitado de 4 l. Se añadieron 6,0 g de CsCl en polvo sólido a la mezcla, para sembrar la formación de alumbre de Cs. La mezcla se agitó magnéticamente con una gran barra de agitación de rodillo recubierto de Teflón durante 30 horas a temperatura ambiente. Durante este tiempo, la suspensión roja-marrón de la sal de cesio se convirtió a una suspensión negra marrón café de IT-139 entremezclado con los cristales de tipo sal blanca finos de

las sales de cesio y aluminio. Los sólidos se recogieron por filtración, usando un Buchner de porosidad media (3 l), el matraz de reacción y los sólidos se lavaron exhaustivamente con Na₂SO₄ acuoso saturado (= 1,5 M), aproximadamente 1,5 l total (en tres porciones, 3 x 0,5 l, hasta que los filtrados fueron incoloros), y los sólidos se secaron por succión en un embudo Buchner, seguido por secado al vacío durante al menos 1 día. Los sólidos exhaustivamente secados se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de boca ancha de 2 l con 700 ml de acetonitrilo. La mezcla se agitó mecánicamente durante 15 min. La suspensión naranja resultante se filtró, las sales de sulfato insolubles se eliminaron de la mezcla en un embudo Buchner de porosidad media. La torta de sal se enjuagó con 300 ml adicionales de acetonitrilo (3 x 100 ml, hasta ser incoloro) y después se desechó. Los filtrados naranjas combinados en un matraz redondo de 5 l se diluyeron con 4 l de MTBE (añadido en porciones de 1 l, con agitación suave), el matraz de puso a un lado durante 30 min para completar la precipitación. La sal de Na cruda precipitada se recogió por filtración, se enjuagó exhaustivamente con MTBE (2 x 0,5 l) y después se secó por succión y al vacío. El rendimiento fue 190,4 g (100% de la teoría, calculado como el dihidrato) de un producto crudo como un sólido marrón esponjoso, que retiene MTBE en forma de solvato, pureza por HPLC 98,4% por el método 1. El análisis elemental demuestra que este producto contiene el 0,1-0,8% en peso de cesio. La estructura del producto se confirmó por difracción de rayos x.

Ejemplo 5 – Eliminación del cesio residual

Se transfirieron 190,4 g de material del ejemplo 4 a un matraz seco de 10 l. Se añadió igual peso de polvo de tamices moleculares de 4A (191 g) activados [Aldrich 688363-1KG, aluminosilicato de sodio, "SYLOSIV A4" fabricado por Grace Davidson]. Se añadió metil etil cetona (4,2 l) al matraz y la mezcla se agitó mecánicamente. Se añadió gradualmente metanol (600 ml) a la suspensión agitada durante un periodo de 5 min. La agitación (800 rpm) siguió durante 30 min, en este momento casi todos los terrones de material marrón oscuro se disolvieron. La suspensión naranja resultante se filtró a través de disco de filtro GF-B de fibra de vidrio Whatman colocado encima de embudos de porosidad Buchner de vidrio de porosidad fina. Los tamices moleculares gastados se enjuagaron con MEK adicional 0,4 l (2 x 200 ml) y se desecharon. Los filtrados combinados se precipitaron por la adición gradual de MBTE 10 l con agitación mecánica. La agitación se apagó y la mezcla se puso a un lado para precipitar durante 30 min. El producto precipitado se recogió por filtración (embudo Buchner de 3 l), se enjuagó exhaustivamente con MTBE 1 l (2 x 0,5 l) y se secó por succión, durante aproximadamente 2 horas, hasta que el embudo Buchner ya no estaba frío. Esto proporcionó 184 g de sal de sodio purificada. Para eliminar los restos de solvente, el material purificado se trató con MTBE húmedo. Se combinaron 184 g de la sal de sodio purificada con 3,3 l de MTBE húmedo (MTBE saturado con agua), en un Erlenmeyer de boca ancha de 5 l y se agitó mecánicamente (200 rpm) durante 40 min. Los sólidos marrones resultantes se recogieron por filtración. Los sólidos se enjuagaron con MTBE húmedo, se secaron por succión y después se secaron exhaustivamente al vacío durante la noche (15 horas). El rendimiento fue 176,11 g de un sólido pesado granular marrón café, puro al 98,7% por HPLC (Método 1). Esto corresponde a un rendimiento global del 85% a partir de RuCl₃·xH₂O (empezando con el ejemplo 1). El análisis elemental determinó que había de 35 a 750 ppm de cesio restante.

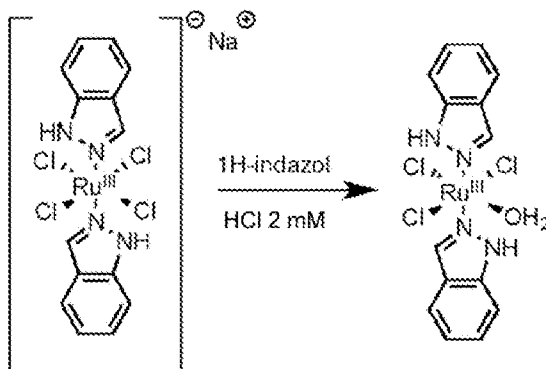
Ejemplo 6 – Estudios de estabilidad en solución

El compuesto del ejemplo 5 se preparó a temperatura ambiente (20°C) usando soluciones a temperatura ambiente, y refrigerado (2-8°C) usando soluciones frías (2-8°C), para un volumen total de 500 ml de cada uno. Se preparó solución de ácido cítrico disolviendo 19,2 gramos de ácido cítrico en 1 l de agua. Se preparó solución de citrato de sodio disolviendo 29,4 gramos de citrato de sodio en 1 l de agua. La solución de citrato de sodio se añadió a la solución de ácido cítrico hasta que el pH aumentó de 2,0 a 3,4. Se preparó una solución de manitol disolviendo 13,3 g en 200 ml de agua. Se prepararon soluciones de fórmula I-b añadiendo 16,6 ml de tampón citrato a 400 ml de agua. Se añadieron 3,33 g de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio a la solución y se agitó durante 10 minutos. Se añadieron 50 ml de la solución de manitol seguido por 33,4 ml de agua para un volumen final de 500 ml de solución a granel de IT-139. La muestra de temperatura ambiente (18-22°C) se agitó usando una placa agitadora magnética en la poyata del laboratorio, y la muestra refrigerada se agitó una placa agitadora magnética en una nevera (2-8°C). Se tomaron alícuotas de 100 µl de cada muestra inmediatamente tras la disolución (T=0) y en puntos de tiempo de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 18, 24, 32, y 48 horas. Cada muestra se añadió a 1,9 ml de metanol en un vial de HPLC y se mezcló con el vórtex. La pureza del *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio en la solución a granel almacenada a temperatura ambiente (18-22°C) disminuyó del 96,8% al 12,1% después de 18 horas. La pureza del *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio en la solución a granel almacenada refrigerada (2-8°C) disminuyó del 97,05% al 95,4% después de 18 horas, y al 89,8% después de 48 horas. La figura 1 demuestra el porcentaje de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio a temperatura ambiente (18-22°C) durante 18 horas y refrigerado (2-8°C) durante 48 horas. La tabla 7 muestra el porcentaje de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio (RT 7,7 min) e impurezas (RT 0,7, 1,9, y total de RRT inespecífico) para cada muestra basado en el área de pico de HPLC. Los cromatogramas para las muestras de IT-139 almacenadas refrigeradas o a temperatura ambiente en el punto de tiempo de 18 horas se muestran en la figura 2 y la figura 3, respectivamente.

Tabla 7: Análisis de HPLC de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio almacenado a 20°C y a 4°C analizado a lo largo del tiempo.

Temp. de la muestra	Tiempo (h)	% de área de pico a RT 7,7 min	% de área de pico a RRT 1,09	% de área de pico a RRT 1,28	% de área de pico inespecífico
20°C	0	98,6	0,88	2,26	< 0,1
20°C	0,5	98,6	1,08	2,07	< 0,1
20°C	1	96,5	1,14	2,28	< 0,1
20°C	2	96,3	1,22	2,34	0,13
20°C	3	95,9	1,35	2,55	0,16
20°C	4	95,4	1,47	2,89	0,25
20°C	5	94,9	1,58	3,27	0,26
20°C	6	94,0	1,88	4	0,13
20°C	18	12,1	25,2	60,87	1,82
4°C	0	97,1	0,96	1,91	< 0,1
4°C	0,5	97,3	0,96	1,7	< 0,1
4°C	1	97,0	1,03	1,9	< 0,1
4°C	2	97,0	1,04	1,86	0,14
4°C	3	96,8	1,07	0,94	0,16
4°C	4	96,5	1,13	2,14	0,26
4°C	5	96,6	1,11	2,2	< 0,1
4°C	6	96,8	1,09	2,07	< 0,1
4°C	18	95,4	1,45	3,07	0,11
4°C	24	94,8	1,34	3,76	< 0,1
4°C	32	94,9	1,33	3,65	< 0,1
4°C	48	89,8	2,39	7,56	< 0,1

Ejemplo 7 – Preparación del compuesto A

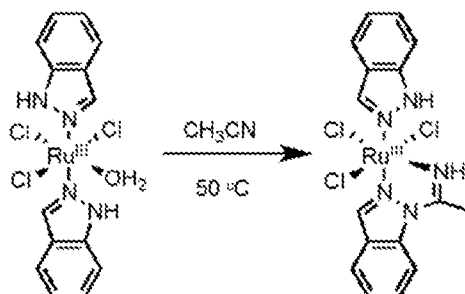


5

Se disolvió indazol (400 mg, 3,40 mmol, 1eq.) en HCl 2 mM (1,6 l) a 80°C en un vaso de precipitado grande. La solución se enfrió a temperatura ambiente antes de la adición de $\text{Na}[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_4(\text{Hind})_2]$ (1,8 g, 3,40 mmol, 1eq.) en una solución acuosa (400 ml H_2O). La solución de color amarroado-rojo resultante se agitó durante 5 min y después se dejó reposar sin agitación. Después de 1 día se empezaron a formar cristales en el fondo del vaso de precipitado. Después de un total de 3 días se formaron una cantidad significativa de cristales y se recogieron por filtración al vacío, se lavaron con H_2O (2 x 350 ml), y se secaron durante la noche a presión reducida para dar $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ (930 mg, 59,2%) como cristales rojos oscuros. El producto era adecuado para cristalografía de rayos X, que se usó para confirmar la estructura.

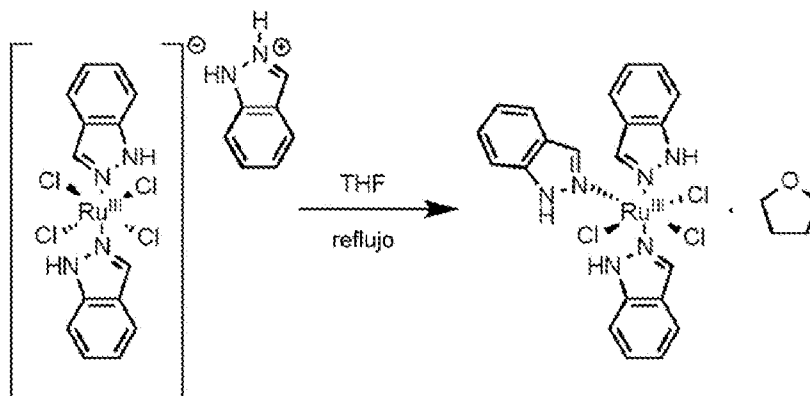
10

15 Ejemplo 8 – Preparación del compuesto C



Un matraz de fondo redondeado de 100 ml equipado con un condensador de reflujo se cargó con $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ (100 mg, 0,217 mmol) y CH_3CN (6 ml). La suspensión roja oscura resultante se calentó a 50°C . Después de unas pocas horas el material se solubilizó y se dejó agitar a 50°C . Después de 4 días, se había formado precipitación perceptible en el matraz de reacción. La mezcla de reacción cruda se centrifugó para dar un sólido marrón oscuro, que se lavó con Et_2O frío (3 x, aislado cada vez a través de centrifugación). El polvo marrón claro resultante era >95% puro (análisis de HPLC). Una pequeña cantidad (~40 mg) del producto se disolvió en una cantidad mínima de CH_3CN (~20 ml), se sonicó para disolver, y después se selló en un vial. Después de 1-2 días, se formaron cristales rojos con calidad de difracción y la estructura se confirmó por cristalografía de rayos X.

Ejemplo 9 – Preparación del compuesto D



Un matraz de fondo redondeado de 50 ml equipado con un condensador de reflujo se cargó con $\text{Hind}[\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_4(\text{Hind})_2]$ (198 mg, 0,331 mmol) y THF (10 ml). La suspensión amarronada roja resultante se sonicó brevemente para romper grandes trozos de material. La mezcla de reacción se calentó a reflujo; después de 20 min el material se solubilizó por completo para dar una solución roja oscura. Después de 20 min adicionales a reflujo, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y alícuotas de varios volúmenes (0,1-1,0 ml se diluyeron con cantidades variables de Et_2O o MTBE (1-15 ml). Después de 1-2 días varios ensayos de cristalización habían producido cristales rojos oscuros. Los intentos con mayor éxito implicaban un factor de dilución de 1:2-3 (es decir, 1 volumen de mezcla de reacción diluida con 2-3 volúmenes de Et_2O o MTBE). Los cristales se lavaron o bien con Et_2O frío o MTBE frío dependiendo del anti-solvente usado. Esto dio cristales rojos, que se usaron para confirmar la estructura a través de cristalografía de rayos X.

Ejemplo 10 – Proceso de formulación de IT-139

IT-139 se preparó enfriado usando soluciones frías ($2-8^\circ\text{C}$) para un volumen total de 1 l de producto farmacéutico. Se preparó tampón citrato añadiendo solución de citrato de sodio (29,4 g/l en agua) a solución de ácido cítrico (19,2 g/l en agua) hasta que el pH aumentó de 2,0 a 3,4. La solución de tampón citrato de trabajo se preparó después añadiendo 33 ml de tampón citrato en 767 ml de agua. Se añadieron 6,66 g de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio a 800 ml de solución de tampón citrato de trabajo fría ($2-8^\circ\text{C}$) y se agitó usando una placa agitadora magnética y barra agitadora durante 20 minutos mientras se enfriaba la solución a $2-8^\circ\text{C}$. Se preparó una solución de trabajo de manitol disolviendo 13,3 g de manitol en 200 ml de agua. Se añadieron 100 ml de solución de manitol fría ($2-8^\circ\text{C}$) a los 800 ml de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio disueltos en tampón citrato de trabajo, y se agitó durante 5 minutos mientras se enfriaba la solución a $2-8^\circ\text{C}$. Se añadieron 100 ml de agua fría ($2-8^\circ\text{C}$) a la solución de producto farmacéutico para un volumen final de 1 l. La solución a granel del producto farmacéutico de IT-139 se filtró a través de un filtro de paso de $0,22\ \mu\text{m}$ y se cargó asepticamente en viales de liofilización para un relleno final de 30 ml en un vial de vidrio transparente de 50 ml. Los viales se taparon parcialmente y se cargaron en un liofilizador con estantes preenfriados a -5°C . El ciclo de liofilización consistía en congelar a -40°C durante 3 horas, secado primario a -10°C durante 15 horas a 0,1 mbar, seguido por -5°C durante 10 horas a 0,1 mbar y secado secundario a 5°C durante 2 horas a 0,05 mbar, seguido por 10°C durante 2 horas a 0,05 mbar, seguido por 15°C durante 2 horas a 0,05 mbar, seguido por 20°C durante 2 horas a 0,05 mbar para un tiempo de secado total de 36 horas. Los viales se taparon por completo, se sellaron y almacenaron a -20°C .

Ejemplo 11 – Proceso 2 de formulación de IT-139

El IT-139 se preparó enfriado usando soluciones frías ($2-8^\circ\text{C}$) para un volumen total de 2,8 l de producto farmacéutico. Se preparó tampón citrato añadiendo solución de citrato de sodio (29,4 g/l en agua) a solución de ácido cítrico (19,2 g/l en agua) hasta que el pH aumentó de 2,0 a 3,4. La solución de tampón citrato de trabajo se preparó después añadiendo 9,3 g de tampón citrato a 1960 g de agua. Se añadieron 36,3 g de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio a 1969,9 g de solución de tampón citrato de trabajo fría ($2-8^\circ\text{C}$) y se agitó usando una placa agitadora magnética y barra agitadora durante 20 minutos mientras se enfriaba la solución a $2-8^\circ\text{C}$. Se preparó una solución de

trabajo de manitol disolviendo 35 g de manitol en 525 ml de agua. Se añadieron 525 ml de solución de manitol fría (2-8°C) a la solución de *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio en tampón citrato de trabajo, y se agitó durante 5 minutos mientras se enfriaba la solución a 2-8°C. Se añadieron 300 ml de agua fría (2-8°C) a la solución de producto farmacéutico para un volumen final de 2,8 l. La solución a granel del producto farmacéutico de IT-139 se filtró a través de un filtro de paso de 0,22 µm y se cargó asépticamente en viales de liofilización para un relleno final de 25,1 g en un vial de vidrio transparente de 50 ml. Los viales se taparon parcialmente y se cargaron en un liofilizador con estantes preenfriados a -5°C. El ciclo de liofilización consistía en congelar a -40°C durante 6 horas, secado primario a -10°C durante 50 horas a 0,2 mbar, y secado secundario a 30°C durante 33 horas a 0,2 mbar. Los viales se rellenaron con nitrógeno, se taparon por completo y se almacenaron a 4°C.

Ejemplo 12 – Análisis de lotes de principio activo IT-139

Los datos del análisis de lotes para el principio activo que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) y cesio se reproducen en la tabla 8.

Tabla 8: Datos del análisis de lotes para el principio activo que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio, Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(H₂O), Ru^{III}Cl₃(Hind)₂(CH₃CN), Ru^{III}Cl₃(Hind)(HN=C(Me)ind) y cesio.

Parámetro	Criterios de aceptación	Resultados: Lote CB186/25
1. Caracteres		
Aspecto	Polvo marrón oscuro	Polvo marrón oscuro
2. Identidad		
Espectro de IR	Se ajusta al estándar	-
Tiempo de retención de HPLC	Se ajusta al estándar	Se ajusta al estándar
3. Pruebas		
Pureza por HPLC [% de área] (base seca)	NLT 95,5	97,46
Ensayo de rutenio [% en peso] (base seca)	19,12-21,14	-
Ensayo de cloruro [% en peso] (base seca)	25,0-30,0	28,5
Contenido de agua [% en peso]	NMT 7,0	6,64
Ensayo de cesio [ppm]	NMT 5000	40
Ensayo de aluminio [ppm]	NMT 100	< 5
4. Impurezas		
Indazol [% en peso]	NMT 0,25	No detectado
Impureza (compuesto A) a RRT 1,09 (+/- 0,02)	NMT 1,0	0,63
Impureza (compuesto B) a RRT 1,28 (+/- 0,02)	NMT 2,5	0,93
Impureza (compuesto C) a RRT 1,06 (+/- 0,03)	NMT 2,0	0,66
Cualquier impureza no especificada [% de área]	NMT 0,5	0,12
Impurezas totales [% de área]	NMT 5,0	2,48
5. Solventes residuales		
Acetonitrilo [ppm]	NMT 410	No detectado
Metanol [ppm]	NMT 3000	No detectado
Etanol [ppm]	NMT 5000	No detectado
tert-butil metil éter [ppm]	NMT 5000	815
Metil etil cetona [ppm]	NMT 5000	1562
6. Metales pesados		
Os [ppm]	NMT 10	-
Si	Describir resultados	-
7. Biocarga microbiana		
Conteo microbiano aerobio total [UFC/g]	NMT 20	-
Conteo de levadura y hongos combinado total [UFC/g]	NMT 5	-
Endotoxinas bacterianas [UE/mg]	NMT 1,0	-

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio y cesio;

5 dicha composición además comprende $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$, $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$, y $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$; en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio no es menos del 95,5 por ciento en peso de la composición,

10 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ no es más del 1,0 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ no es más del 2,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ no es más del 2,0 por ciento en peso de la composición, y

el cesio no es más del 0,5 por ciento en peso de la composición.

15 2. La composición de la reivindicación 1, en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre el 95,5 y el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre el 0,001 y el 1,0 por ciento en peso de la composición,

20 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre el 0,001 y el 2,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre el 0,001 y el 2,0 por ciento en peso de la composición, y

el cesio está entre el 0,0001 y el 0,5 por ciento en peso de la composición.

25 3. La composición de la reivindicación 2, en donde:

el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre el 95,5 y el 99,9 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre el 0,001 y el 0,75 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre el 0,001 y el 1,5 por ciento en peso de la composición,

30 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre el 0,001 y el 1,25 por ciento en peso de la composición, y

el cesio está entre el 0,0001 y el 0,25 por ciento en peso de la composición.

4. La composición de la reivindicación 3, en donde:

35 el *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de sodio está entre el 95,5 y el 99,9 por ciento en peso de la composición,

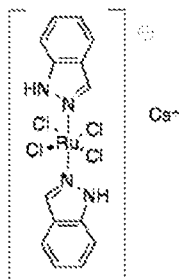
el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{H}_2\text{O})$ está entre el 0,001 y el 0,5 por ciento en peso de la composición,

el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})_2(\text{CH}_3\text{CN})$ está entre el 0,001 y el 0,5 por ciento en peso de la composición,

40 el $\text{Ru}^{\text{III}}\text{Cl}_3(\text{Hind})(\text{HN}=\text{C}(\text{Me})\text{ind})$ está entre el 0,001 y el 0,5 por ciento en peso de la composición, y

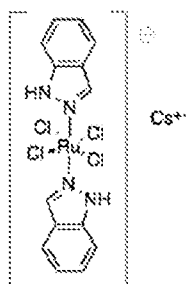
el cesio está entre el 0,0001 y el 0,01 por ciento en peso de la composición.

5. Un compuesto de fórmula I-a:



I-a.

45 6. Un método para preparar un compuesto de fórmula I-a:

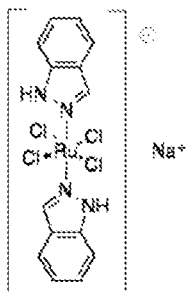


I-a,

que comprende una etapa de hacer reaccionar *trans*-[tetraclorobis(1H-indazol)rutenato (III)] de indazolio y cloruro de cesio en un solvente adecuado.

5

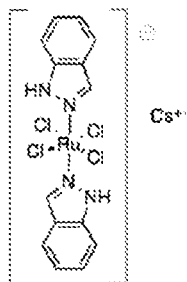
7. Un método para preparar un compuesto de fórmula **I-b**:



I-b

10

que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula **I-a**:



I-a,

15

en condiciones adecuadas para efectuar un intercambio de sales, que incluye convertir **I-a** a la sal de sodio de **I-b** por tratamiento con sulfato de sodio y aluminio.

8. Composición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso en tratar cáncer en un paciente.

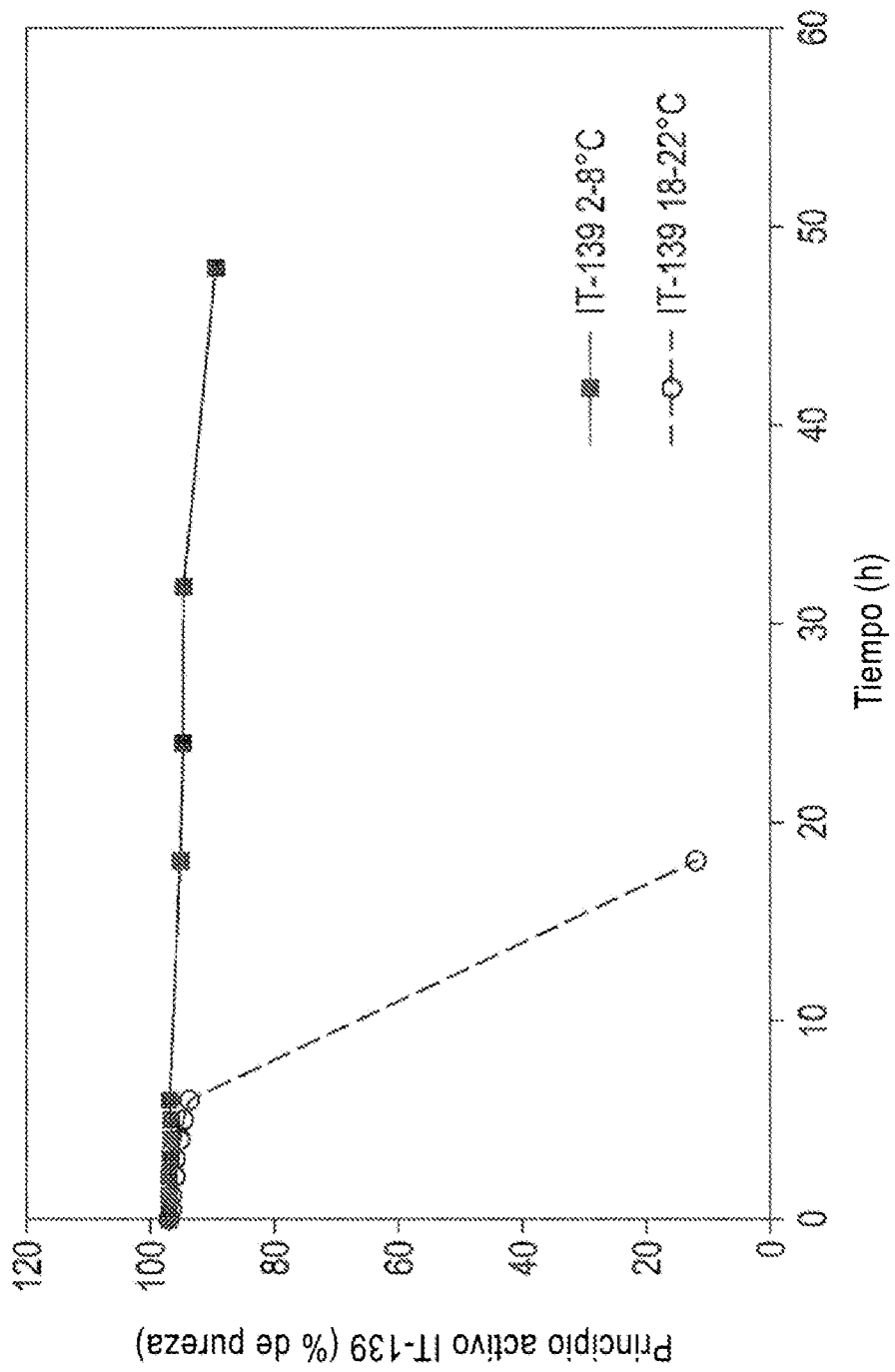


Figura 1

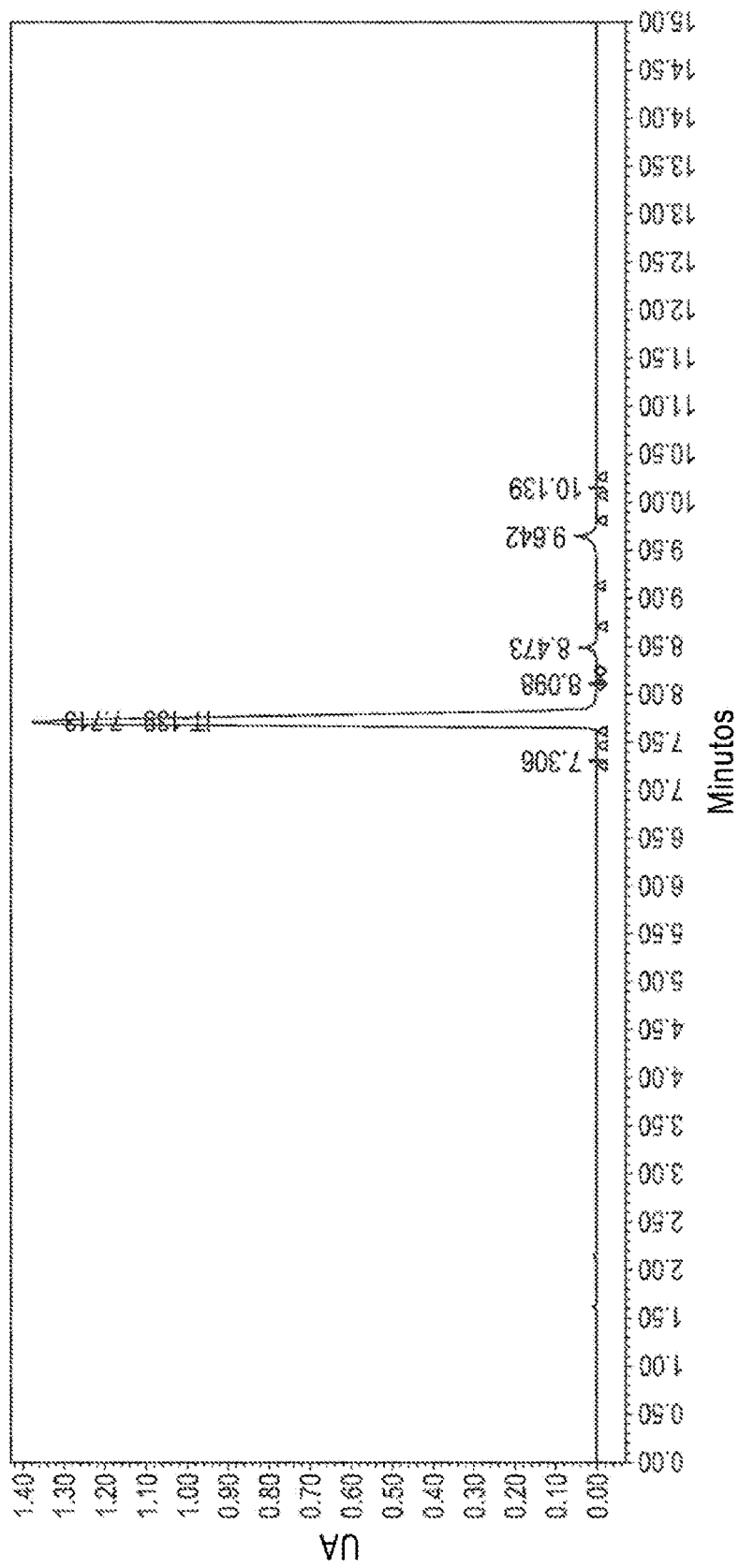


Figura 2

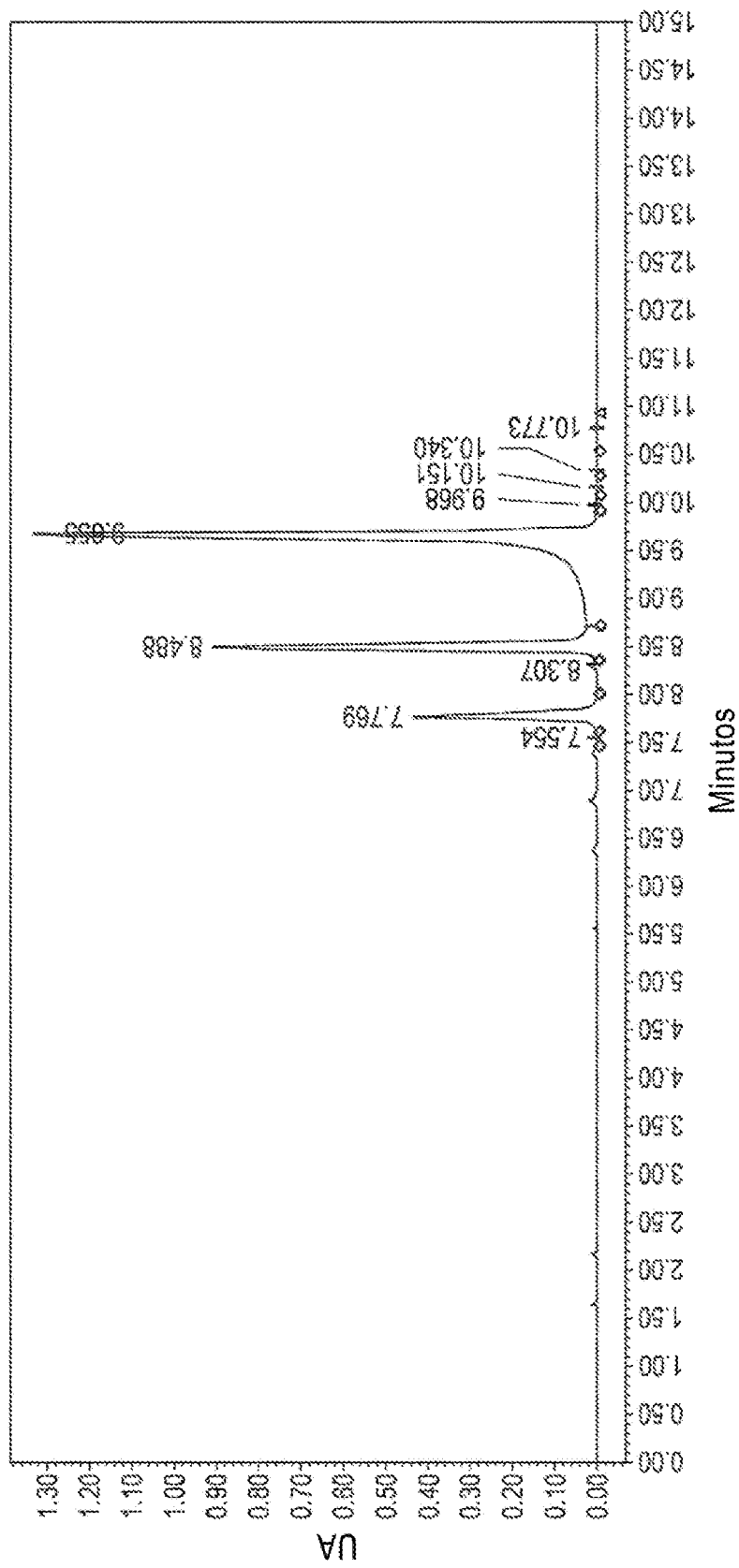


Figura 3

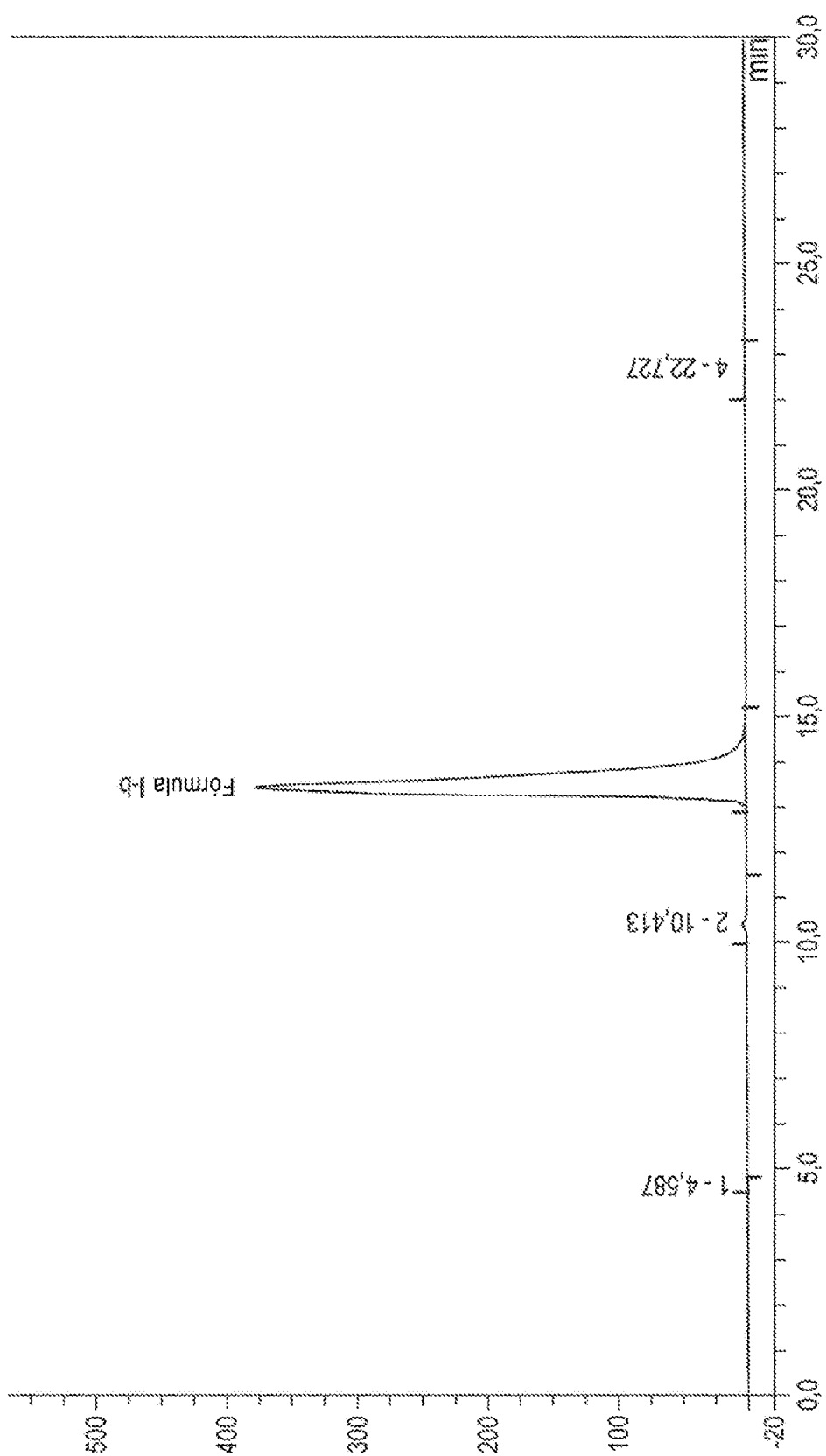


Figura 4

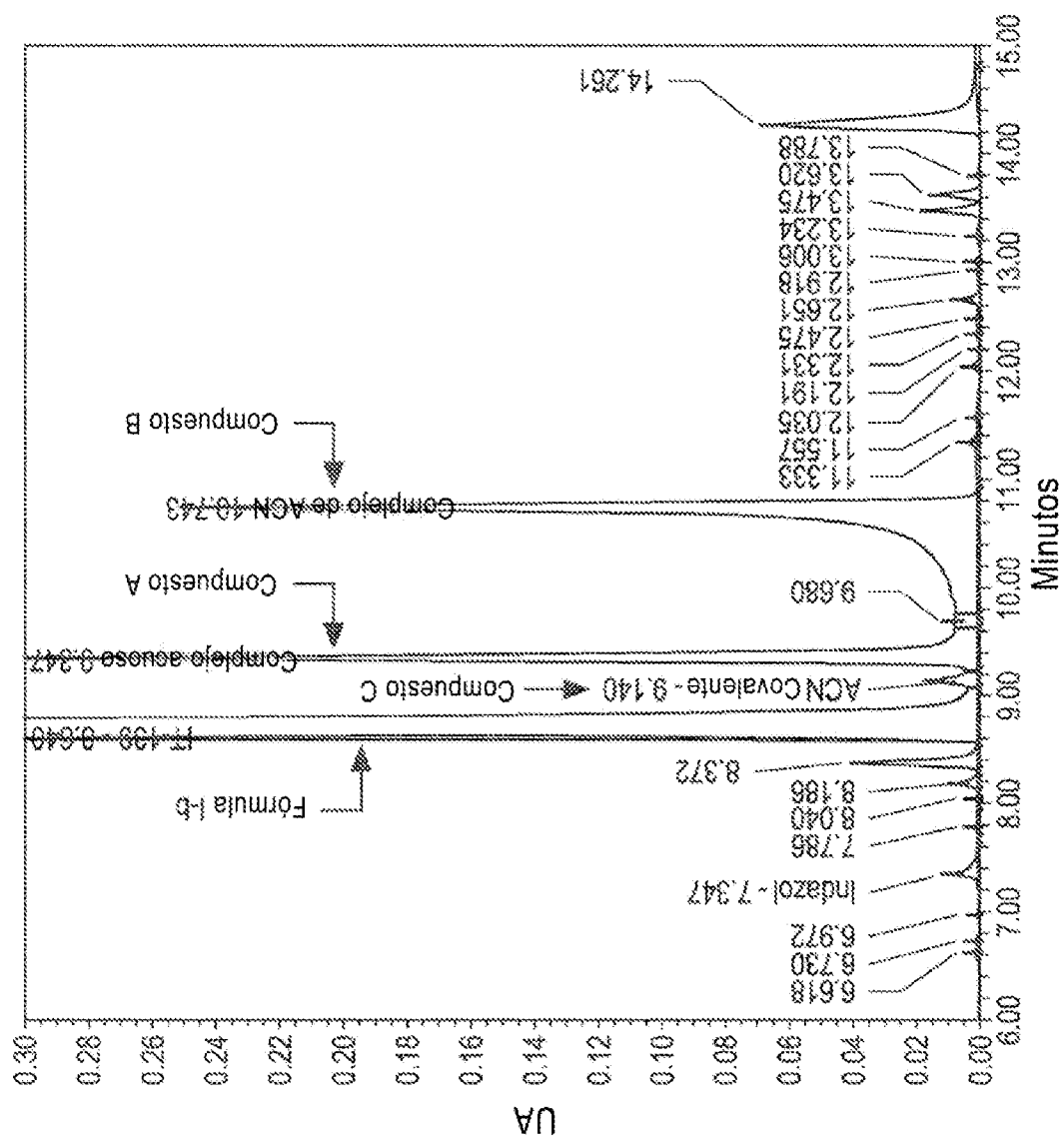


Figura 5

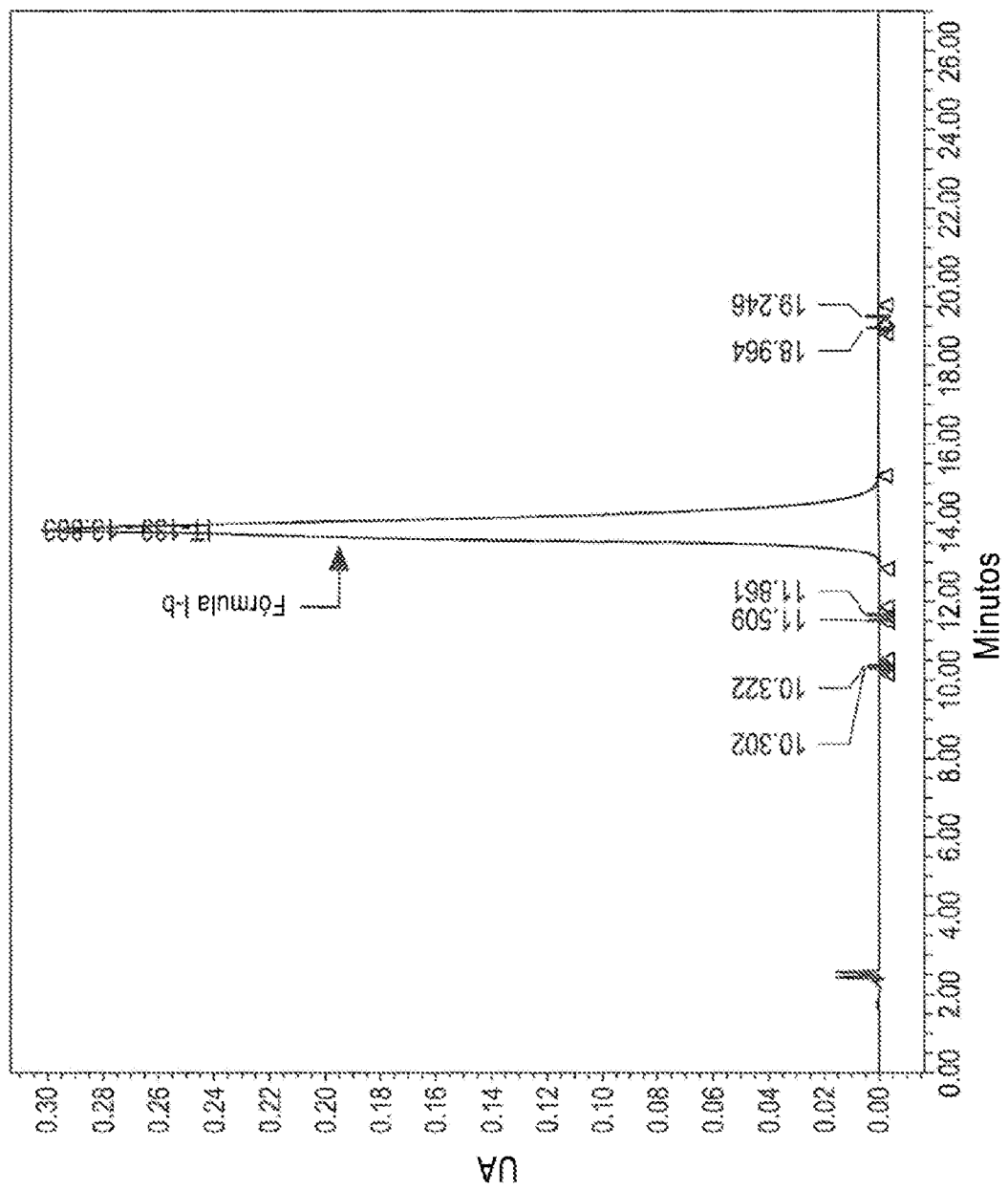


Figura 6

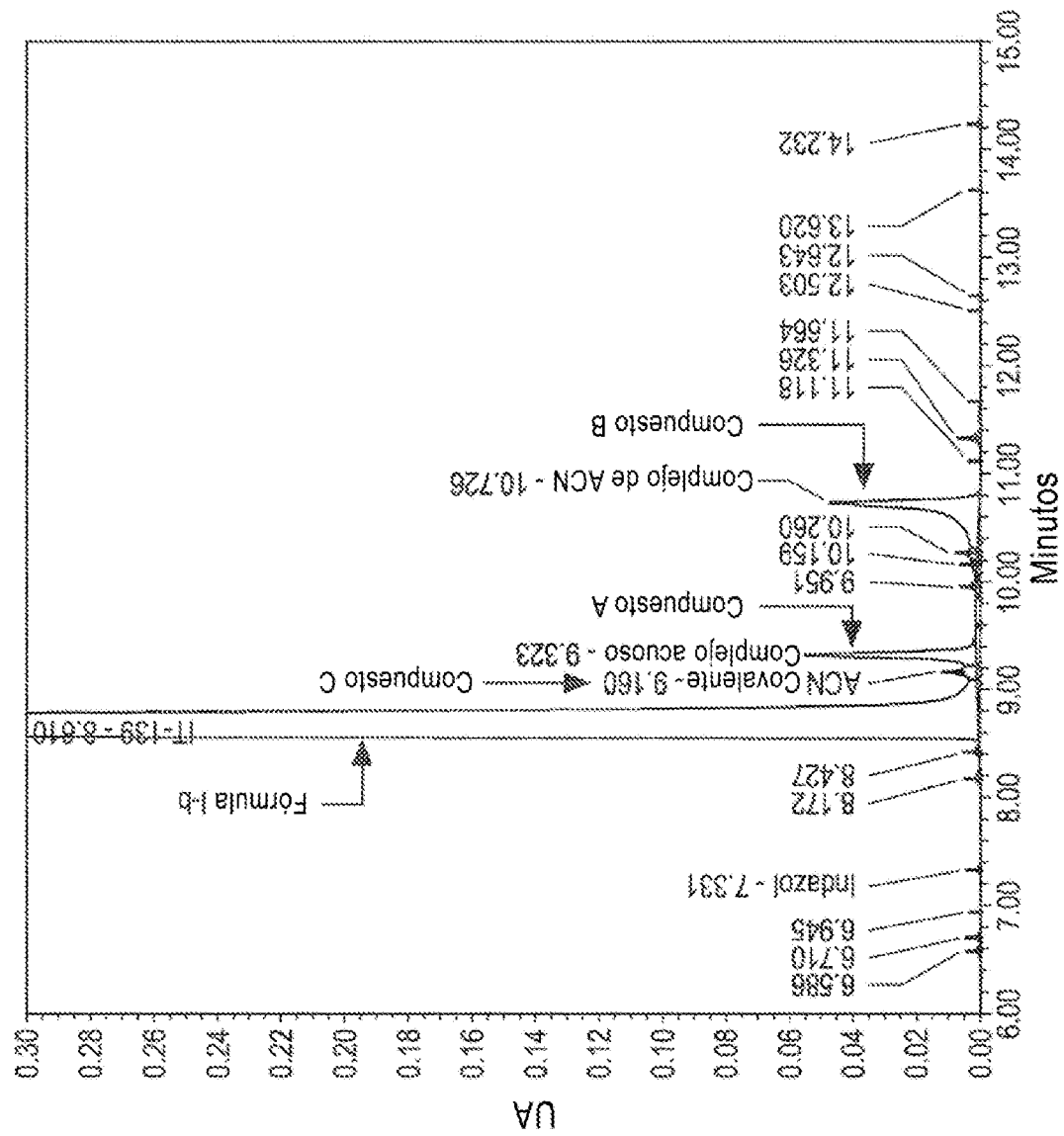


Figura 7