



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 341 603**

② Número de solicitud: 200803552

⑤ Int. Cl.:
C07H 19/02 (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **15.12.2008**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **22.06.2010**

Fecha de la concesión: **14.04.2011**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **28.04.2011**

⑰ Fecha de publicación del folleto de la patente:
28.04.2011

⑲ Titular/es: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)** (Titular al 51 %)
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad de Alcalá (Titular al 49 %)

⑳ Inventor/es: **Gago Badenas, Federico;**
Rico Galán, Eva;
Camarasa Rius, María José;
Jiménez Ruiz, Antonio;
Casanova Malpica, Elena;
Moreno Mateos, David y
Pérez Pérez, María Jesús

㉑ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

㉒ Título: **Derivados de nucleósidos para el tratamiento de infecciones por *Leishmania*.**

㉓ Resumen:

Derivados de nucleósidos para el tratamiento de infecciones por *Leishmania*.

Compuestos derivados de nucleósidos y su uso para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *Leishmania*. Además la invención se refiere a las composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

ES 2 341 603 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Derivados de nucleósidos para el tratamiento de infecciones por *Leishmania*.

5 La presente invención se refiere a compuestos derivados de nucleósidos, su uso para el tratamiento de infecciones por *Leishmania*, además de las composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos.

Estado de la técnica anterior

10 Los parásitos del género *Leishmania* deben su nombre a W.B. Leishman, quién desarrolló las primeras técnicas de detección de los parásitos en 1901. Este parásito es el causante de la leishmaniasis, una enfermedad presente en 22 países de América y 66 naciones del viejo mundo, con especial incidencia en Asia Sur-oriental, África Oriental y Brasil. En Europa es posible encontrar casos de infección en humanos en 16 países, entre los cuales destacan Francia, Italia, Grecia, Malta, España y Portugal. La enfermedad presenta diversas manifestaciones que, en su mayoría, dependen de la especie causante de la infección. La mayor parte de los casos corresponden a la forma cutánea, que afecta a la piel de los pacientes, siendo responsable de severas desfiguraciones. Sin embargo, los casos más relevantes desde el punto de vista de la salud corresponden a la forma visceral de la enfermedad (LV), que causa miles de muertes al año.

20 Aproximadamente el 60% de los casos de LV, también conocida como Kala azar, ocurren en el subcontinente indio (Bangladesh, India y Nepal), principalmente entre la población más pobre de las áreas rurales. El resto de los casos se localizan en África oriental (Etiopía, Kenia y Sudán) y en Brasil. La LV es causada por dos especies diferentes, *L. donovani* y *L. infantum*, cada una de ellas con una distribución geográfica propia. *L. infantum* infecta principalmente a niños e individuos inmuno-suprimidos, mientras que *L. donovani* infecta a individuos de todas las edades. Se estima que cada año se producen unas 50.000 muertes a causa de esta enfermedad y se registran 500.000 nuevos casos. Entre las enfermedades causadas por parásitos, esta tasa de muerte es sólo superada por la malaria.

30 El perro es el principal reservorio de las especies causantes de LV. Existen evidencias que demuestran una disminución de la incidencia de la enfermedad, tanto en perros como en niños, como consecuencia de un amplio análisis serológico de la población de perros y la posterior eliminación de los animales infectados. Sin embargo, esta estrategia de control es considerada como poco aceptable y serían deseables otras medidas conducentes al control de la enfermedad en éstos animales. Datos recientes muestran una incidencia muy elevada de la infección en perros domésticos de los países de la cuenca mediterránea, considerándose de hecho una de las enfermedades más frecuentes y letales entre estos animales (Solano-Gallego, L., P. Morell, *et al.* 2001. *J Clin Microbiol* 39: 560-3).

35 El tratamiento de la LV está basado en el empleo de fármacos anti-leishmania y en un agresivo control de cualquier infección bacteriana o parasitaria concomitante, de posibles anemias, hipovolemia y malnutrición. Los antimoniales pentavalentes estibogluconato sódico y antimonioato de meglumina han constituido la primera línea de tratamiento en muchas áreas del planeta durante más de 70 años. Los antimoniales son fármacos tóxicos con frecuentes efectos adversos tales como arritmias cardíacas, y pancreatitis agudas. Los pacientes con edades menores de 2 años o superiores a los 45 con la enfermedad avanzada y/o con malnutrición severa presentan un elevado riesgo de muerte durante la terapia con antimoniales como consecuencia de su elevada citotoxicidad, lentitud de acción y/o complicaciones de la enfermedad (Chappuis, F., S. Sundar, *et al.* 2007. *Nat Rev Microbiol* 5(11): 873-82).

45 El tratamiento con Anfotericina B convencional ha reemplazado a los antimoniales en el tratamiento de la LV en algunas áreas, en las que la tasa de fallo de los antimoniales supera el 60%. Fiebre, escalofríos y rigor son efectos casi universales del tratamiento con Anfotericina B convencional y no es extraño encontrar efectos adversos con grave riesgo para la vida como la caída de la concentración de potasio en sangre, nefrotoxicidad e incluso choques anafilácticos tras la primera dosis. Además, este fármaco es costoso y su régimen de administración es complicado (15 infusiones lentas en días alternos) (Chappuis, F., S. Sundar, *et al.* 2007. *Nat Rev Microbiol* 5(11): 873-82).

50 A pesar de la existencia de algunas alternativas a estos tratamientos, como es el caso de la anfotericina B liposomal, la miltefosina (un fármaco originalmente desarrollado como anti-tumoral), la paramomicina (antibiótico aminoglicósido), y la Sitamaquina (8-aminoquinolina), existe todavía una gran necesidad de avanzar en la investigación y desarrollo de nuevos fármacos que mejoren el repertorio de estrategias disponibles para el control de la enfermedad.

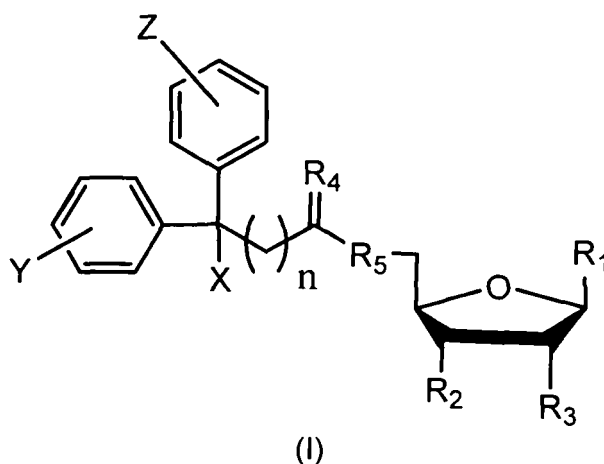
Descripción de la invención

60 La presente invención proporciona un grupo de moléculas con capacidad de inhibición del crecimiento del parásito, *Leishmania*, que constituye una nueva herramienta con importancia tanto desde el punto de vista médico como veterinario.

65

ES 2 341 603 B1

Un primer aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) (a partir de ahora compuestos de la invención):



donde:

25 Z se selecciona de la lista que comprende hidrógeno (H), halógeno, alquilo (C₁-C₄) ó alcoxilo (-OR_a);

Y se selecciona de la lista que comprende hidrógeno (H), halógeno, alquilo (C₁-C₄) ó alcoxilo (-OR_a);

30 X es un grupo arilo o un grupo heteroarilo.

R₁ es una base nitrogenada.

35 R₂ es un hidroxilo (-OH) o un grupo éster (-OCOR_b);

R₃ se selecciona de la lista que comprende hidrógeno (H), hidroxilo (-OH) ó alcoxilo (-OR_a);

R₄ es O ó S;

40 R₅ es O ó NH; y

n toma los valores de 1 ó 2.

45 Por “halógeno” se entiende en la presente invención a un átomo de bromo, cloro, yodo o flúor. Preferiblemente es flúor o cloro.

50 El término “alquilo” se refiere, en la presente invención, a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo ó *sec*-butilo. Preferiblemente el grupo alquilo es un metilo.

El término “alcoxilo” se refiere en la presente invención a un grupo de fórmula -OR_a en la que R_a es un alquilo (C₁-C₄), por ejemplo, pero sin limitarse a metoxilo, etoxilo ó propoxilo. Preferiblemente es un grupo metoxilo.

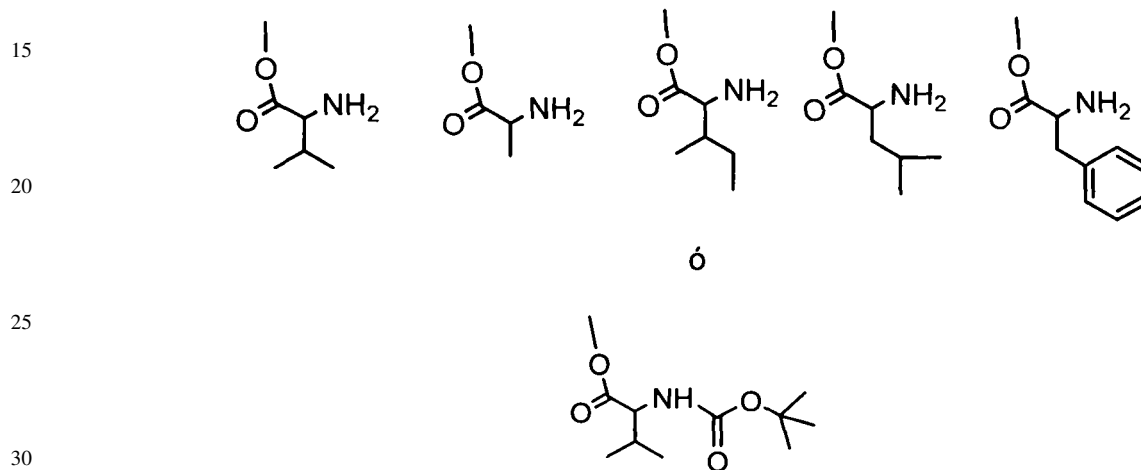
55 El término “arilo” se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 6 a 12 átomos de carbono, pudiendo ser de anillo único ó múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados. Preferiblemente el grupo arilo es un fenilo. El grupo fenilo puede estar opcionalmente sustituido por un halógeno, un grupo alcoxilo o un grupo alquilo (C₁-C₄), tal y como se han definido anteriormente, preferiblemente los sustituyentes del grupo fenilo se encuentran en las posiciones 3 ó 4 del anillo aromático. Este fenilo sustituido, pueden ser, pero sin limitarse a 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-metoxifenilo ó 4-metilfenilo.

60 El término “heteroarilo” se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 5 a 12 miembros, pudiendo ser de anillo único ó múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados, y que consiste en átomos de carbono y de al menos un heteroátomo seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno o azufre, por ejemplo, pero sin limitarse a piridilo, imidazolilo ó tiofenilo. Preferiblemente el heteroátomo es nitrógeno, y más preferiblemente el ciclo es un anillo de 6 miembros. Más preferiblemente el heteroarilo es piridilo.

ES 2 341 603 B1

Por "base nitrogenada" se entiende en la presente invención a los compuestos orgánicos cíclicos, que incluyen dos o más átomos de nitrógeno. Preferiblemente las bases nitrogenadas se seleccionan de entre purícas o pirimidínicas, si es purina se unen a través del N9 y si es pirimidina se une a través del N1. Más preferiblemente las bases nitrogenadas se seleccionan del grupo que comprende timin-1-il, uracil-1-il, citosin-1-il, hipoxantin-9-il, adenin-9-il ó guanin-9-il.
 5 Aún más preferiblemente la base nitrogenada es timina.

El término "éster" se refiere en la presente invención a un grupo de fórmula -OCOR_b, R_b es un grupo alquilo, lineal o ramificado y/o sustituido por un grupo amino. Preferiblemente es cualquier aminoácido libre (como por ejemplo, pero sin limitarse a valina, alanina o isoleucina) o protegido, como por ejemplo, pero sin limitarse a los grupos t-butoxicarbonilo, fenilxicarbonilo o 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc). Más preferiblemente R₂ se selecciona de los siguientes grupos:



R₂ puede ser también de fórmula -OCOCH₂CH₂COOCH₂CH₂O-R_c, donde R_c es un grupo, aminoácidos libres o protegidos, como los descritos anteriormente. R₂ puede contener un aminoácido como espaciador y una valina en la posición distal del tipo -OCOCHR'NHCOCH(CH₃)NH₂, siendo R' la cadena lateral del aminoácido del espaciador.
 35

R₃, es un radical sobre la posición 2' de la ribosa del nucleósido, dando lugar a los compuestos desoxi (cuando R₃ es H), ribo o arabino (cuando R₃ es OH, dependiendo de su estereoquímica) o ribo (cuando R₃ es -OR_a, preferiblemente -OCH₃).
 40

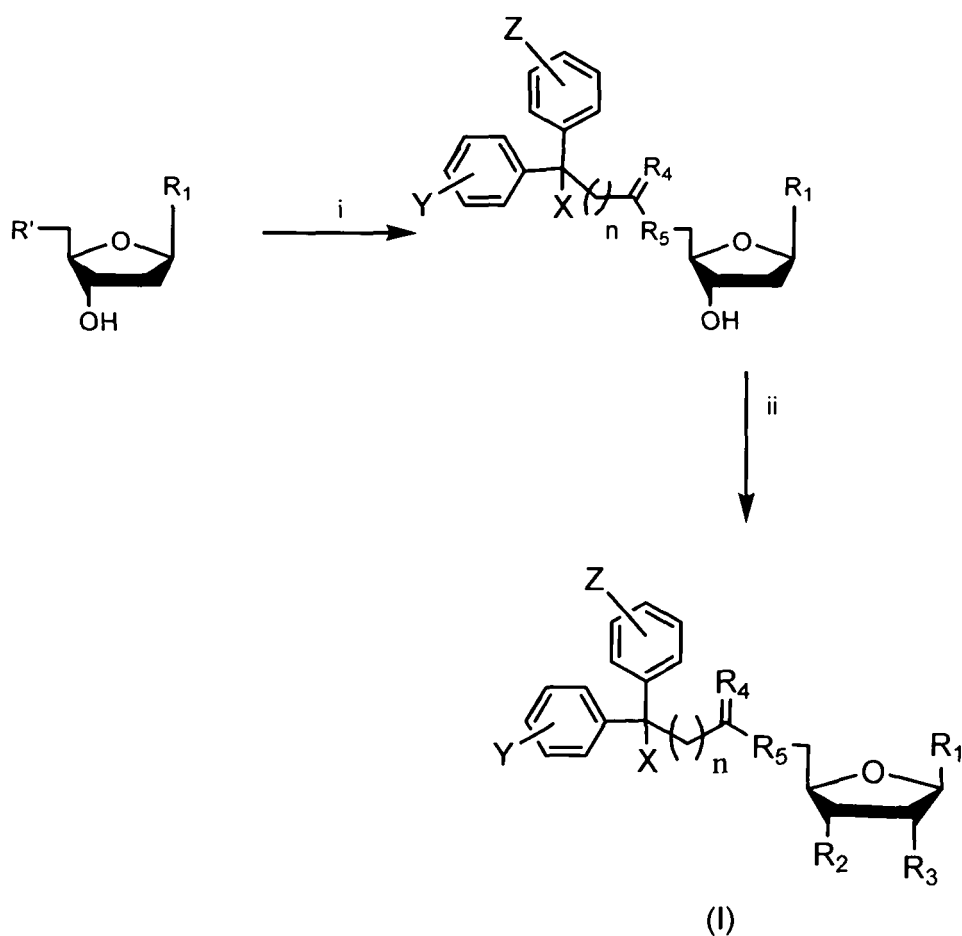
En una realización preferida Y es hidrógeno. Más preferiblemente Z es hidrógeno y/o X es un grupo fenilo. Más preferiblemente aún R₃ es hidrógeno. Aún más preferiblemente R₄ es oxígeno.

En otra realización preferida los compuestos de la invención se seleccionan de la lista que comprende:

- 45 5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanoil)timidina;
 (S)-3'-O-[N-(t-Butoxicarbonil)valil]-5'-O-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;
 50 5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-O-L-valiltimidina;
 (S)-3'-O-[N-(t-Butoxicarbonil)alanil]-5'-O-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;
 3'-O-L-Alanil-5'-O-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;
 55 (S)-3'-O-[N-(t-Butoxicarbonil)isoleucil]-5'-O-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;
 5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-O-L-isoleuciltimidina; ó
 60 5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanamido)-5'-desoxitimidina.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un procedimiento de obtención de los compuestos de la invención que cualquier experto en la materia podría deducir del siguiente esquema de reacción y con los ejemplos.
 65

5
10
15
20
25
30
35



40 Donde: R' es OH ó NH₂ y R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, Z, Y, X y n están definidos anteriormente. En el paso (i) tiene lugar la adición del grupo triarilo y en el paso (ii) la adición de los grupos éster, introduciendo grupos aminoácidos previamente protegidos.

45 Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de los compuestos de la invención para la elaboración de una composición farmacéutica que los incluye.

Otro aspecto más de la presente invención se refiere al uso de los compuestos de la invención para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *Leishmania*.

50 La leishmaniasis, es una enfermedad que afecta, sobre todo a vertebrados, es decir, tanto en humanos o animales vertebrados, como por ejemplo a marsupiales, cánidos, roedores o primates.

55 Existen varios tipos de leishmaniasis dependiendo del tipo de órganos se ven afectados por esta enfermedad y que son: leishmaniasis visceral (LV), que es principalmente causada por dos especies *L. donovani* y *L. infantum*. leishmaniasis cutánea o Leishmaniasis mucosa o mucocutánea. Dada la semejanza de las diferentes especies de *Leishmania*, los compuestos de la invención se utilizan para el tratamiento de cualquier tipo de leishmaniasis.

60 Los productos portadores de un resto de aminoácido en la posición 3' del azúcar, de los compuestos de la invención, mostraron actividad potente y significativa frente al crecimiento de promastigotes de *Leishmania infantum sp.* Por tanto, pueden actuar como profármacos liberando el correspondiente análogo con el grupo 3'-OH libre. De hecho el compuesto con un resto de trifetilpropionato en la posición 5' del nucleósido y el 3'-OH libre (ver ejemplos: compuesto 2) también mostró cierta actividad inhibitoria, aunque la inhibición del crecimiento fue menor que con los derivados de aminoácido.

65 Aún otro aspecto más de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos de la invención, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Además el uso de dicha composición será en una cantidad terapéuticamente efectiva.

ES 2 341 603 B1

Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los adyuvantes y vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

5 Los compuestos de la invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, profármacos y/o solvatos, así como las composiciones farmacéuticas que los contienen, pueden ser utilizados junto con otros fármacos, o principios activos, adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición se-
10 parada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco, solvato, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de desarrollar la acción terapéutica determinada por sus propiedades farmacológicas, calculada para producir el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características
15 propias de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, y de la ruta y frecuencia de administración.

Dicha composición terapéutica se puede preparar en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyen-
te farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada
20 por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición tera-
péutica proporcionada por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea,
intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de
25 administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse,
por ejemplo, en el “Tratado de Farmacia Galénica”, C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, o en
otros habituales o similares de las Farmacopeas Española y de Estados Unidos.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir
30 otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas
y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención.
Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente
invención.

Ejemplos

35 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de mani-
fiesto la especificidad y efectividad de los compuestos de la invención.

40

(Esquema pasa a página siguiente)

45

50

55

60

65

Ejemplo 1

Síntesis del compuesto 4a y sus análogos 4b y 4c

5

10

15

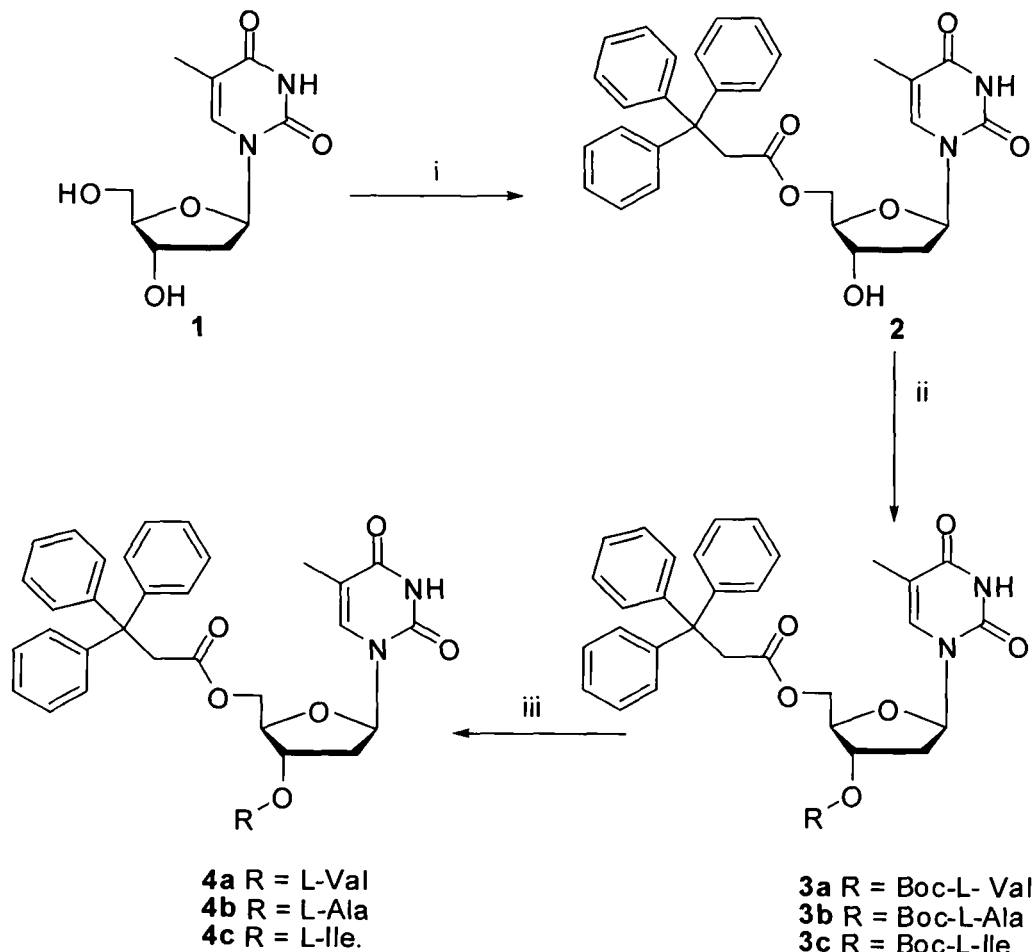
20

25

30

35

40



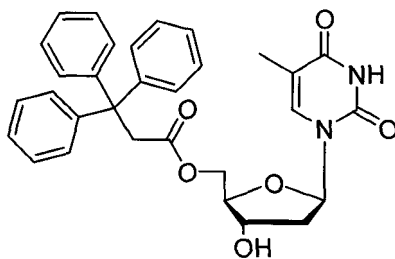
45 Esquema 1: Donde (i) es ácido trifenílpropiónico, trifenílfosfina, di-*t*-butil azodicarboxilato (DBAD), dimetilformamida (DMF), 0°C, 1 h; (ii) Boc-Xaa-OH, PyBOP (Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidinio) fosfonio, CH₂Cl₂, Et₃N, 4-dimetilaminopiridina (DMAP), 0°C, 2-24 h; y (iii) ácido trifluoroacético (TFA), CH₂Cl₂, temperatura ambiente, 2-5 h.

50

5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanoil)timidina (2)

55

60



65

A una disolución que contiene timidina (1) (100 mg, 0.41 mmol), ácido trifenílpropiónico (248 mg, 0.82 mmol) y trifenílfosfina (215 mg, 0.82 mmol) en DMF (1 ml), se le añade DBAD (189 mg, 0.82 mmol) en un baño de hielo. La mezcla se agita a 0°C bajo atmósfera de argón durante 1 hora. A continuación, se le añade MeOH (1 ml) y se concentra hasta sequedad a presión reducida. El residuo resultante se trata con una disolución de HCl en dioxano 4N (2 ml), se

ES 2 341 603 B1

agita a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se concentra hasta sequedad a presión reducida, se disuelve en CH_2Cl_2 (2 ml) y se trata con HCl 4N. La fase orgánica se seca con MgSO_4 anhidro, se filtra y se evapora. El crudo obtenido se purifica por cromatografía flash de alta resolución (HPFC) en un equipo Biotage Horizon usando como eluyente un gradiente de hexano:acetato de etilo (gradiente de 60:40 a 30:70). Se obtienen 155 mg (72%) de 2 como un sólido blanco.

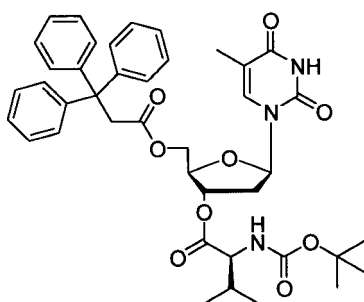
Pf: 94-96°C (CH_2Cl_2 :MeOH)

EM (ES, modo positivo): m/z 549 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

¹H-RMN (CDCl_3): δ 1.85 (d, $J = 1.0$ Hz, 3H, 5- CH_3), 1.95 (m, 1H, H-2'), 2.27 (m, 1H, H-2''), 3.67 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, CH_2CO), 3.74 (m, 1H, H-4'), 3.82 (m, 1H, H-3'), 3.91 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, CH_2CO), 3.94 (dd, $J = 12.1$, 4.1 Hz, 1H, H-5'), 4.17 (dd, $J = 12.1$, 4.3 Hz, 1H, H-5''), 6.15 (pseudo t, $J = 6.4$ Hz, 1H, H-1'), 7.15 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H, H-6), 7.20-7.29 (m, 15H, CPh₃), 8.31 (s ancho, 1H, 3-NH).

Análisis (%) para $\text{C}_{31}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6$ Calculado: C, 70.71; H, 5.74; N, 5.32. Encontrado: C, 70.54; H, 5.65; N, 5.19.

(*S*)-3'-*O*-[*N*-(*t*-Butoxicarbonil)valil]-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina (3a)

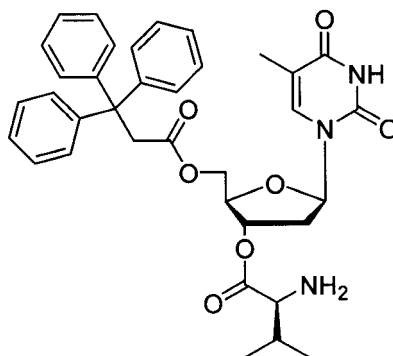


A una disolución del compuesto 2 (100 mg, 0.19 mmol), se hizo reaccionar con el derivado de aminoácido Boc-Val-OH (82 mg, 0.38 mmol) y PyBOP como agente de acoplamiento (118 mg, 0.23 mmol) en CH_2Cl_2 (1 ml), se le añade Et_3N (66 μl , 0.47 mmol) en un baño de hielo. A continuación se le añade DMAP (4-dimetilaminopiridina) hasta $\text{pH} = 11$. La mezcla se agita a 0°C durante la noche. Se diluye con CH_2Cl_2 (25 ml) y se lava con una disolución de ácido cítrico al 5% (10 ml). La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO_3 (10 ml) y salmuera (10 ml), se seca con MgSO_4 anhidro, se filtra y se evapora. El crudo obtenido se purifica por cromatografía circular centrífuga en capa fina (CCTLC) en el Cromatotron usando como eluyente una mezcla hexano/acetato de etilo (1:1). Se obtienen 103 mg (75%) como un sólido blanco.

EM (ES, modo positivo): m/z 726 ($\text{M}+1$)⁺

¹H-RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 0.85-0.91 (m, 6H, CH_3 - γ), 1.37 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$), 1.71 (s, 3H, 5- CH_3), 1.99 (m, 1H, H-2'), 2.14 (m, 1H, H-2''), 2.32 (m, 1H, CH- β), 3.78-3.98 (m, 6H, CH_2CO , H-4', H-5', CH- α), 4.94 (m, 1H, H-3'), 6.14 (pseudo t, $J = 6.9$ Hz, 1H, H-1'), 7.17-7.30 (m, 16H, CPh₃, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 11.36 (s, 1H, 3-NH).

5'-*O*-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-*O*-*L*-valiltimidina (4a)



ES 2 341 603 B1

A una disolución del compuesto 3a (95 mg, 0.13 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) se le añade ácido trifluoroacético (100 µl, 1.31 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 3 h y posteriormente se concentra hasta sequedad a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (10:1). Se obtienen 71 mg (87%) como un sólido blanco.

5

Pf: 85-86°C (CH₂Cl₂:MeOH)

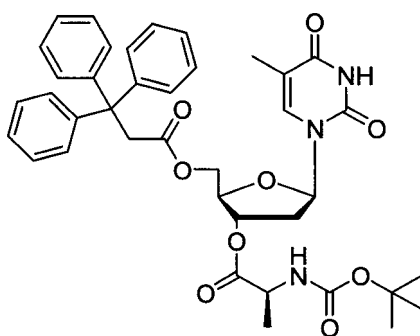
EM (ES, modo positivo): m/z 626 (M+1)⁺

10 **¹H-RMN (DMSO-d₆):** δ 0.81 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃-γ), 0.86 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH₃-γ), 1.72 (s, 3H, 5-CH₃), 1.85 (m, 1H, H-β), 2.17 (m, 1H, H-2'), 2.34 (m, 1H, H-2''), 3.14 (d, *J* = 5.2 Hz, 1H, H-α), 3.84 (s, 2H, CH₂CO), 3.87-4.00 (m, 3H, H-4, H-5'), 4.97 (m, 1H, H-3'), 6.12 (m, 1H, H-1'), 7.15-7.27 (m, 15H, CPh₃), 7.44 (s, 1H, H-6), 11.37 (s ancho, 1H, NH).

15 **Análisis (%)** para C₃₆H₃₉N₃O₇: Calculado: C, 69.10; H, 6.28; N, 6.72. Encontrado: C, 68.97; H, 6.31; N, 6.80.

(*S*)-3'-*O*-[*N*-(*t*-Butoxicarbonil)alanil]-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina (3*b*)

20



25

30

35

A una disolución que contiene el compuesto 2 (100 mg, 0.19 mmol), Boc-L-Ala-OH (82 mg, 0.38 mmol) y PyBOP (118 mg, 0.23 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) se le añade Et₃N (66 µl, 0.47 mmol) en un baño de hielo. A continuación se le añade DMAP hasta pH = 11. La mezcla se agita a 0°C durante 4 h. Se diluye con CH₂Cl₂ (25 ml) y se lava con una disolución de ácido cítrico al 5% (10 ml). La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO₃ (10 ml) y salmuera (10 ml), se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se evapora. Se obtienen 72 mg (91%) como un sólido blanco.

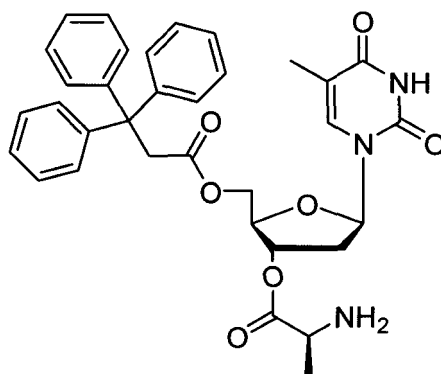
40

EM (ES, modo positivo): m/z 720 (M+Na)⁺

45 **¹H-RMN (DMSO-d₆):** δ 1.23 (d, *J* = 7.1, 3H, CH₃-β), 1.37 (s, 9H, (CH₃)₃), 1.72 (s, 3H, 5-CH₃), 2.14 (m, 1H, H-2'), 2.30 (m, 1H, H-2''), 3.83-4.00 (m, 6H, CH₂CO, H-4', H-5', CH-α), 4.94 (m, 1H, H-3'), 6.13 (dd, *J* = 6.5, 6.2 Hz, 1H, H-1'), 7.17-7.30 (m, 16H, CPh₃, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 11.36 (s, 1H, 3-NH).

50 3'-*O*-*L*-Alanil-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina (4*b*)

55



60

65

ES 2 341 603 B1

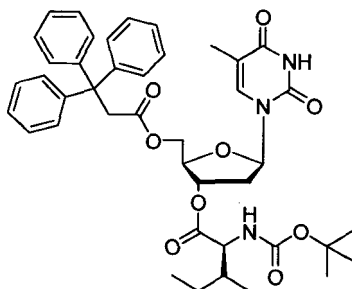
A una disolución del compuesto 3b (72 mg, 0.10 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) se le añade ácido trifluoroacético (79 μ l, 1.33 mmol). La mezcla se deja agitando a temperatura ambiente 1 h y se concentra hasta sequedad a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (10:1). Se obtienen 45 mg (72%) como un sólido blanco.

Pf: 86-87°C (CH₂Cl₂:MeOH)

EM (ES, modo positivo): m/z 598 (M+1)⁺

¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 1.15 (d, J = 6.9, 3H, CH₃- β), 1.71 (s, 3H, 5-CH₃), 2.19 (m, 1H, H-2'), 2.32 (m, 1H, H-2''), 3.00 (m, 1H, H- α), 3.83 (s, 2H, CH₂CO), 3.87-3.96 (m, 3H, H-4, H-5'), 4.94 (m, 1H, H-3'), 6.12 (m, 1H, H-1'), 7.13-7.26 (m, 15H, CPh₃), 7.43 (s, 1H, H-6), 11.35 (sancocho, 1H, NH).

(*S*)-3'-*O*-[*N*-(*t*-Butoxicarbonil)isoleucil]-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina (3c)

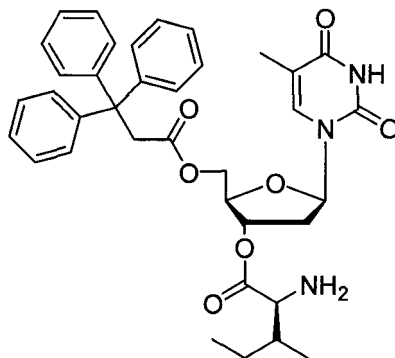


A una disolución que contiene el compuesto 2 (73 mg, 0.14 mmol), Boc-L-Ile-OH (64 mg, 0.28 mmol) y PyBOP (85 mg, 0.16 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml), se le añade Et₃N (48 μ l, 0.34 mmol) en un baño de hielo. A continuación se le añade DMAP hasta pH = 11. La mezcla se agita a 0°C durante 2h. Se diluye con CH₂Cl₂ (25 ml) y se lava con una disolución de ácido cítrico al 5% (10 ml). La fase orgánica se lava con una disolución saturada de NaHCO₃ (10 ml) y salmuera (10 ml), se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se evapora. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (10:1). Se obtienen 66 mg (65%) como un sólido blanco.

EM (ES, modo positivo): m/z 762 (M+Na)⁺

¹H-RMN (DMSO-d₆): δ 0.78-0.83 (m, 6H, CH₃- γ , CH₃- δ), 1.20 (m, 1H, CH'- γ), 1.37 (m, 10H, (CH₃)₃, CH''- γ), 1.71 (m, 4H, 5-CH₃, CH- β), 2.14 (m, 1H, H-2'), 2.31 (m, 1H, H-2''), 3.84-3.95 (m, 6H, CH₂CO, H-4', H-5', CH- α), 4.93 (m, 1H, H-3'), 6.13 (m, 1H, H-1'), 7.15-7.29 (m, 16H, CPh₃, NH), 7.42 (s, 1H, H-6), 11.35 (s, 1H, 3-NH).

5'-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-*O*-L-isoleuciltimidina (4c)



A una disolución del compuesto 3c (80 mg, 0.11 mmol) en CH₂Cl₂ (1 ml) se le añade ácido trifluoroacético (83 μ l, 1.10 mmol). La mezcla se deja agitando a temperatura ambiente 5 h y se concentra hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en CH₂Cl₂ (10 ml) y se lava con NaHCO₃ (10 ml). La fase orgánica se seca con MgSO₄ anhidro, se filtra y se evapora. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (10:1). Se obtienen 60 mg (87%) como un sólido blanco.

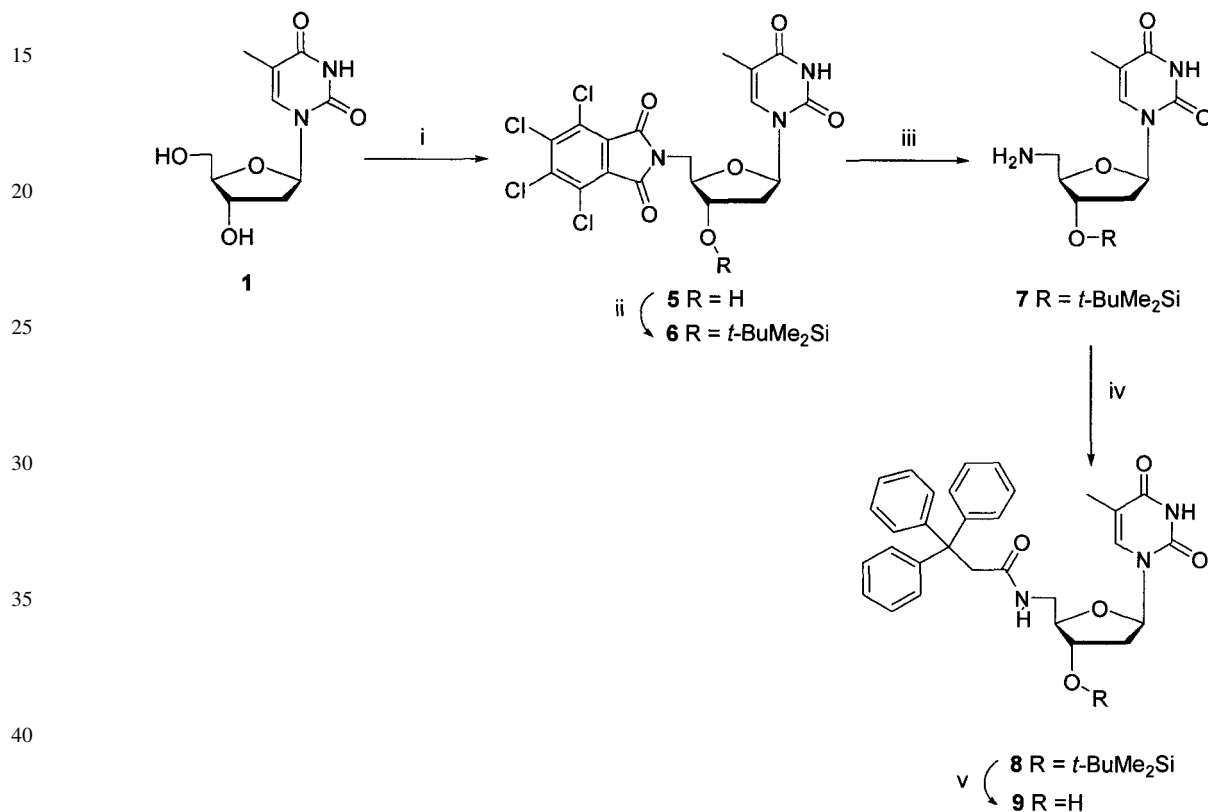
ES 2 341 603 B1

Pf: 78-79°C (CH₂Cl₂:MeOH)

EM (ES, modo positivo): m/z 640 (M+1)⁺

5 **¹H-RMN (DMSO-d₆):** δ 0.79-0.84 (m, 6H, CH₃-γ, CH₃-δ), 1.12 (m, 1H, CH'-γ), 1.40 (m, 1H, CH''-γ), 1.58 (m, 1H, H-β), 1.72 (s, 3H, 5-CH₃), 2.18 (m, 1H, H-2'), 2.34 (m, 1H, H-2''), 3.18 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H, H-α), 3.83 (s, 2H, CH₂CO), 3.88-4.00 (m, 3H, H-4, H-5'), 4.96 (m, 1H, H-3'), 6.12 (dd, *J* = 6.6, 6.3 Hz, 1H, H-1'), 7.14-7.30 (m, 15H, CPh₃), 7.44 (s, 1H, H-6), 11.36 (s ancho, 1H, NH).

10 *Síntesis del compuesto 9*



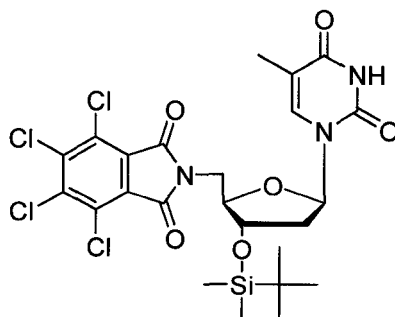
Esquema 3: donde el paso (I) se realizó según el procedimiento descrito en Tetzlaff, C. N. y col.; 1998 *Tetrahedron Letters*. 39, 4215-4218. (ii) cloruro de *t*-butildimetilsililo, DMF, imidazol, temperatura ambiente, 16 h. (iii) NH₂NH₂·H₂O, etanol, reflujo 1 h. (iv) ácido trifenilpropiónico, BOP (hexafluoruro de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio), CH₂Cl₂, Et₃N, temperatura ambiente, 16 h. (v) HCl 1N, tetrahidrofurano, temperatura ambiente, 16 h.

55 *5'-(1,3-Dihidro-1,3-dioxo-4,5,6,7-tetracloroisindol-2-il)-3'-O-(t-butildimetilsilil)-5'-desoxitimidina (6)*

55

60

65



ES 2 341 603 B1

A una disolución que contiene cloruro de *t*-butildimetilsililo (107 mg, 0.71 mmol) e imidazol (96 mg, 1.41 mmol) en DMF anhidra (2 ml), se le añade el compuesto 5 (obtenido por el procedimiento descrito en Tetzlaff, C. N. y col.; 1998 *Tetrahedron Letters*, 39, 4215-4218) (240 mg, 0.47 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche y se concentra hasta sequedad a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente un gradiente de acetato de etilo/hexano (1:2 a 1:1). Se obtienen 225 mg (77%) de un sólido blanco.

Pf: 110-112°C (CH₂Cl₂:MeOH)

EM (ES, modo positivo): *m/z* 622 (M+1)⁺ con distribución isotópica de Cl.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 0.90 (s, 9H, (CH₃)₃), 2.03 (s, 3H, 5-CH₃), 2.09 (m, 1H, H-2'), 2.31 (ddd, *J* = 13.5, 5.5, 2.4 Hz, 1H, H-2''), 3.86 (d, *J* = 7.0 Hz, 2H, H-5'), 4.24-4.30 (m, 2H, H-3', H-4'), 6.19 (dd, *J* = 8.0, 5.5 Hz, 1H, H-1'), 7.39 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H, H-6), 8.14 (s, 1H, 3-NH).

15

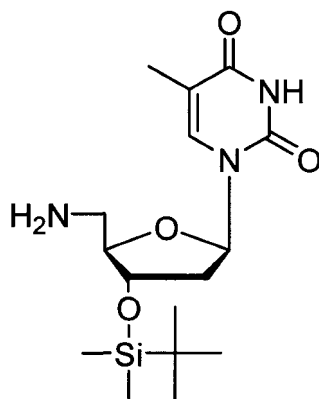
5'-Amino-3'-O-(tert-butildimetilsilil)-5'-desoximidina (7)

20

25

30

35



Este producto 7 ya había sido descrito por otro procedimiento (Luo, P. Z.; Leitzel, J. C.; Zhan, Z. Y. J.; Lynn, D. G. 1998, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 3019-3031).

40

A una suspensión de 6 (195 mg, 0.31 mmol) en EtOH (5 ml) se le añade hidrazina (49 μl, 1.00 mmol). La mezcla se calienta a reflujo durante 1 h. El precipitado blanco obtenido se filtra y se lava con EtOH. El filtrado se concentra hasta sequedad a presión reducida y se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente CH₂Cl₂/MeOH (10:2). Se obtienen 107 mg (96%) de 7 cuyos datos analíticos y espectroscópicos coinciden con los previamente descritos y que se detallan a continuación.

45

EM (ES, modo positivo): *m/z* 356 (M+1)⁺.

¹H-RMN (CDCl₃): δ 0.89 (s, 9H, (CH₃)₃), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃), 2.24 (m, 2H, H-2'), 2.89 (m, 1H, H-5'), 3.07 (m, 1H, H-5''), 3.84 (m, 1H, H-4'), 4.33 (m, 1H, H-3'), 6.19 (pseudo t, *J* = 6.5 Hz, 1H, H-1'), 7.31 (s, 1H, H-6).

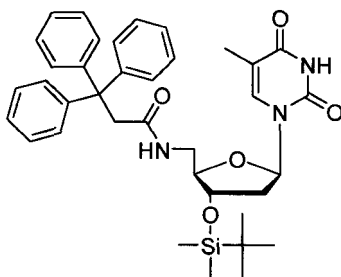
50

3'-O-(tButildimetilsilil)-5'-(3,3,3-trifenilpropanamido)-5'-desoximidina (8)

55

60

65



ES 2 341 603 B1

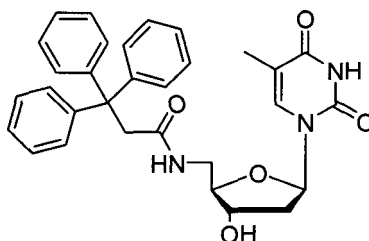
A una disolución de 7 (109 mg, 0.31 mmol) en CH_2Cl_2 (1.5 ml) se le añade ácido trifenilpropiónico (139 mg, 0.46 mmol), BOP (204 mg, 0.46 mmol) y Et_3N (64 μl , 0.46 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche y se concentra hasta sequedad a presión reducida. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en el Cromatotron usando como eluyente un gradiente de acetato de etilo/hexano (1:2 a 1:1). Se obtienen 186 mg (95%) de un sólido blanco.

Pf: 94-96°C (CH_2Cl_2 :MeOH)

EM (ES, modo positivo): m/z 641 (M+1)⁺.

¹H-RMN (DMSO- d_6): δ 0.84 (s, 9H, $(\text{CH}_3)_3$), 1.72 (s, 3H, 5- CH_3), 1.91 (m, 1H, H-2'), 2.02 (m, 1H, H-2''), 3.03 (m, 2H, H-5'), 3.49 (m, 1H, H-4'), 3.60 (s, 2H, CH_2), 4.14 (m, 1H, H-3'), 6.19 (pseudo t, $J = 7.1$ Hz, 1H, H-1'), 7.11-7.23 (m, 15H, CPh₃), 7.41 (s, 1H, H-6), 7.33 (t, $J = 5.6$ Hz, 1H, NH), 11.30 (s, 1H, 3-NH).

5'-*(3,3,3-Trifenilpropanamido)*-5'-desoxitimidina (9)



A una suspensión de 8 (70 mg, 0.11 mmol) en THF (1 ml) se le añade HCl 1N (328 μl). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se neutraliza con disolución saturada de NaHCO_3 (4 ml) y se diluye con acetato de etilo (10 ml). La fase orgánica se lava con H_2O , se seca con MgSO_4 anhidro, se filtra y se evapora. El crudo obtenido se purifica por CCTLC en Cromatotron usando como eluyente CH_2Cl_2 /MeOH (10:1). Se obtienen 53 mg (93%) de un sólido blanco.

Pf: 116-118°C (CH_2Cl_2 :MeOH)

EM (ES, modo positivo): m/z 526 (M+1)⁺.

¹H-RMN (DMSO- d_6): δ 1.72 (s, 3H, 5- CH_3), 1.97 (m, 2H, H-2'), 3.04 (m, 2H, H-5'), 3.49 (m, 1H, H-4'), 3.60 (dd, $J = 15.6, 2.0$ Hz, 2H, CH_2), 3.93 (m, 1H, H-3'), 5.16 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H, OH), 6.19 (pseudo t, $J = 6.7$ Hz, 1H, H-1'), 7.11-7.24 (m, 15H, CPh₃), 7.39 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H, H-6), 7.78 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, NH), 11.28 (s, 1H, 3-NH).

Análisis (%) para $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_5 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Calculado: C, 66.30; H, 6.28; N, 7.48. Encontrado: C, 65.94; H, 6.54; N, 7.58

Ejemplo 2

Capacidad inhibitoria del crecimiento de promastigotes en fase logarítmica de crecimiento por compuestos de la invención

Promastigotes de *Leishmania infantum* en fase logarítmica de crecimiento se incubaron en placas multipocillo en 200 μL de medio de cultivo a una concentración de 100.000 parásitos por ml. A los controles positivos de crecimiento se les añadió un volumen de 5 μl de dimetilsulfóxido(DMSO). Cada uno de los compuestos 3, 4 y 9, se añadió a los cultivos a una concentración de 12 μM en un volumen de 5 μl de DMSO. La evaluación del crecimiento de los parásitos se realizó mediante la adición en el momento del inicio del cultivo de 20 μl de Alamar Blue, para alcanzar una concentración final del 10%. El número de células presentes en cada uno de los pocillos se estimó a las 24 horas mediante medida de las absorbancias a 570 nm y 630 nm, según el método descrito por el fabricante (Biosource TM). El porcentaje de inhibición del crecimiento de cada uno de los compuestos se estimó por comparación con el crecimiento de los controles con DMSO.

Los resultados obtenidos muestran una fuerte capacidad inhibitoria del crecimiento de los parásitos en el caso de los compuestos 4a y 4c. Los compuestos 3a y 4b manifiestan un moderado efecto inhibitorio, mientras que los compuestos 2 y 9 muestran una ligera disminución de la proliferación de los parásitos.

TABLA 1

Porcentaje de inhibición del crecimiento de promastigotes logarítmicos de *Leishmania infantum* en medio de cultivo

Compuesto	% inhibición crecimiento \pm DE [compuesto]=12 μ M Tiempo ensayo: 24h
2	10 \pm 2
3a	65 \pm 2
4a	80 \pm 3
4b	35 \pm 1
4c	96 \pm 1
9	17 \pm 1

Caracterización del proceso de muerte causado por el compuesto 4a en promastigotes de *Leishmania infantum* en fase logarítmica de cultivo

La muerte de las células eucariotas va asociada a una serie de procesos celulares característicos como son una pérdida de la actividad mitocondrial, una alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática y, en ciertos casos, una degradación del DNA nuclear. Los tres procesos han sido estudiados en promastigotes de *L. infantum* durante el proceso de muerte inducida por tratamiento con el compuesto 4a.

En la Tabla 2 se muestran los porcentajes de promastigotes que presentan las siguientes alteraciones celulares: i) pérdida de la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática, ii) Degradación del DNA nuclear y iii) caída del potencial de membrana mitocondrial.

El porcentaje de parásitos en los que se ha producido una pérdida de la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática se determinó por citometría de flujo tras incubación de los parásitos con Ioduro de Propidio 5 μ M. Los resultados indican que un 29% de los parásitos pierden la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática tras 24 horas de tratamiento con el compuesto 4a a 6 μ M. El porcentaje se eleva al 78% cuando los parásitos son tratados con el compuesto 4a a 12 μ M.

El porcentaje de parásitos que muestran una degradación de su DNA nuclear se determinó por citometría de flujo tras permeabilizar la membrana de los parásitos con etanol y teñir el DNA intracelular por incubación con Ioduro de Propidio. Los resultados obtenidos muestran que un 16% de los parásitos muestra degradación de su DNA tras el tratamiento durante 24 horas con el compuesto 4a. Este porcentaje aumenta hasta el 63% si la concentración del compuesto 4a se eleva hasta 12 μ M.

El potencial de membrana mitocondrial se determinó por citometría de flujo usando como sonda el metil éster de tetrametil rodamina (TMRM). Los resultados obtenidos indican que un 31% de los parásitos muestran una disminución en su potencial de membrana mitocondrial tras 24 horas de tratamiento con el compuesto 4a. Este porcentaje aumenta hasta el 88% tras el tratamiento con el compuesto 4a a 12 μ M.

ES 2 341 603 B1

TABLA 2

Estudio de las alteraciones de la permeabilidad de la membrana plasmática, la degradación del DNA nuclear y la caída del potencial de membrana mitocondrial en promastigotes de *Leishmania infantum* tratados con Compuesto 4a

Tratamiento	% Ioduro propidio +	% Bajo potencial membrana mitocondrial	% células hipoploides
DMSO	2 %	5 %	4 %
Compuesto 4a 6µM	29 %	31 %	16 %
Compuesto 4a 12µM	78 %	88 %	63 %

Comparación del efecto citotóxico del compuesto 4a en células humanas (Jurkat) y promastigotes de *Leishmania*

El efecto citotóxico del compuesto 4a en promastigotes de *L. infantum* y en células humanas se evaluó por citometría de flujo mediante el análisis de los parámetros de Tamaño/complejidad celular (Forward scatter and Side Scatter; FSC/SSC). Los resultados obtenidos (tabla 3) indican que, tras 24 horas de incubación con una concentración de 12,5 µM del compuesto 4a, tan sólo el 14% de los parásitos permanecen vivos. A esta misma concentración el 87% de las células Jurkat son viables. A una concentración de 25 µM de compuesto 4a en las mismas condiciones de cultivo no es posible detectar parásitos vivos, mientras que un 57% de las células Jurkat se mantienen viables.

TABLA 3

Comparación de la toxicidad celular de Compuesto 4a en células humanas (Jurkat) y promastigotes del *Leishmania infantum*

	<i>L. infantum</i> % Células vivas	Células Jurkat % Células vivas
Compuesto 4a 12,5 µM	14 %	87 %
Compuesto 4a 25 µM	0%	57 %

Comparación del efecto citotóxico de compuesto 4a y miltefosina en promastigotes de *Leishmania infantum*

La comparación del efecto citotóxico de ambos compuestos frente a promastigotes logarítmicos de *Leishmania infantum* se llevó a cabo mediante análisis de la incorporación de ioduro de propidio por las células en un citómetro de flujo.

Los resultados indican una actividad leishmanicida claramente superior de 4a en el rango de concentraciones entre 12 y 25 µM. (tabla 4).

TABLA 4

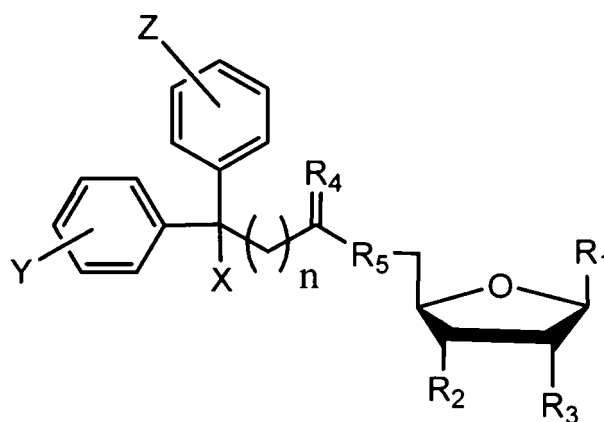
Comparación de la actividad citotóxica de 4a y miltefosina en promastigotes de *Leishmania infantum*

Concentración compuesto	%Parásitos muertos 4a	% Parásitos muertos Miltefosina
12 μ M	85 %	3 %
25 μ M	100 %	9 %

El estudio del efecto causado sobre el crecimiento y supervivencia celular de promastigotes de *Leishmania infantum* tras el tratamiento con los compuestos aquí recogidos y que son nuevos indica que dichos compuestos tienen una clara actividad citotóxica a concentraciones en torno a 10 μ M. La toxicidad de 4a sobre células humanas es sensiblemente inferior, lo que indica que dichos compuestos pueden constituir una alternativa razonable a los fármacos actualmente empleados para el tratamiento de la enfermedad, todos ellos altamente citotóxicos para el paciente. Por otra parte, los compuestos descritos muestran una mayor citotoxicidad en los parásitos que la miltefosina, uno de los fármacos más modernos utilizados en el tratamiento de la enfermedad en humanos.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula general (I):



(I)

donde:

Z se selecciona de la lista que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₄) ó alcóxido;

Y se selecciona de la lista que comprende hidrógeno, halógeno, alquilo (C₁-C₄) ó alcóxido;

X es un grupo arilo o un grupo heteroarilo;

R₁ es una base nitrogenada;

R₂ es un hidroxilo o un grupo éster;

R₃ se selecciona de la lista que comprende hidrógeno, hidroxilo ó alcóxido;

R₄ es O ó S;

R₅ es O ó NH; y

n toma los valores de 1 ó 2.

2. Compuesto según la reivindicación 1, donde Z y/o Y son hidrógeno.

3. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, donde X es el grupo fenilo.

4. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde R₁ se selecciona de la lista que comprende timina, uracilo, citosina, guanina, adenina o hipoxantina.

5. Compuesto según la reivindicación 4, donde R₁ es timina.

6. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R₃ es hidrógeno.

7. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde R₂ es un aminoácido, libre o protegido.

8. Compuesto según la reivindicación 7, donde el aminoácido es valil, alanil o isoleucil.

9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde R₄ es oxígeno.

10. Compuesto según la reivindicación 1, de fórmula:

5'-O-(3,3,3-Trifenilpropanoil)timidina;

(S)-3,-O-[N-(t-Butoxicarbonil)valil]-5'-O-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;

ES 2 341 603 B1

5'-*O*-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-*O*-L-valiltimidina;

(S)-3'-*O*-[*N*-(*t*-Butoxicarbonil)alanil]-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;

5 3'-*O*-L-Alanil-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;

(S)-3'-*O*-[*N*-(*t*-Butoxicarbonil)isoleucil]-5'-*O*-(3,3,3-trifenilpropanoil)timidina;

5'-*O*-(3,3,3-Trifenilpropanoil)-3'-*O*-L-isoleuciltimidina; o

10

5'-*O*-(3,3,3-Trifenilpropanamido)-5'-desoxitimidina.

15 11. Uso del compuesto de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para la elaboración de una composición farmacéutica.

12. Uso del compuesto de fórmula general (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por *Leishmania*.

20 13. Uso del compuesto según la reivindicación anterior, para el tratamiento de la enfermedad en humanos o animales.

14. Composición farmacéutica que comprende al menos uno de los compuestos de fórmula general (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

15. Composición farmacéutica según la reivindicación anterior, que además comprende otro principio activo.

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 341 603

② Nº de solicitud: 200803552

③ Fecha de presentación de la solicitud: 15.12.2008

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07H 19/02** (2006.01)
A61K 31/70 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	US 5420115 A (TISDALE, S. M. et al.) 30.05.1995. Ver columna 1, líneas 46-60; columna 13, ejemplo 1.	1-15
A	US 4918179 A (WATANABLE, K. A. et al.) 17.04.1990. Ver columna 1, líneas 15-20 y 65-68; columna 2, líneas 1-42.	1-15
A	US 5750675 A (WATANABLE, K. A. et al.) 12.05.1998. Ver columna 7, líneas 39-67; columnas 8 y 9; columna 10, líneas 1-22; columna 32, líneas 44-67.	1-15
A	LIEKENS, S. et al."5'-O-Tritylated Nucleoside Derivatives: Inhibition of Thymidine Phosphorylase and Angiogenesis". Molecular Pharmacology 2006, Volumen 70, páginas 501-509. Ver página 501, resumen; página 503, Figura 1.	1-15

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

<p>Fecha de realización del informe 02.06.2010</p>	<p>Examinador N. Martín Laso</p>	<p>Página 1/4</p>
---	---	-----------------------

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07H, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, MEDLINE, BIOSIS, REGISTRY, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 02.06.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SÍ
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-15	SÍ
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	US 5420115 A	30-05-1995
D02	US 4918179 A	17-04-1990
D03	US 5750675 A	12-05-1998
D04	Molecular Pharmacology, 2006, Volumen 70, páginas 501-509.	2006

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La solicitud se refiere a nucleósidos de fórmula general I, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades infecciosas causadas por Leishmania.

El documento D01 divulga nucleósidos funcionalizados con un grupo éster (propionato) en posición 5' del nucleósido y sustituidos por un grupo fluor en posición 2' (columna 13, ejemplo 1). Dichos nucleósidos fluorados han sido utilizados para el tratamiento de la leishmaniasis (columna 1, líneas 46-60).

El documento D02 divulga nucleósidos funcionalizados con grupos éster (entre los que se encuentra el grupo propionato) en posición 5' del nucleósido y sustituidos por un grupo fluor en posición 2' (columna 1, líneas 65-68; columna 2, líneas 1-42). Los nucleósidos de purina fluorados presentan actividad antiparasitaria, especialmente contra Leishmanis trópica (columna 1, líneas 15-20).

El documento D03 divulga nucleósidos funcionalizados con distintos éteres (triaril-oxi-metil) en posición 5' del nucleósido. Divulga igualmente los derivados fluorados de dichos compuestos, los cuales presentan actividad inhibitoria contra Leishmania (columna 7, líneas 39-67; columnas 8 y 9; columna 10, líneas 1-22; columna 32, líneas 44-67).

El documento D04 divulga nucleósidos funcionalizados con grupos éter (triaril-oxi-metil) en posición 5' del nucleósido y grupos H o hidroxilo en posición 2', dichos compuestos son potenciales agentes anticancerígenos (página 501, resumen; página 503, Figura 1).

Aunque los documentos D01-D04 divulgan nucleósidos estructuralmente semejantes a los definidos en la solicitud, se considera que ninguno de dichos documentos divulgan, ni dirigen al experto en la materia hacia nucleósidos funcionalizados en posición 5' por grupos amida, tioamida, tioéster o éster como los definidos en la reivindicación 1 de la solicitud y que no presenten fluor en la posición 2' del nucleósido.

Por lo tanto, la invención definida en las reivindicaciones 1-15 de la solicitud es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).