



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 633**

51 Int. Cl.:
C07K 14/00 (2006.01)
A61K 38/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07786231 .6**
96 Fecha de presentación : **20.07.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2041161**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **01.04.2009**

54 Título: **Compuestos quirales sustituidos con ésteres de ácidos fosfónicos o con ácidos fosfónicos.**

30 Prioridad: **21.07.2006 DE 10 2006 034 319**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.06.2011

73 Titular/es: **Ugichem GmbH**
Mitterweg 24
6020 Innsbruck, AT

72 Inventor/es: **Lindhorst, Thomas;**
Werner, Birgit y
Bock, Holger

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 361 633 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).

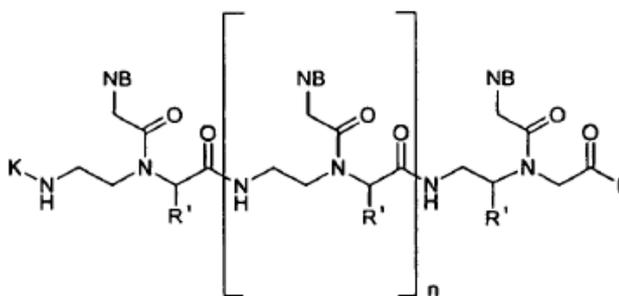
DESCRIPCIÓN

Compuestos quirales sustituidos con ésteres de ácidos fosfónicos o con ácidos fosfónicos

- 5 El presente invento se refiere a nuevos compuestos, que contienen unidades de PNA sustituidas con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, y que tienen por lo menos dos centros quirales.

Después de la primera infección de una célula anfitriona con un virus de la IH (inmunodeficiencia humana), los conocidos compuestos antivíricos (p.ej. el indinavir) muestran un efecto solamente sobre la primera generación filial vírica inmediata, al interrumpir ellos el ciclo de replicación. Esto conduce a una disminución medible del número de los virus en comparación con células anfitrionas no tratadas. No obstante, esta reducción del número de virus no se realiza en un 100 %. Si se aíslan los virus sobrevivientes, entonces ellos siguen estando en situación de infectar a unas células anfitrionas que no habían sido infectadas previamente, y de pasar por un ciclo completo de replicación.

- 15 Los PNAs (acrónimo de peptide nucleic acids = ácidos nucleicos peptídicos) son unos compuestos sintéticos análogos a ADN/ARN con un armazón de N-(2-aminoetil)-glicina (**NB** = nucleobase, $n = 0-50$; R^1 , **K**, **L** = sustituyentes). Ellos se preparan mediante unión de enlaces peptídicos entre eslabones de N-acetil-N-(2-aminoetil)-glicina (monómeros de PNA). Cada uno de estos eslabones de N-acetil-N-(2-aminoetil)glicina individualmente constituye una unidad de PNA.



- 20 Los PNAs son resistentes frente a una disociación hidrolítica (enzimática) en condiciones fisiológicas. Es conocido el hecho de que los PNAs reconocen a unas secuencias complementarias de ácidos nucleicos (de ADN o ARN) de un modo específico para las secuencias, y que se pueden fijar a éstos con una afinidad más alta que sus modelos naturales (M. Egholm, O. Buchardt, L. Christensen, C. Behrens, S.M. Freier, D.A. Driver, R.H. Berg, S.K. Kim, B. Norden, P.E. Nielsen, *Nature*, **1993**, 365, 566-568. B. Hyrup, P.E. Nielsen, *Bioorg. Med. Chem.*, **1996**, 4, 5-23).

Los PNAs se emplean, por ejemplo, como oligómeros antisentido. En este caso, mediante una hibridación de un oligómero antisentido con el ARNm que es específico para una proteína, se inhibe la expresión de la proteína en el plano de la traducción. A causa de estas propiedades, los PNAs son unos compuestos adecuados para su utilización p.ej. como agentes de diagnóstico.

Las moléculas de PNA conocidas tienen la desventaja de que ellas, comparadas con las de ADN, son difícilmente solubles en agua. Además, el paso a través de la membrana celular constituye un problema general para los PNAs, con lo que la asimilación en células solamente tiene lugar de un modo extremadamente lento.

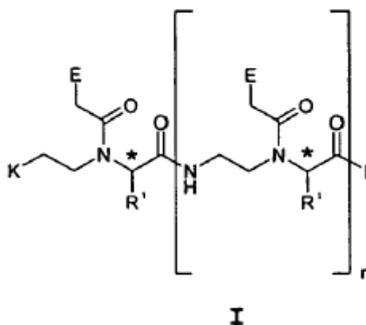
35 A partir del documento de patente de los EE.UU. US 5719262 se conocen unos PNAs, en los que, por medio de unas funciones de amina situadas junto al radical R^1 , se podía aumentar la solubilidad en agua. Sin embargo, también los PNAs modificados de tal manera siguen poseyendo una mala capacidad de acceso a las células. De esta manera, está fuertemente restringida la utilización de los PNAs como sustancias activas antisentido en organismos vivos.

A partir del documento de patente europea EP 1157031 se conocen unos oligómeros que tienen una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos. Los oligómeros modificados de tal manera tienen una mejor capacidad de acceso a las células en comparación con los PNAs que no contienen estos sustituyentes.

45 No obstante, una buena capacidad de acceso a las células de los oligómeros antisentido a solas no es suficiente para conseguir un fuerte efecto de la represión de la expresión génica en sistemas biológicos.

La misión del presente invento es, por lo tanto, poner a disposición unos compuestos, que estén en situación no solamente de disminuir el número de los virus de la primera generación filial, sino que además de esto tengan un reforzado efecto reductor sobre el número de los virus de la segunda generación filial, así como sus aplicaciones. De esta manera, se obtiene una clase de sustancias, que están en situación de mostrar una actividad a lo largo de dos generaciones de virus.

El problema planteado por esta misión se resuelve mediante unos compuestos de la fórmula general I:



5 en la que

n es un número entero de 7 a 35, de manera preferida de 9 a 28, de la manera más grandemente preferida de 13 a 20.

10 Los **E** son, independientemente unos de otros, un átomo de H, un radical fenilo sustituido o sin sustituir, un heterociclo sustituido o sin sustituir, una nucleobase sustituida eventualmente con grupos protectores, p.ej. una nucleobase que se presenta en la naturaleza o que no se presenta en la naturaleza, o un agente intercalador de ADN.

15 De manera preferida, cada uno de los **E** es, independientemente unos de otros, un radical adeninilo, citosinilo, pseudoisocitosinilo, guaninilo, timinilo, uracililo o fenilo.

20 Cada uno de los radicales **R**¹ es, independientemente unos de otros, un átomo de H o un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, con hasta 20 átomos de C, realizándose que por lo menos un radical **R**¹ no es un átomo de H y ésta sustituido con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.

25 Cuando el radical **R**¹ no está sustituido con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, él puede tener p.ej. también, independientemente unos de otros, una o varias cadenas laterales de un aminoácido natural o no natural, de manera preferida un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, con hasta 20 átomos de C.

30 De manera preferida, cada uno de los radicales **R**¹ comprende, independientemente unos de otros, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de C.

Cada uno de los radicales **R**¹, independientemente unos de otros, puede estar ramificado o sin ramificar.

35 La expresión "eventualmente sustituido" se refiere a unos grupos, en los que uno o varios átomos de hidrógeno están reemplazados por átomos de flúor, cloro, bromo o yodo o por grupos -COOH, COOR⁸, -CSOH, CSOR⁸, -COSH, COSR⁸, -CONH₂, -CONHR⁸, -COR¹⁰R¹¹, -OH, -OR⁸, =O, -SH, -SR⁸, =S, -NH₂, =NH, -NHR⁹, -NR¹⁰R¹¹, -NR¹²NOH, -NOR¹³, NO₂, o por funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos. Esta expresión se refiere además a unos grupos, que están sustituidos con grupos alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, heteroalquilo de C₁-C₆, cicloalquilo de C₃-C₁₀, heterocicloalquilo de C₂-C₉, arilo de C₆-C₁₀, heteroarilo de C₅-C₉, aralquilo de C₇-C₁₂ o heteroaralquilo de C₂-C₁₁, sin sustituir, siendo los **R**⁸, **R**⁹, **R**¹⁰, **R**¹¹, **R**¹² y **R**¹³, independientemente unos de otros, radicales alquilo de C₁-C₆.

45 Las funciones de ésteres de ácidos fosfónicos pueden tener, por ejemplo, la fórmula -P(=O)(OV)₂ o -P(=O)(OV)(OH). En este caso, cada uno de los **V** puede significar, independientemente unos de otros, un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico sin sustituir, con hasta 20 átomos de C, de manera más grandemente preferida con hasta 7 átomos de C, y de la manera más grandemente preferida puede ser un radical metilo, etilo, ciclohexilo o bencilo.

En el caso de los compuestos conformes al invento, las funciones de ácidos fosfónicos pueden tener por ejemplo la fórmula -P(=O)(OH)₂.

50 De la manera más grandemente preferida, cada uno de los radicales **R**¹ se escoge, independientemente unos de otros, entre un grupo de la fórmula alquilo de (C₁-C₁₀)-[P(=O)(O-V)₂], siendo cada uno de los **V**, independientemente unos de otros, un átomo de H, o un radical metilo, etilo, ciclohexilo o bencilo.

- 5 **K** es un grupo de la fórmula $-NR^2R^3$, $-N^{\oplus}R^2R^3R^4$, $-NR^2(CO)R^3$ o $-NR^2(CS)R^3$, siendo los R^2 , R^3 y R^4 , independientemente unos de otros, un átomo de H, un radical alquilo, un grupo protector de amino, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un agente extintor de FRET (acrónimo de Fluoreszenz Resonanz Energie Transfer = un agente extintor de la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia) o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales precedentes.
- 10 De manera preferida, **K** es una función NH_2 , un radical $-NH(CO)CH_3$, un grupo de la fórmula $-NR^2R^3$ o $-N^{\oplus}R^2R^3R^4$ o $-NR^2(CO)R^3$, siendo los R^2 , R^3 y R^4 , independientemente unos de otros, un átomo de H, un aminoácido, un péptido o un radical alquilo no sustituido o sustituido con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, pudiendo cada uno de los radicales antes mencionados estar eventualmente sustituido.
- 15 **L** es un grupo de la fórmula $-NR^5R^6$, $-NR^5(CO)R^6$, $-NR^5(CS)R^6$, $-OR^7$ o $-SR^7$, siendo los R^5 y R^6 , independientemente uno de otro, un átomo de H, un radical alquilo, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, una amida de un aminoácido, un péptido, una amida de un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un agente extintor de FRET o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales antes mencionados, y siendo R^7 un átomo de H, un radical alquilo, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, una amida de un aminoácido, un péptido, una amida de un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un agente extintor de FRET o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales antes mencionados.
- 20
- 25 De manera preferida, **L** es una función OH, una función NH_2 , una función $-NH$ -alquilo de (C_1-C_5) , una unidad, no sustituida o sustituida con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, de un aminoácido, de una amida de un aminoácido, de un péptido o de una amida de un péptido, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales antes mencionados.
- 30 En toda la solicitud de patente, los radicales alquilo pueden tener de manera preferida de 1-6 átomos de C, p.ej. pueden ser grupos metilo, etilo, propilo o butilo.
- 35 Cuando R^1 no es un átomo de H, mediante la unión del radical R^1 con el entramado del compuesto general **I**, junto al sitio de la unión resulta un centro asimétrico (*). Junto a cada centro asimétrico se presenta por consiguiente una configuración R o una configuración S.
- 40 En este caso, la configuración preferiblemente junto al centro asimétrico se define de una manera análoga a las reglas de Cahn, Ingold y Prelog, con la condición adicional de que la prioridad de los ligandos se define siempre de la siguiente manera: Al átomo de nitrógeno situado junto al centro asimétrico se le asigna siempre la prioridad 1. Al átomo de carbono del grupo carboxilo situado junto al centro asimétrico se le asigna siempre la prioridad 2. Al átomo de carbono del radical R^1 situado junto al centro asimétrico se le asigna siempre la prioridad 3. Al átomo de hidrógeno situado junto al centro asimétrico se le asigna siempre la prioridad 4.
- 45 En el documento EP 1157031 se describen unos oligómeros, que se preparan exclusivamente a partir de monómeros racémicos, sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos. Por ejemplo, en el caso de un oligómero constituido por 15 monómeros racémicos existen 2^{15} diferentes combinaciones de los estereocentros (*) o 32.768 diferentes estereoisómeros. Allí se obtiene una mezcla de los compuestos con diferentes propiedades químicas y físicas.
- 50 Al contrario que los compuestos descritos en el documento EP 1157031, los compuestos conformes al invento, aquí descritos, se preparan de manera preferida con unos monómeros enantioméricamente puros, de manera preferida con unos monómeros sustituidos con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.
- 55 Conforme al invento, los compuestos de la fórmula general **I** tienen por lo menos 2 centros asimétricos, y por lo menos un 70 % del número de los centros asimétricos, que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, tienen la configuración R o la configuración S, cuando en el compuesto de la fórmula general **I** están presentes de 2 a 36 centros asimétricos y de 1 a 36 radicales R^1 eventualmente sustituidos con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.
- 60 De acuerdo con una forma adicional de realización del invento, uno de cada dos radicales R^1 corresponde, independientemente unos de otros, a la cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, de manera preferida a un radical alquilo, alquenoilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y por lo menos un radical R^1 es un radical alquilo, alquenoilo, alquilarilo, arilo o alicíclico, que está

sustituido eventualmente con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, siendo átomos de H los restantes radicales R^1 .

5 De acuerdo con una adicional forma preferida de realización del invento, uno de cada tres radicales R^1 corresponde, independientemente unos de otros, a la cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, de manera preferida a un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y por lo menos un radical R^1 es un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y está sustituido con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, siendo átomos de H los restantes radicales.

10 De acuerdo con una adicional forma preferida de realización del invento, dos, tres o más radicales R^1 contiguos corresponden, independientemente unos de otros, a la cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, de manera preferida a un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y por lo menos un radical R^1 es un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y está sustituido con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, siendo átomos de H los restantes radicales R^1 .

15 De acuerdo con una adicional forma preferida de realización del invento, cada uno de los R^1 corresponde, independientemente unos de otros, a la cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, de manera preferida a un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y por lo menos un radical R^1 es un radical alquilo, alqueniilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, y está sustituido con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.

20 De acuerdo con una adicional forma preferida de realización del invento, uno o varios de los radicales R^1 tiene(n), independientemente unos de otros, por lo menos una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico.

25 De acuerdo con otras formas preferidas de realización del presente invento es válido lo siguiente:

30 1. Si en el compuesto de la fórmula general I están presentes de 2 a 8 centros asimétricos y de 1 a 8 radicales R^1 eventualmente sustituidos con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, tiene la configuración R por lo menos un 75 % del número de los centros asimétricos que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, de manera preferida un 80 %, de manera más preferida un 85 %, de manera aún más preferida un 90 %, de manera todavía más preferida un 95 %, y de la manera más preferida un 100 %.

35 2. Si en el compuesto de la fórmula general I están presentes de 9 a 36 centros asimétricos y de 1 a 36 radicales eventualmente sustituidos R^1 con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, tiene la configuración R por lo menos un 75 % de los centros asimétricos que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, de manera preferida un 80 %, de manera más preferida un 85 %, de manera aún más preferida un 90 %, de manera todavía más preferida un 95 % y de la manera más preferida un 100 %.

40 De acuerdo con unas preferidas formas alternativas de realización del presente invento es válido lo siguiente:

45 1. Si en el compuesto de la fórmula general I están presentes de 2 a 8 centros asimétricos y de 1 a 8 radicales R^1 eventualmente sustituidos, con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, tiene la configuración S por lo menos un 75 % del número de los centros asimétricos que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, de manera preferida un 80 %, de manera más preferida un 85 %, de manera aún más preferida un 90 %, de manera todavía más preferida un 95 % y de la manera más preferida un 100 %.

50 2. Si en el compuesto de la fórmula general I están presentes de 9 a 36 centros asimétricos y de 1 a 36 radicales R^1 eventualmente sustituidos, con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, tiene la configuración S por lo menos un 75 % del número de los centros asimétricos que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, de manera preferida un 80 %, de manera más preferida un 85 %, de manera aún más preferida un 90 %, de manera todavía más preferida un 95 % y de la manera más preferida un 100 %.

55 60 En otra forma adicional de realización, como máximo un 50 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

En otra forma adicional de realización, como máximo un 40 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

5 En otra forma adicional de realización, como máximo un 30 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

En otra forma adicional de realización como máximo un 20 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

10 En otra forma adicional de realización, como máximo un 10 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

15 En otra forma adicional de realización, como máximo un 4 % del número de los radicales R^1 están sustituidos con funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos y los demás radicales R^1 restantes son átomos de H.

En otra forma preferida de realización del invento, todos los centros asimétricos (*) del compuesto general I tienen la misma configuración.

20 En otra forma preferida de realización del presente invento, todos los centros asimétricos (*) del compuesto general I tienen la configuración S.

En otra forma preferida de realización del presente invento, todos los centros asimétricos (*) del compuesto general I tienen la configuración R.

25 Además, conforme al invento se divulgan unas composiciones, que contienen uno o varios compuestos conformes al invento eventualmente en combinación con coadyuvantes usuales.

30 La síntesis de los compuestos de la fórmula general I se efectúa de manera preferida a partir de monómeros enantioméricamente puros. Durante la síntesis de los compuestos de la fórmula general I, unos centros asimétricos individuales, debido a las condiciones químicas de la síntesis, pueden modificar en un pequeño porcentaje su configuración antes definida. Sin embargo, el mayor porcentaje de los compuestos que se han formado durante la síntesis de los compuestos de la fórmula general I, son estereoisoméricamente puros. También estas composiciones están en situación de cumplir la misión conforme al invento.

35 Un compuesto de la fórmula general I puede estar unido a través de los radicales K y L como engarzadores con un segundo compuesto de la fórmula general I, estando definidos los radicales tal como se ha hecho más arriba. La configuración en los centros asimétricos de uno de los compuestos de la fórmula general I es en este caso independiente de la configuración en los centros asimétricos del segundo compuesto de la fórmula general I, que está unido a través de los engarzadores. Así, por ejemplo, todos los centros asimétricos de uno de los compuestos de la fórmula general I pueden tener la configuración R y todos los centros asimétricos del segundo compuesto unido de la fórmula general I pueden tener la configuración S. También por ejemplo, todos los centros asimétricos de uno de los compuestos de la fórmula general I pueden tener la configuración R y todos los centros asimétricos del segundo compuesto unido de la fórmula general I pueden tener la configuración R.

40 El engarzador sirve en particular para ajustar la distancia entre dos compuestos de la fórmula general I de tal manera que entre los compuestos de la fórmula general I con un engarzador y un ARN o un ADN monocatenario o respectivamente un ADN bicatenario pueda tener lugar una interacción recíproca a través de las respectivas nucleobases.

50 Como engarzadores se adecuan todas las moléculas de engarzadores, que se emplean o respectivamente son empleables para esta finalidad. Por ejemplo, un tal engarzador puede ser una cadena de alquilo eventualmente sustituido, un péptido, un oligonucleótido o un oligómero, que está constituido por al menos tres unidades de ácido 8-amino-3,6-dioxa-octanoico (unidades eg1).

55 La sustitución con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico junto al radical R^1 es responsable en principio de la capacidad de acceso a las células de los compuestos conformes al invento. Sorprendentemente, la capacidad de acceso a las células de los compuestos conformes al invento se conserva o respectivamente solamente se hace ligeramente peor, cuando no está presente un radical R^1 sustituido en cada una de las posibles posiciones, por lo tanto cuando el número de las funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o respectivamente de ácidos fosfónicos, y por consiguiente el número de los centros asimétricos se haya reducido en los compuestos conformes al invento.

60 En este contexto, también se conserva la buena capacidad de acceso a las células de los compuestos conformes al

invento en un tejido vivo. Así, en un experimento, unos peces Medaka fueron mantenidos durante dos días en una solución de compuestos conformes al invento, que habían sido marcados con un colorante fluorescente. Luego, los peces fueron transferidos a un agua fresca, con el fin de eliminar por lavado los compuestos conformes al invento, que no han penetrado en el tejido del tracto gastrointestinal, de nuevo fuera del tracto gastrointestinal. A continuación, los peces fueron examinados en diferentes días bajo un microscopio de fluorescencia. Los resultados muestran que los compuestos conformes al invento se sitúan tanto en el tracto gastrointestinal como también en la vejiga natatoria del pez Medaka. La penetración en la pared intestinal del pez se pudo detectar también mediante cortes tisulares del intestino. Esto hace que los compuestos conformes al invento sean especialmente valiosos para combatir enfermedades del tracto gastrointestinal, tales como, por ejemplo, un cáncer de intestino o la enfermedad de Crohn, o para el tratamiento de la obesidad.

El número y el orden de sucesión de los radicales R^1 , que están sustituidos con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico, se pueden escoger libremente conforme al invento. Así, por ejemplo, cada uno, uno de cada dos, uno de cada tres, uno de cada cuatro, uno de cada cinco, uno de cada seis, uno de cada siete, uno de cada ocho, uno de cada nueve o uno de cada diez de los radicales R^1 está sustituido con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico. Las sustituciones con las funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o respectivamente de ácidos fosfónicos pueden presentarse regularmente o en posiciones arbitrarias.

Además, también varios radicales R^1 pueden estar sustituidos consecutivamente con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico (disposición contigua). En este caso, en el compuesto de la fórmula general I pueden estar contenidas también varias de estas disposiciones contiguas.

Sin embargo, también por ejemplo solamente radicales R^1 individuales pueden estar sustituidos en unas posiciones arbitrarias con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico.

Las posiciones con los radicales R^1 individuales, consecutivos, que están sustituidos con una función de éster de ácido fosfónico o respectivamente de ácido fosfónico, pueden ser arbitrarias.

En el caso de los compuestos conformes al invento, los autores del invento han comprobado un nuevo principio de acción con una capacidad de acceso a las células que sigue siendo buena, así como un efecto sorprendentemente fuerte.

En el caso de experimentos in vitro en células con los compuestos conformes al invento, en el caso de la primera infección de células anfitrionas (primer experimento) por virus de la IH, en la primera generación filial de virus se pudo observar una reducción aparentemente solamente pequeña del número de los virus formados frente a un testigo no tratado. Esto señalaría la existencia de un débil efecto antisentido, tal como lo entiende hasta ahora un experto en la especialidad.

El número de los virus de la IH se determinó en este caso a través de un ensayo ELISA de p24 cuantitativo normalizado, puesto que la cantidad de la proteína p24 vírica formada es considerada por lo general como proporcional al número de los virus IH formados.

El medio celular infeccioso (material sobrenadante) de la primera generación filial de virus se puede aislar a partir de las células anfitrionas mediante una separación por centrifugación. Con este material sobrenadante, en unos experimentos consecutivos, se pueden infectar unas células anfitrionas nuevas, que previamente no habían sido infectadas todavía (segunda infección), no efectuándose ninguna adición renovada de los compuestos conformes al invento. Con el fin de permanecer dentro del intervalo de medición del ensayo de p24, este material sobrenadante es diluido previamente (por ejemplo, a 1/5.000).

En un experimento consecutivo, los materiales sobrenadantes diluidos, tanto los de las células anfitrionas que han sido tratadas con los compuestos conformes al invento, como también los de los testigos no tratados, son añadidos en cada caso a unas células anfitrionas no infectadas previamente. En este caso no se efectúa ninguna adición renovada de los compuestos conformes al invento. Ahora resulta una fuerte reducción de la cantidad medida de p24 en la segunda generación filial en el caso de las células anfitrionas tratadas en el primer experimento. Al contrario que esto, el material sobrenadante del testigo no tratado da lugar a un fuerte aumento de la cantidad de p24 en la segunda generación filial.

Este sorprendente resultado está en contradicción con los resultados obtenidos a partir de la primera generación filial. Mientras que en el caso del primer experimento, a pesar de la presencia de una sustancia activa, se consigue un efecto aparentemente sólo pequeño, en el caso del experimento consecutivo con una ausencia amplia de una sustancia activa, se puede observar un fuerte efecto.

Esta contradicción solamente se puede explicar por el nuevo mecanismo de acción de los compuestos conformes al

invento.

La Figura 1 muestra esquemáticamente el nuevo mecanismo de acción.

5 En el caso de la primera infección de una célula anfitriona por un virus de la IH, éste descarga su ARN genómico vírico en el citosol. A continuación, éste es transcrito en ADN por una transcriptasa inversa vírica y es integrado en el genoma de la célula anfitriona. En el caso de una activación de la célula anfitriona, por una parte se forma un ARN genómico vírico, y por otra parte se llega a la formación de un ARNm (mensajero) vírico, el cual puede ser traducido en proteínas víricas mediante una traducción.

10 Si las células anfitrionas son tratadas con los compuestos conformes al invento, entonces éstos están en situación de penetrar en la célula sin otros agentes o medios auxiliares adicionales (p.ej. unos reactivos de transfección). En el caso de la presencia de un ARNm vírico con una sucesión complementaria de la secuencia, los compuestos conformes al invento pueden reaccionar por adición con éste. De esta manera, es bloqueada la traducción en determinadas proteínas víricas. Este hecho constituye un efecto antisentido (1). De esta manera se reprime p.ej. la formación de nuevos virus (caso A). Debido a la ausencia de determinadas proteínas víricas, se puede obstaculizar p.ej. también la maduración de una partícula vírica después del brote a partir de la célula anfitriona. En este caso, resultan unos virus no infecciosos (caso B). No obstante, en el ensayo de p24 no se puede diferenciar entre dichos virus que no son infecciosos y los que siguen siendo infecciosos. De esta manera, un efecto antisentido en sí fuerte es detectado erróneamente como un débil efecto antisentido.

15 Aparte de con el ARNm (el efecto antisentido clásico), los compuestos conformes al invento pueden reaccionar por adición sorprendentemente también de manera simultánea con el ARN genómico que tiene una sucesión complementaria de la secuencia (efecto antigenómico) del virus de la IH (virus de ARN⁺)(2). Esto puede suceder dentro de la célula anfitriona y/o al producirse el brote.

20 Puesto que la membrana celular del virus está constituida en su mayor parte por la membrana de la célula anfitriona, los compuestos conformes al invento, no obstante, también después del brote de los virus, pueden atravesar sus membranas y reaccionar entonces por adición con sucesión complementaria de la secuencia del ARN genómico vírico (3).

25 Estos virus (C y D) están todavía en situación de infectar a otras células anfitrionas adicionales. Los compuestos conformes al invento, que han reaccionado por adición con el ARN genómico vírico, actúan no obstante como un bloqueo para la transcriptasa inversa vírica. De esta manera, la transcripción del ARN en ADN ya no es posible y el ciclo de replicación de los virus es interrumpido en este lugar.

30 Así pues, los compuestos conformes al invento pueden reaccionar por adición simultáneamente tanto con el ARN genómico vírico complementario como también con el ARNm vírico complementario. En el caso de la reacción por adición con el ARN genómico, los compuestos conformes al invento pueden abandonar de nuevo a la primera célula anfitriona y penetrar en una segunda célula anfitriona, que no había sido infectada precedentemente. Esto conduce a una sorprendente eficacia, que se puede observar a lo largo de dos generaciones de virus.

35 Por medio de la reacción por adición con un ARN genómico, de esta manera se pueden combatir también los virus latentes. Por ejemplo, los medicamentos contra el VIH, que se encuentran actualmente en el mercado, solamente pueden combatir a los virus de la IH que se están replicando. Con una terapia combinada a base de unos compuestos, que reaccionan por adición con un ARN genómico (tales como, por ejemplo, los compuestos conformes al invento), y de unos compuestos, que mantienen baja la carga por virus mediante el bloqueo de la replicación de los virus, conforme al invento se pueden combatir simultáneamente tanto los virus que se están replicando como también los virus latentes, y se consigue por consiguiente un exterminio de los correspondientes virus en el organismo humano.

40 Los compuestos conformes al invento muestran un superior efecto antisentido y una eficacia más grande en comparación con los compuestos estereoquímicamente heterogéneos, descritos en el documento EP 1157031. En el caso de ambas clases de compuestos, la intensidad del efecto antisentido aumenta con un número creciente de los monómeros, que se habían utilizado para la preparación de los oligómeros, es decir con unos valores más grandes de *n*. Incluso unos compuestos conformes al invento manifiestamente más cortos, son, no obstante, sorprendentemente superiores en su efecto a unos oligómeros más largos, estereoquímicamente heterogéneos, de acuerdo con el documento EP 1157031. Esto hace que los compuestos conformes al invento sean especialmente valiosos también para otras aplicaciones.

45 Los compuestos conformes al invento presentan un gran interés para el tratamiento de diversas enfermedades, sobre todo debido a su capacidad de fijarse a secuencias complementarias de ácidos nucleicos. Con estos compuestos se pueden combatir unas enfermedades, que se han de atribuir a la presencia de un ADN o ARN no propio del cuerpo. Como ejemplos de ellas se pueden mencionar en este contexto sobre todo las enfermedades, que

son provocadas por virus, tales como, por ejemplo, los VIH, los de la hepatitis B y la hepatitis C o los VPH (virus del papiloma humano).

Sin embargo, también unas enfermedades, que se han de atribuir a una sobreexpresión de un ARNm propio del cuerpo, pueden ser combatidas con los compuestos conformes al invento. Como ejemplos de ellas se han de mencionar en este contexto los más diversos tipos de cánceres tales como, por ejemplo, los de piel, de pulmón, de hígado, de próstata, leucemia o tumores cerebrales.

Unos correspondientes experimentos con los compuestos conformes al invento mostraron una reducción en un 33 % de la proliferación celular en el linaje de células de cáncer de mama MDA453, que sobreexpresa a Her2/neu. En este experimento, los linajes de células se incubaron en un cultivo celular durante cuatro días con un compuesto conforme al invento, que constituye una secuencia complementaria de concordancia (match) con respecto al ARNm para Her2/neu. Un testigo negativo, que no constituye ninguna secuencia complementaria de concordancia con respecto al ARNm para Her2/neu, no mostró ninguna reducción de la proliferación celular.

La disminución de la concentración de Her2/neu en carcinomas de mama aumenta manifiestamente la tasa de supervivencia en combinación con los agentes quimioterapéuticos convencionales en el caso de pacientes de cáncer de mama. (Piccart-Gebhart MJ y colaboradores: Herceptin® Adjuvant (HERA) Trial Study Team. Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer (Equipo de estudios de ensayo del adyuvante Herceptin® (HERA). Administración de trastuzumab después de una quimioterapia con adyuvante en un cáncer de mama positivo en cuanto a HER2). N Engl J Med. 2005 Oct 20; 353 (16): 1.659-72).

Además, con los compuestos conformes al invento se pueden combatir ciertas enfermedades inflamatorias tales como, por ejemplo, un asma o una psoriasis, ciertas enfermedades neurológicas tales como por ejemplo la enfermedad de Parkinson o ciertas enfermedades metabólicas tales como las que están relacionadas con unos valores elevados de colesterol.

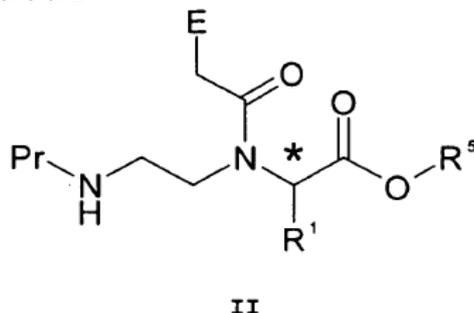
Unos correspondientes experimentos con compuestos conformes al invento, que se habían dirigido contra la expresión de la proteína portadora de colesterol ApoB100, mostró en ratones una reducción del contenido de ApoB100 en un 41 % en comparación con el grupo testigo tratado solamente con un tampón PBS (solución salina tamponada con fosfato. Simultáneamente, se observó una reducción en un 32 % del contenido de ApoB48, una adicional proteína portadora de colesterol, que es responsable del transporte de colesterol desde el intestino delgado al hígado. La reducción de los contenidos de ApoB100 y ApoB48 dio como resultado una reducción global del nivel de colesterol en un 25 %. En este experimento, se administraron los compuestos conformes al invento por vía intravenosa a ratones en tres días consecutivos, una vez al día, en una concentración de 25 mg/kg, y a continuación, en el cuarto día, se analizó la sangre de los ratones.

Una reducción de los contenidos de ApoB100 y ApoB48 es valiosa en lo que se refiere a la represión de enfermedades, que están relacionadas con una arteriosclerosis y con unos valores aumentados de colesterol, en particular en en lo que se refiere a los grupos de alto riesgo.

También es objeto del presente invento la utilización de estas sustancias activas para la producción de medicamentos destinados a la prevención y/o al tratamiento de enfermedades. Por lo general, los compuestos conformes al invento se administran, mediando aplicación de las modalidades conocidas y aceptables, o bien individualmente o en combinación con otro agente terapéutico adicional arbitrario. La administración se puede realizar p.ej. por una de las siguientes rutas: por vía oral, p.ej. en forma de grageas, tabletas revestidas, píldoras, materiales semisólidos, cápsulas blandas o duras, soluciones, emulsiones o suspensiones; por vía parenteral, p.ej. como una solución inyectable; por vía rectal como supositorios; por inhalación, p.ej. como una formulación pulverulenta o una formulación de atomización, por vía transdérmica o intranasal. Para la producción de tales tabletas, píldoras, materiales semisólidos, tabletas revestidas, grageas y cápsulas duras de gelatina, el producto utilizable terapéuticamente se puede mezclar con sustancias de vehículo para medicamentos, inorgánicas u orgánicas, farmacológicamente inertes, p.ej. con lactosa, sacarosa, glucosa, gelatina, malta, gel de sílice, almidón o sus derivados, talco, ácido esteárico o sus sales, leche desnatada seca y similares. Para la producción de cápsulas blandas, se pueden emplear unas sustancias de vehículo para medicamentos, tales como p.ej. aceites vegetales, petróleo, aceites animales o sintéticos, cera, grasa y polioles. Para la producción de soluciones y jarabes líquidas/os se pueden utilizar unas sustancias de vehículo para medicamentos tales como p.ej. agua, alcoholes, una solución salina acuosa, una dextrosa acuosa, polioles, glicerol, aceites vegetales, petróleo, aceites animales o sintéticos. Para supositorios, se pueden utilizar unas sustancias de vehículo para medicamentos tales como p.ej. aceites vegetales, petróleo, aceites animales o sintéticos, cera, grasa y polioles. Para formulaciones de aerosoles se pueden emplear unos gases comprimidos que son adecuados para esta finalidad, tales como p.ej. oxígeno, nitrógeno y dióxido de carbono. Los agentes utilizables farmacéuticamente pueden contener también materiales aditivos para la conservación y la estabilización, agentes emulsionantes, sustancias edulcorantes, sustancias aromatizantes, sales para la modificación de la presión osmótica, tampones, sustancias aditivas para la envoltura y agentes antioxidantes.

Los compuestos conformes al invento se pueden preparar por ejemplo mediante unos procedimientos descritos en la bibliografía por reacción de compuestos de la fórmula general II de un modo en sí conocido (véanse p.ej. L. Christensen, R. Fitzpatrick, B. Gildea, K.H. Petersen, H.F. Hansen, T. Koch, M. Egholm, O. Buchardt, P.E. Nielsen, J. Coull, R.H. Berg, *J.Pept.Sci.* 3, **1995**, 175-183. T. Koch, H.F. Hansen, P. Andersen, T. Larsen, H.G. Batz, K. Otteson, H. Örum, *J.Pept.Res.* 49, **1997**, 80-88. F. Bergmann, W. Bannwarth, S. Tam, *Tetrahedron Lett.* 36, **1995**, 6.823-6.826).

En los compuestos de la fórmula general II



el radical R^5 es p.ej. un átomo de H o un radical aliilo, bencilo, etilo o metilo, o un polímero soluble o insoluble.

Pr es un átomo de H o un grupo protector separable de aminas. El grupo protector de aminas tiene que ser separable selectivamente en presencia de los grupos protectores de nucleobases. De manera preferida, **Pr** es un átomo de H, un grupo protector oxocarbamato o tiocarbamato, de la manera más grandemente preferida, **Pr** es un átomo de H o un grupo protector Fmoc, Boc, Cbz, Mmt o Bhoc.

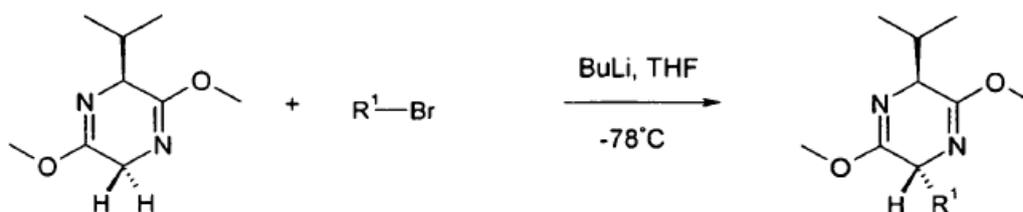
E y el radical R^1 son como se han definido más arriba.

El centro asimétrico (*), al que se une el radical R^1 , puede tener la configuración R o S.

Los compuestos de la fórmula general II se pueden preparar, por ejemplo, según el siguiente procedimiento.

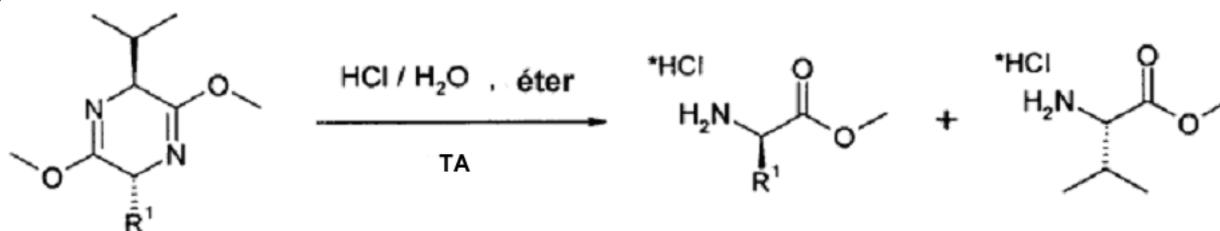
Preparación de los compuestos de la fórmula general II con una configuración R en el centro asimétrico:

Etapa de reacción 1:



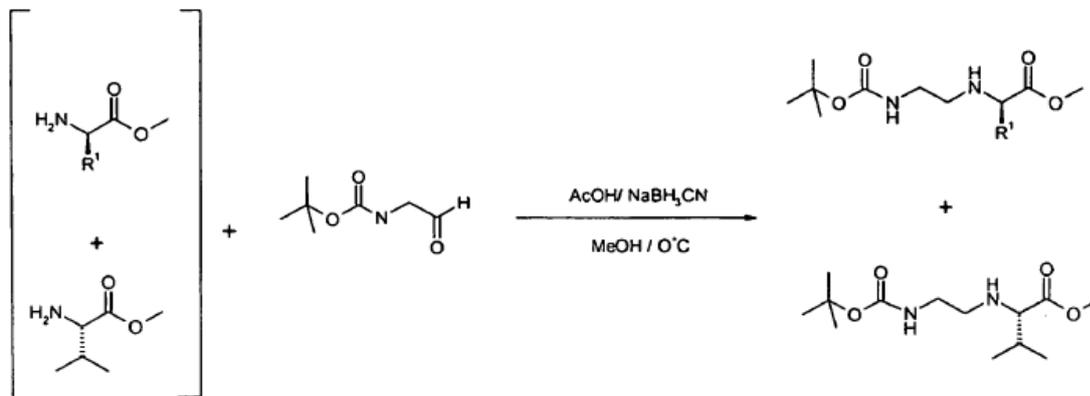
Partiendo de la configuración S del educto de pirazina, la realización se puede efectuar, por ejemplo, tal como se describe en la bibliografía (U. Schöllkopf, U. Busse, R. Lonsky, R. Hinrichs, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 2150-2163; A. Schick, T. Kolter, A. Giannis, K. Sandhoff, *Tetrahedron* **51**, **1995**, 11207-11218).

Etapa de reacción 2:



La realización se puede efectuar por ejemplo tal como se describe en la bibliografía (U. Schöllkopf, U. Busse, R. Lonsky, R. Hinrichs, *Liebigs Ann. Chem.* **1986**, 2150-2163).

Etapa de reacción 3:



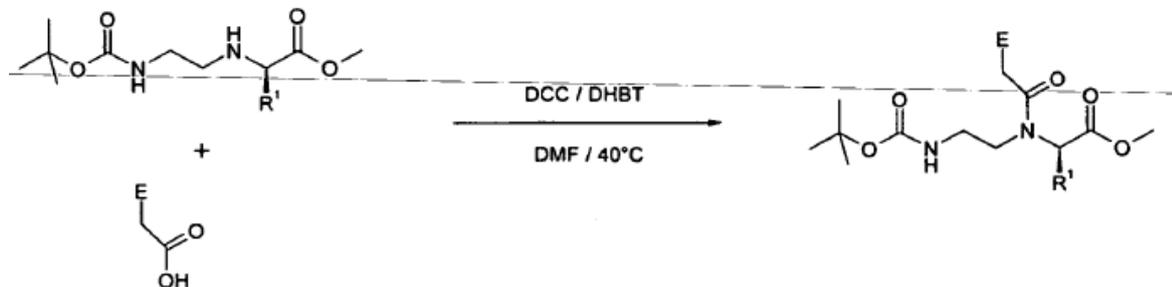
5

La mezcla de productos procedente de la etapa de reacción 2, después de una liberación de las aminas desde sus hidroclozuros por medio de una base (p.ej. NaHCO_3 , NH_3), se puede emplear en la reacción consecutiva. Ésta, que es una aminación reductora, se puede llevar a cabo tal como se describe en la bibliografía (G. Haaima, A. Lohse, O. Buchardt, P.E. Nielsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl. [Química Aplicada, Edición Internacional en Inglés]* **35**, **1996**, n° 17, 1939-1942).

10

En lugar del cianoborohidruro de sodio se pueden utilizar también otros agentes de reducción tales como p.ej. hidrógeno y un catalizador (p.ej. Pd/C). Los productos de reacción se separan por cromatografía.

15 Etapa de reacción 4:



20

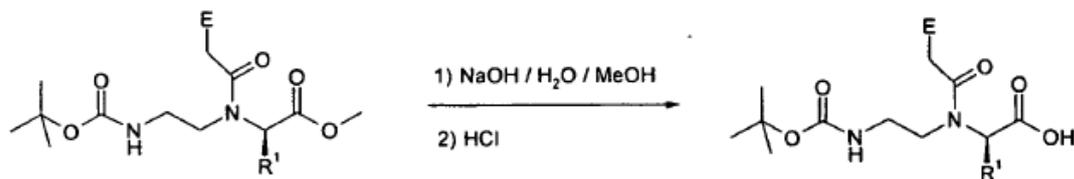
La realización se puede efectuar, a modo de ejemplo, tal como se describe en la bibliografía (G. Haaima, A. Lohse, O. Buchardt, P.E. Nielsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **35**, **1996**, n° 17, 1939-1942). En este caso, se pueden emplear también otros reactivos de acoplamiento distintos en lugar del DCC/DHBT.

La preparación del compuesto E-CH₂-COOH (por ejemplo C(PG)-CH₂-COOH, A(PG)-CH₂-COOH, G(PG)-CH₂-COOH o T-CH₂-COOH, J(PG)-CH₂-COOH, siendo **A** = adeninilo, **C** = citosinilo, **G** = guaninilo, **T** = timinilo, **J** = pseudoisocitosinilo, **PG** = un grupo protector tal como, por ejemplo, benciloxycarbonilo (Z), bencilo (Bzl), acetilo (Ac) o anisoilo (An)) se puede efectuar tal como se describe por ejemplo en la bibliografía (S.A. Thomson, J.A. Josey, R. Cadilla, M.D. Gaul, F.C. Hassmann, M.J. Lazzio, A.J. Pipe, K.L. Reed, D.J. Ricca, R.W. Wiether, S.A. Noble, *Tetrahedron* **51**, **1995**, 6179-6194).

25

Otros posibles grupos protectores se describen asimismo en la bibliografía (G. Breipohl, D.W. Will, A. Peymann, E. Uhlmann, *Tetrahedron* **53**, **1997**, 14671-14686; T. Kofoed, H.F. Hansen, H. Orum, T. Koch, *J. Peptide Sci.*, **7**, **2001**, 402-412)

Etapa de reacción 5:



La realización se puede efectuar por ejemplo tal como se describe en la bibliografía (G. Haaima, A. Lohse, O. Buchardt, P.E. Nielsen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 35, **1996**, n° 17, 1939-1942).

5 Para realizar una descripción más sencilla de los compuestos de la fórmula general II, que resultan como productos en la etapa de reacción 5, se utilizan las siguientes abreviaturas:

Si, por ejemplo, se emplea A(PG)-CH₂-COOH en la etapa de reacción 4, entonces se obtiene el correspondiente compuesto de la fórmula general II que tiene un centro asimétrico. Este compuesto se designa abreviadamente aquí por lo general como A^R(PG). En este caso, **A** representa la nucleobase en el compuesto de la fórmula general II que tiene un centro asimétrico, la **R** resaltada (superíndice) representa la configuración R del compuesto y el **PG** representa el grupo protector situado junto a la nucleobase.

Si, por ejemplo, se emplea ácido fenil-acético en la etapa de reacción 4, entonces se obtiene un compuesto de la fórmula general II que tiene un centro asimétrico, que se designa abreviadamente como P^R.

15 Los correspondientes compuestos de la fórmula general II sin ningún centro asimétrico (R¹ = H) se designan abreviadamente de una manera análoga a la de los compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico, con la diferencia de que, en lugar de la letra mayúscula para la nucleobase y de la letra resaltada (superíndice) para la configuración (p.ej. A^R), se utiliza la correspondiente letra minúscula a. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula general II que no tiene ningún centro asimétrico, con una C protegida con PG como nucleobase, se designa abreviadamente como c(PG).

25 Para la preparación de los compuestos de la fórmula general II con una configuración S en el centro asimétrico, en la etapa de reacción 1 se emplea el educto (compuesto de partida) de pirazina con una configuración R y las etapas de reacción 1 hasta 5 se llevan a cabo análogamente. Entonces se obtiene, por ejemplo, un compuesto de la fórmula general II con la abreviatura A^S(PG).

Los compuestos conformes al invento se pueden preparar, por ejemplo, mediante una síntesis en fase sólida por reacción de compuestos de la fórmula general II de un modo en sí conocido. Después de la síntesis en fase sólida, se separan los grupos protectores situados junto a las nucleobases, de tal manera que se obtienen los compuestos de la fórmula general I, que se designan abreviadamente de la siguiente manera:

30 Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado solamente a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración R, y que se había rematado con acetilo en la última etapa, y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Ac-A^RG^RT^RC^RG^RT^RT^RC^RA^RA^RC^R-NH₂.

35 Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración R, y de compuestos de la fórmula general II que no tienen ningún centro asimétrico, y que se había marcado en la última etapa con fluoresceína, y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Flu-A^RG^RT^RC^RG^RT^RT^RC^RaaC^R-NH₂.

40 Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado junto a una resina con Boc-Gly-PAM-MBHA solamente a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración S así como a partir de un L-aminoácido tal como yoduro de Boc-ε(L)-trimetil-lisina (yoduro de Boc-ε(L)TML), y que se había rematado con acetilo en la última etapa y después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Ac-ε(L)TML-A^SG^ST^SC^SG^ST^ST^SC^SA^SA^SC^S-Gly-NH₂.

45 Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado junto a una resina con Boc-Gly-PAM-MBHA solamente a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración S, así como a partir de cuatro L-aminoácidos tales como el yoduro de Boc-ε(L)-trimetil-lisina (yoduro de Boc-ε(L)-TML), y que se había rematado con acetilo en la última etapa, y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Ac-ε(L)TML-ε(L)TML-ε(L)TML-ε(L)TML-A^SG^ST^SC^SG^ST^ST^SC^SA^SA^SC^S-Gly-NH₂.

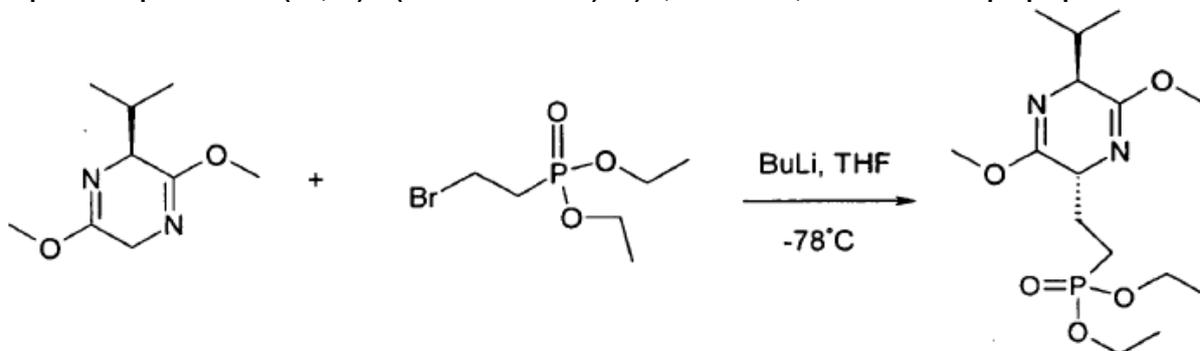
50 Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado junto a una resina con Boc-Gly-PAM-MBHA a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración R, y a partir de compuestos de la fórmula general II sin ningún centro asimétrico, y a partir de glicina así como de dos aminoácidos tales como el ácido 4-(dietoxi-fosforil)-2-(terc.-butoxicarbonilamino)-butírico (Boc-DEPABS), y que se había rematado con acetilo en la última etapa, y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Ac-(DEPABS)₂-Gly-gcgtG^RtG^RtG^RggaagG^RcA^Rg-Gly-NH₂.

Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado junto a una resina con Boc-Gly-PAM-MBHA a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración R y a partir de compuestos de la fórmula general II sin ningún centro asimétrico, y de los aminoácidos L-lisina (L-Lys), L-arginina (L-Arg), L-valina (L-Val), y que se había rematado con acetilo en la última etapa, y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como Ac-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-agctC^RcT^RcgcccT^RtG^Rc-Gly-NH₂.

Por ejemplo, un compuesto conforme al invento, que se había preparado junto a una resina con Boc-Gly-PAM-MBHA a partir de compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico con una configuración R y a partir de compuestos de la fórmula general II sin ningún centro asimétrico, y a partir de los aminoácidos yoduro de Boc-ε-(L)-trimetil-lisina (yoduro de Boc-ε(L)TML) y del compuesto quelador éster tri-terc.-butílico de 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-tetraacético (DOTA), y que después de esto se había separado de la resina como una amida primaria, se designa abreviadamente como DOTA-ε(L)TML-C^RaG^Rt^RaG^Rg^Rt^RaG^R-Gly-NH₂.

Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de (2R,5S)-2-(2-dietoxi-fosforil)etil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina



- 0,52 moles de (S)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropil-pirazina se disuelven en 400 ml de THF absoluto bajo argón y se enfrían a -78°C. Mediando agitación se añaden gota a gota lentamente 200 ml de una solución 2,7 M de butil-litio (en heptano) (0,54 moles). A continuación, se añade gota a gota una solución de 0,52 moles de dietil-(2-bromoetil)-fosfonato en 300 ml de THF absolutizado, lentamente mediando agitación, y se agita durante otras 3 h más a -78°C. Luego se añaden lentamente 11,7 ml (aproximadamente 0,2 moles) de ácido acético anhidro. Luego la mezcla de reacción se deja calentar lentamente hasta la temperatura ambiente. El disolvente se elimina, el residuo se recoge en 600 ml de dietil-éter y se lava con 200 ml de agua. La fase acuosa se extrae todavía 3 veces, cada vez con 100 ml de dietil-éter. Las fases etéreas reunidas se secan sobre MgSO₄, se filtran y el disolvente se elimina en vacío. El residuo se recoge en una mezcla de Et₂O y hexano (1/10) y se filtra a través de un lecho de gel de sílice. En este caso se eluye primeramente con una mezcla de Et₂O y hexano (1/5).
Rendimiento: aproximadamente 70 %, líquido de color amarillo:

¹H-RMN (CDCl₃): 0,71, 1,04 (d, 6H, CH(CH₃)₂), 1,33 (t, 6H, P(O) (OCH₂CH₃)₂), 1,68-2,25 (m, 4H, CHCH₂CH₂P), 3,65, 3,67 (s, 6H, OCH₃), 4,02 (m, 1H), 4,10-4,20 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂).

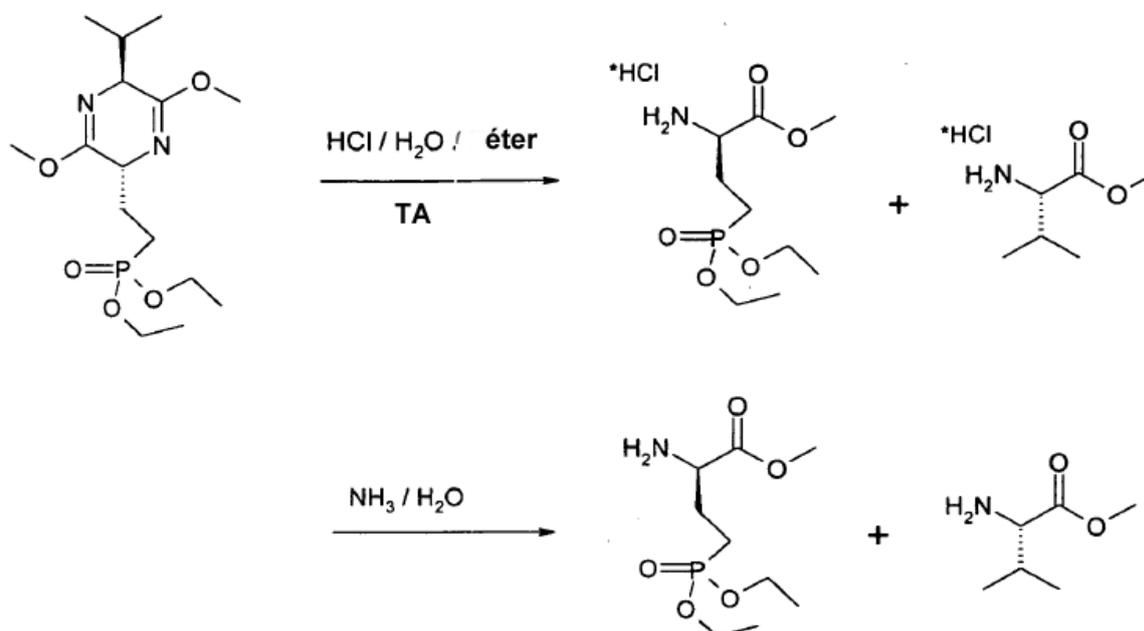
Ejemplo 2: Preparación de (2R,5S)-2-(8-(dibenciloxi-fosforil)octil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina

Análogamente al procedimiento de preparación en el Ejemplo 1, partiendo de (S)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropil-pirazina y de dibencil-(8-bromo-octil)-fosfonato se prepara la (2R,5S)-2-(8-(dibenciloxi-fosforil)octil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina.

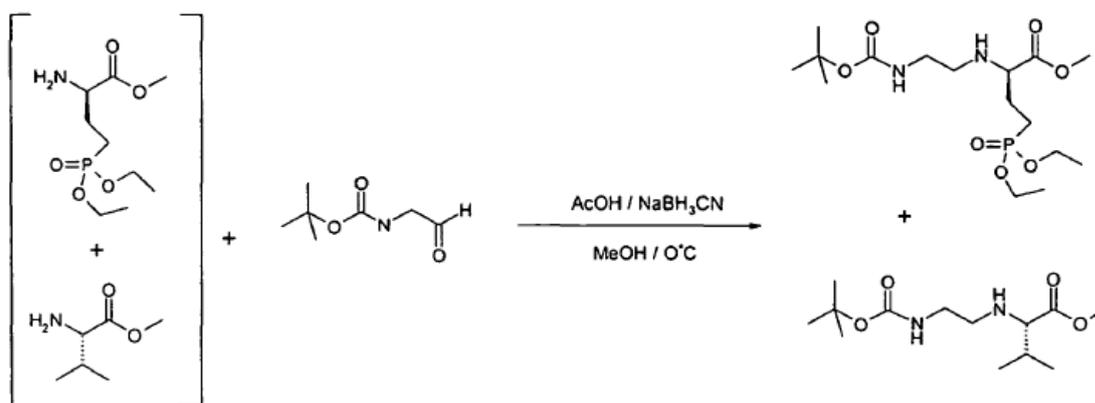
Ejemplo 3: Preparación de (2S,5R)-2-(4-(diclohexil-oxifosforil)but-2-enil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina

Análogamente al procedimiento de preparación en el Ejemplo 1, partiendo de (R)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropil-pirazina y dicrohexil-(4-bromo-but-2-enil)-fosfonato se prepara la (2S,5R)-2-(4-(diclohexiloxi-fosforil)but-2-enil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina.

Ejemplo 4: Preparación del éster metílico de ácido (2R)-2-[2-(terc.-butoxicarbonilamino)etil]-amino-4-(dietoxifosforil)-butírico



- 5 0,38 moles de (2R,5S)-2-(2-(dietoxi-fosforil)etil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina se disuelven en 400 ml de dietil-éter. A esta solución se le añaden 1.150 ml de una solución acuosa 1 N de HCl. Después de 60 min, la reacción ha finalizado y se elimina el éter. Si el producto debe de ser almacenado, también el agua se elimina completamente en vacío. Si el producto debe de ser hecho reaccionar ulteriormente de manera inmediata, el agua se elimina por evaporación rotatoria hasta llegar a aproximadamente la mitad de volumen, luego se ajusta el valor del pH de la mezcla de reacción a 8-9 con una solución de amoníaco. La solución de carácter básico se extrae 6 veces con diclorometano, controlándose cada vez el valor del pH y corrigiéndose éste en caso necesario. Las fases de diclorometano se reúnen, se secan con $MgSO_4$, y el disolvente se elimina en vacío. El aceite de color amarillo resultante, se emplea inmediatamente en la reacción sucesiva, la aminación en condiciones reductoras.
- 10



- 15 El aceite de color amarillo (se supone una conversión química total) se recoge en 600 ml de metanol y se enfría a $0^{\circ}C$. A continuación, se añaden 0,76 moles de N-Boc-amino-acetaldehído. Después de que se hubo agitado durante 30 min a $0^{\circ}C$, se añaden primeramente 0,90 moles de ácido acético anhidro y luego 0,40 moles de cianoborohidruro de sodio. La mezcla de reacción se agita a $0^{\circ}C$, hasta que el desprendimiento de gases haya finalizado, luego se elimina el disolvente en el evaporador rotatorio. El residuo se recoge en éster etílico de ácido acético (aproximadamente 600 ml) y se lava una vez con una solución saturada de $NaHCO_3$ (aproximadamente 200 ml) y una vez con una solución saturada de $NaCl$ (aproximadamente 100 ml). La fase orgánica se seca con $MgSO_4$ y se filtra. A continuación, se elimina el disolvente en vacío.
- 20

La purificación ulterior se efectúa por medio de una SPE (acrónimo de Solid Phase Extraction = extracción en fase sólida) a través de una fritta de vidrio cargada con gel de sílice. Las impurezas y los productos indeseados se eluyen primeramente con una mezcla de hexano y acetato de etilo 1:1 y luego con acetato de etilo puro. El producto deseado se obtiene finalmente mediante extracción con metanol al 10 % en diclorometano.

Después de haber eliminado el disolvente, se obtiene aproximadamente un 75 % del producto como un aceite viscoso de color amarillo.

¹H-RMN (CDCl₃): 1,35 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂), 1,47 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,8-2,0 (m, 4H, CHCH₂CH₂P), 2,5-2,6, 2,75-2,85, 3,0-3,4 (m, 4H, NCH₂CH₂N), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 4,0-4,2 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂).

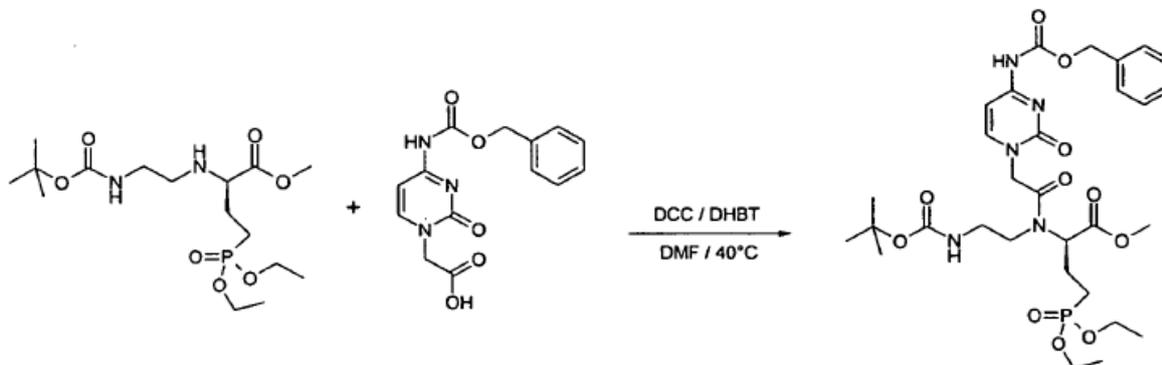
Ejemplo 5: Preparación del éster metílico de ácido (2R)-2-[2-(terc.-butoxi-carbonilamino)etil]-amino-10-(dibenciloxi-fosforil)-decanoico

Análogamente al procedimiento de preparación en el Ejemplo 4, partiendo de (2R,5S)-2-(8-(dibenciloxi-fosforil)octil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina, se prepara el éster metílico de ácido (2R)-2-[2-(terc.-butoxicarbonilamino)etil]-amino-10-(dibenciloxi-fosforil)-decanoico.

Ejemplo 6: Preparación del éster metílico de ácido (2S)-2-[2-(terc.-butoxi-carbonilamino)etil]-amino-6-(díciclohexiloxi-fosforil)-hex-4-enoico

Análogamente al procedimiento de preparación descrito en el Ejemplo 4, partiendo de (2S,5R)-2-(4-(díciclohexiloxi-fosforil)but-2-enil)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-5-isopropil-pirazina, se prepara el éster metílico de ácido (2S)-2-[2-(terc.-butoxicarbonilamino)etil]-amino-6-(díciclohexiloxi-fosforil)-hex-4-enoico.

Ejemplo 7: Preparación del éster metílico de ácido (R)-2-([2-(N4-benciloxi-carbonil-citosin-1-il)-acetil]-[2-terc.-butoxicarbonilamino-etil]-amino)-4-(dietoxi-fosforil)-butírico



A una solución agitada de 30,96 mmol de ácido 4-N-(benciloxycarbonil)-citosin-2-il-acético y de 30,96 mmol de 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina (DHBT-OH) en 100 ml de DMF absoluto, se le añaden 32,51 mmol de DCC, y esta solución se agita durante 1 h a 40°C. A continuación, se añaden 23,84 mmol del éster metílico de ácido (2R)-2-[2-(terc.-butoxicarbonilamino)etil]-amino-4-(dietoxi-fosforil)-butírico y se agitan a 40°C. La reacción se vigila con una HPLC y ha finalizado después de 3 días.

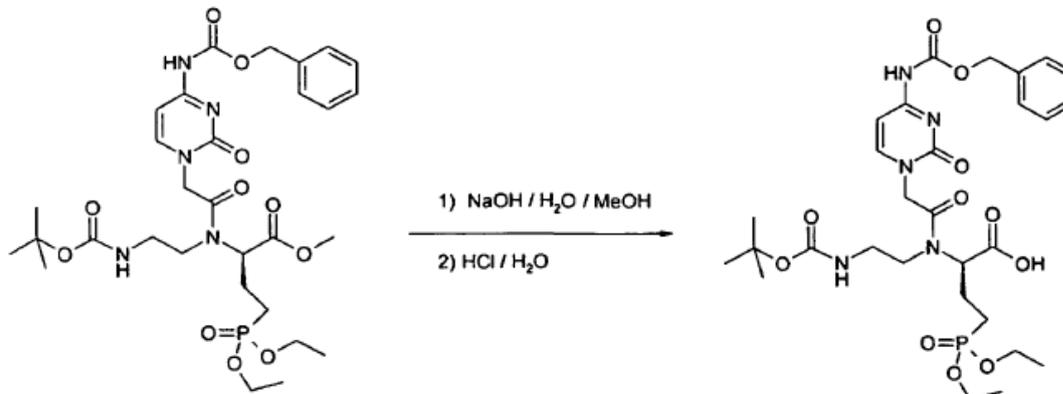
Se separa por filtración con respecto del material insoluble y el disolvente se elimina en vacío. El residuo se recoge en diclorometano y se deja reposar durante una noche en el armario frigorífico. En este caso, precipita una cantidad adicional de díciclohexil-urea, que se separa por filtración. El material filtrado se lava 2-3 veces con una solución diluida de NaHCO₃ (1/3 de una solución saturada de NaHCO₃, 2/3 de agua), 1-2 veces con una solución diluida de KHSO₄ (1/3 de una solución saturada de KHSO₄, 2/3 de agua), se seca con MgSO₄ y se concentra por evaporación rotatoria. La purificación ulterior se efectúa mediante disolución en acetato de etilo y reposo durante una noche en el armario frigorífico, después de lo cual se separa por filtración de una cantidad adicional de díciclohexil-urea, que ha precipitado eventualmente, y el disolvente se elimina de nuevo. El producto bruto se disuelve luego en diclorometano (5 ml por cada 3 g del producto bruto) y se precipita de nuevo con dietil-éter (25 ml por cada 3 g de producto bruto) y con hexano (5 ml por cada 3 g de producto bruto). El disolvente, que contiene impurezas, se elimina y el producto se seca en vacío.

Rendimiento: aproximadamente 65 % de un material sólido de color amarillo pálido

¹H-RMN (CDCl₃): 1,32 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,44 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,75-2,45 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,2-3,85 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,73 (s, 3H, OCH₃); 4,07 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,28 (m, 1H, NCHC(O)); 4,42-4,99 (2d, 2H,

NCH₂C(O)); 5,22 (s, 2H, OCH₂Ph); 5,56 (t, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,25 (d, 1H, CCH=CHN); 7,38 (s, 5H, Ph); 7,55 (d, 1H, CCH=CHN).

5 **Ejemplo 8: Preparación de ácido (R)-2-([2-{N4-benciloxycarbonil-amino-citosin-1-il}-acetil]-[2-terc.-butoxicarbonil-amino-etil]-amino)-4-(dietoxi-fosforil)-butírico**



19,1 mmol del éster metílico de ácido (R)-2-([2-{N4-benciloxycarbonil-citosin-1-il}-acetil]-[2-terc.-butoxicarbonil-amino-etil]-amino)-4-(dietoxi-fosforil)-butírico se disuelven en 80 ml de una mezcla de THF y agua (2/3) y se enfría a 0°C. A esto se le añaden gota a gota 48 ml de una solución 1 M de hidróxido de litio (de pH ~ 9). El progreso de la reacción se vigila con una CD (cromatografía de capa fina) (con metanol al 10 % en diclorometano). Después de haberse terminado la reacción, la solución de reacción se diluye con 130 ml de una solución de NaCl en agua y se extrae una vez con diclorometano (200 ml). La fase acuosa se ajusta a un pH de 2-3 con una solución 2 M de KHSO₄ y se extrae múltiples veces con diclorometano. En este caso se controla siempre de nuevo el valor del pH y en caso necesario se corrige posteriormente. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre MgSO₄, y el disolvente se elimina en vacío. Cuando sea necesario, el producto bruto se puede reprecipitar con dietil-éter a partir de diclorometano. Finalmente, el producto se seca en el liofilizador.

20 Rendimiento: aproximadamente 80 % de un material sólido de color amarillo blancuzco.

25 ¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,21 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,30 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,90-3,60 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,93-4,02 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,25 (m, 1H, NCHC(O)); 4,50-4,83 (m, 2H, NCH₂C(O)); 5,19 (s, 2H, OCH₂Ph); 6,88 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,02 (d, 1H, CCH=CHN); 7,31-7,41 (m, 5H, Ph); 7,97 (d, 1H, CCH=CHN).

30 **Ejemplo 9: Preparación de otros compuestos de la fórmula general II**

Mediante unas síntesis análogas a las que se han descrito en los Ejemplos 7 y 8, en las que, junto a C(Z)-CH₂-COOH, se emplean otros componentes de nucleobases y ácido acético protegidos con Z, protegidos con bencilo (Bzl), protegidos con anisóilo (An) o respectivamente protegidos con acetilo y no protegidos A(Z)-CH₂-COOH, A(An)-CH₂-COOH, A(Bzl)-CH₂-COOH ó G(Z)-CH₂-COOH, G(Ac)-CH₂-COOH, C(An)-CH₂-COOH, C(Bzl)-CH₂-COOH, J(Z)-CH₂-COOH, J(Bzl)-CH₂-COOH, J(An)-CH₂-COOH o respectivamente T-CH₂-COOH (A = adeninilo, C = citosinilo, G = guaninilo, T = timinilo, J = pseudoisocitosinilo, así como ácido fenil-acético, se preparan otros compuestos adicionales de la fórmula general II.

35 **A^R(Z):**

¹H-RMN (CH₃OH-d₄): 1,20 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,34 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,30 (m, 4H, CCH₂CH₂P); 3,00-3,80 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,93-4,02 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,10 (m, 1H, NCHC(O)); 5,18 (s, 2H, OCH₂Ph); 5,20-5,40 (m, 2H, NCH₂C(O)); 7,15-7,40 (m, 5H, Ph); 8,14 (s, 1H, N=CHN); 8,46 (s, 1H, NHCHN).

40 **A^R(Bzl):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,21 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,40 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,20 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,90-3,75 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,90-4,10 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,22 (m, 1H, NCHC(O)); 5,25-5,45 (m, 2H, NCH₂C(O)); 6,96 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,50-8,10 (m, 5H, Ph); 8,42 (s, 1H, N=CHN); 8,69 (s, 1H, N=CHN).

45 **A^R(An):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,21 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,41 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,20 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,90-3,750 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 3,90-4,10 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,22 (m, 1H, NCHC(O)); 5,25-5,45 (m, 2H, NCH₂C(O)); 6,96 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,08 (d, 2H, Ph); 8,05 (d, 2H, Ph); 8,42 (s, 1H, N=CHN); 8,69 (s, 1H, N=CHN).

J^R(Z):

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,32 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,60-2,50 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,10-3,55 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,65-3,90 (m, 2H, NCH₂C(O)); 4,00-4,15 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,20 (m, 1H, NCHC(O)); 5,24 (s, 2H, OCH₂Ph); 6,80 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,27 (d, 1H, C=CHN); 7,30-7,50 (m, 5H, Ph).

5 **J^R(An):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,22 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)); 1,38 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,65-2,25 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,80-3,70 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 2,80-3,70 (m, 2H, CCH₂C(O)); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,90-4,05 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,17 (m, 1H, NCHC(O)); 6,81 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,05 (d, 2H, Ph); 7,70 (s, 1H, NCH=C); 8,07 (d, 2H, Ph).

10 **G^R(Z):**

¹H-RMN (DMSO-d): 1,18 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,37 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,30 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,95-3,70 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,90-4,10 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,20 (m, 1H, NCHC(O)); 4,85-5,20 (m, 2H, NCH₂C(O)); 5,269 (s, 2H, OCH₂Ph); 6,95 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,30-7,50 (m, 5H, Ph); 7,85 (s, 1H, N=CHN).

15 **G^R(Ac):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,20 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,41 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,18 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 2,20 (s, 3H, CH₃C(O)); 2,90-3,60 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,90-4,10 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,22 (m, 1H, NCHC(O)); 4,91-5,22 (m, 2H, NCH₂C(O)); 7,00 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,88 (s, 1H, N=CH-N).

20 **C^R(Bzl):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,21 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,40 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,70-2,30 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,20-3,60 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,93-4,02 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,28 (m, 1H, NCHC(O)); 4,50-4,83 (m, 2H, NCH₂C(O)); 6,90 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,33 (d, 1H, CCH=CHN); 7,50-7,55 (m, 2H, Ph); 7,62 (d, 1H, CCH=CHN); 8,00-8,10 (m, 3H, Ph).

25 **C^R(An):**
¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,22 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,65-2,10 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,20-3,60 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,85-4,05 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,25 (m, 1H, NCHC(O)); 4,50-4,95 (m, 2H, NCH₂C(O)); 6,90 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,04 (d, 2H, Ph); 7,30 (d, 1H, CCH=CHN); 8,00 (d, 1H, CCH=CHN); 8,03 (d, 2H, Ph).

35 **T^R:**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,22 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,39 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,65-2,20 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 1,75 (s, 3H, C=CCH₃); 2,90-3,50 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,90-4,10 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,18 (m, 1H, NCHC(O)); 4,45-4,65 (m, 2H, NCH₂C(O)); 6,86 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,37 (s, 1H, NCH=C).

40 **P^R:**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,20 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,38 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,46-2,30 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,00-3,45 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,50-3,75 (m, 2H, CCH₂C(O)); 3,80-4,00 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,22 (m, 1H, NCHC(O)); 7,10-7,30 (m, 5H, Ph).

Ejemplo 10: Preparación de otros compuestos de la fórmula general II con una configuración S en el centro asimétrico:

45 El procedimiento de preparación para los compuestos de la fórmula general II con la configuración R se aplica análogamente para la preparación de los correspondientes compuestos de la fórmula general II con una configuración S. En este contexto, en el caso de la síntesis descrita en el Ejemplo 1, la (R)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropil-pirazina se emplea como educto y las siguientes síntesis se llevan a cabo análogamente a lo descrito.

50 **J^S(Z):**

¹H-RMN (DMSO-d₆): 1,32 (t, 6H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 1,42 (s, 9H, C(CH₃)₃); 1,60-2,50 (m, 4H, CHCH₂CH₂P); 3,10-3,55 (m, 4H, NCH₂CH₂N); 3,65-3,90 (m, 2H, NCH₂C(O)); 4,00-4,15 (m, 4H, P(O)(OCH₂CH₃)₂); 4,20 (m, 1H, NCHC(O)); 5,24 (s, 2H, OCH₂Ph); 6,80 (m, br, 1H, C(O)NHCH₂); 7,27 (d, 1H, C=CHN); 7,30-7,50 (m, 5H, Ph).

Ejemplo 11: Prescripción general de síntesis para los compuestos conformes al invento:

55 Mediante una unión secuencial de los correspondientes compuestos de la fórmula general II que tienen un centro asimétrico y/o unos correspondientes compuestos de la fórmula general II sin ningún centro asimétrico, y/o de aminoácidos y/o derivados de aminoácidos y/o marcadores de fluorescencia, se preparan los compuestos conformes al invento por medio de una síntesis de péptidos en fase sólida.

En este caso se utiliza el siguiente protocolo de síntesis:

60 Etapa 1: Hinchar previamente durante 3 h 10 mg de una resina (de Boc-Gly-PAM-MBHA, 0,54 mmol/g) en diclorometano.

Etapa 2: Comenzar el ciclo de síntesis: lavar 4 veces con diclorometano.

Etapa 3: Separar el Boc mediante reacción con una mezcla de TFA (ácido trifluoroacético) y m-cresol (95:5). Duración de la reacción: 2 veces cada vez 3 min

Etapa 4: Lavar 5 veces con diclorometano.

Etapa 5: Lavar 5 veces con NMP.

5 Etapa 6: Activar previamente durante 1 min 4 equivalentes del correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II, o respectivamente de un aminoácido correspondientemente protegido, con 3,8 equivalentes de HATU y 9 equivalentes de NMM en una mezcla de NMP y piridina (2:1).

Etapa 7: Hacer reaccionar el compuesto protegido activado, de la fórmula general II, o respectivamente un aminoácido correspondientemente protegido, con la fase sólida (1^{er} acoplamiento; duración: 30 min).

10 Etapa 8: Lavar 4 veces con NMP.

Etapa 9: Lavar 1 vez con diclorometano.

Etapa 10: Repetir las etapas 6 hasta 8 (2^o acoplamiento).

Etapa 11: Comprobar la eficacia de acoplamiento con ninhidrina (ensayo de Kaiser; cuando el ensayo de Kaiser es positivo, se tienen que repetir las etapas 6 hasta 8 con el correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II).

15 Etapa 12: Después de un ensayo de Kaiser negativo, rematar 2 veces con una solución de Ac₂/NMP/piridina (1:15:25) cada vez durante 4 min.

Etapa 13: Lavar 5 veces con NMP.

20 Etapa 14: Repetir el ciclo de síntesis (etapas 2 hasta 13) hasta el acoplamiento con el último correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II. A continuación, eventualmente repetir el ciclo de síntesis (etapa 2 hasta 13) hasta el acoplamiento con el último aminoácido correspondientemente protegido.

Etapa 15: Después del acoplamiento del último correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II, o respectivamente de un aminoácido correspondientemente protegido, se llevan a cabo las etapas 2 hasta 5 para la última separación de Boc y las etapas 12 y 13 (sin ningún ensayo previo de Kaiser) para el remate final.

25 Etapa 16: Lavar 5 veces con diclorometano.

Etapa 17: Para realizar la desecación, lavar 5 veces con dietil-éter.

Se obtiene un compuesto de la fórmula general I, que junto al extremo terminal de C está unido con la resina.

30 Separación del compuesto conforme al invento con respecto de la resina:

La resina con el compuesto conforme al invento se agita en una solución acuosa de amoníaco (28-30 tantos por ciento en peso de NH₃ en H₂O) a 60°C durante 20 h. A continuación, la resina separada se retira por filtración y el material filtrado se concentra por evaporación en vacío y se seca. El producto bruto se purifica mediante una HPLC preparativa a través de una columna de RP-C18 con una mezcla de metanol y agua. Se obtiene el compuesto conforme al invento como un material sólido incoloro en un rendimiento de aproximadamente 50 %. La masa del compuesto conforme al invento es caracterizada con una MALDI-TOF (del inglés "Matrix Assisted Laser Desorption / Ionisation - Time Of Flight" = espectrometría de masas con desorción/ionización mediante láser, asistida por una matriz - tiempo de vuelo).

40 **Ejemplo 12: Prescripción general de síntesis para los compuestos conformes al invento con engarzadores:**

Mediante una unión secuencial de los compuestos de la fórmula general II o de unos compuestos de la fórmula general II obtenibles comercialmente, no protegidos o respectivamente protegidos con Z, que no tienen ningún centro asimétrico, o de aminoácidos así como de apropiados monómeros - engarzadores, se preparan los compuestos conformes al invento con engarzadores mediante una síntesis de péptidos en fase sólida.

45 Protocolo de síntesis:

Etapa 1: Hinchar previamente durante 3 h 10 mg de una resina (de Boc-Gly-PAM-MBHA, 0,54 mmol/g) en diclorometano.

Etapa 2: Comenzar el ciclo de síntesis: lavar 4 veces con diclorometano.

50 Etapa 3: Separar el Boc mediante reacción con una mezcla de TFA y m-cresol (95:5). Duración de la reacción: 2 veces cada vez 3 min

Etapa 4: Lavar 5 veces con diclorometano.

Etapa 5: Lavar 5 veces con NMP.

55 Etapa 6: Activar previamente durante 1 min 4 equivalentes del correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II o respectivamente de un aminoácido correspondientemente protegido con 3,8 equivalentes de HATU y 9 equivalentes de NMM en una mezcla de NMP y piridina (2:1).

Etapa 7: Hacer reaccionar el correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II o respectivamente un aminoácido correspondientemente protegido con la fase sólida (1^{er} acoplamiento; duración: 30 min).

Etapa 8: Lavar 4 veces con NMP.

60 Etapa 9: Lavar 1 vez con diclorometano.

Etapa 10: Repetir las etapas 6 hasta 8 (2^o acoplamiento).

Etapa 11: Comprobar la eficacia del acoplamiento con ninhidrina (ensayo de Kaiser; cuando el ensayo de Kaiser es positivo, las etapas 6 hasta 8 se tienen que repetir con el correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II).

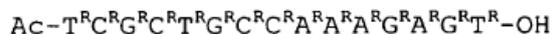
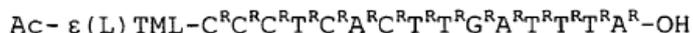
- Etapa 12: Después de un ensayo de Kaiser negativo, rematar 2 veces con una solución de Ac₂O/NMP/piridina (1:15:25) durante cada vez 4 min.
 Etapa 13: Lavar 5 veces con NMP.
 Etapa 14: Repetir el ciclo de síntesis (etapas 2 hasta 13) hasta el acoplamiento del engarzador eg1 (ácido 8-amino-2,6-dioxaoctanoico).
 Etapa 15: Acoplamiento del engarzador: lavar 4 veces con diclorometano.
 Etapa 16: Separar Boc por reacción con una mezcla de TFA y m-cresol (95:5). Duración de la reacción: 2 veces cada vez 3 min
 Etapa 17: Lavar 5 veces con diclorometano.
 Etapa 18: Lavar 5 veces con NMP.
 Etapa 19: Activar previamente durante 1 min 4 equivalentes de eg1 con 3,8 equivalentes de HATU y 9 equivalentes de NMM en una mezcla de NMP y piridina (2:1).
 Etapa 20: Hacer reaccionar el engarzador activado con la fase sólida (1^{er} acoplamiento; duración: 30 min).
 Etapa 21: Lavar 4 veces con NMP.
 Etapa 22: Lavar 1 vez con diclorometano.
 Etapa 23: Repetir las etapas 19 hasta 21 (2^o acoplamiento).
 Etapa 24: Comprobar la eficacia del acoplamiento con ninhidrina (con el ensayo de Kaiser; cuando el ensayo de Kaiser es positivo, se tienen que repetir las etapas 19 hasta 21).
 Etapa 25: Rematar 2 veces con una solución de Ac₂O/NMP/piridina (1:15:25) durante cada vez 4 min, después de un ensayo de Kaiser negativo.
 Etapa 26: Lavar 5 veces con NMP.
 Etapa 27: Repetir 2 veces el tramo de síntesis (etapas 15 hasta 26) para (eg1)₃.
 Etapa 28: Repetir el ciclo de síntesis (etapas 2 hasta 13) hasta el acoplamiento con el último correspondiente compuesto protegido de la fórmula general II. A continuación, repetir eventualmente el ciclo de síntesis (etapas 2 hasta 13) hasta el acoplamiento con el último aminoácido correspondientemente protegido.
 Etapa 29: Después del acoplamiento del último aminoácido correspondientemente protegido de la fórmula general II o respectivamente de un aminoácido correspondientemente protegido se llevan a cabo las etapas 2 hasta 5 para la última separación de Boc y las etapas 12 y 13 (sin ningún ensayo de Kaiser previo) para el remate final.
 Etapa 30: Lavar 5 veces con diclorometano.
 Etapa 31: Para realizar la desecación, lavar 5 veces con dietil-éter.

Se obtiene un compuesto conforme al invento con un engarzador, que está unido a la resina junto al extremo terminal de C.

- Separación del compuesto con engarzador conforme al invento a partir de la resina:
 La resina con el compuesto con engarzador conforme al invento, se agita en una solución acuosa de amoníaco (28-30 tantos por ciento en peso de NH₃ en H₂O) a 60°C durante 20 h. A continuación, la resina separada se retira por filtración y el material filtrado se concentra por evaporación en vacío y se seca. El producto bruto se purifica mediante una HPLC preparativa a través de una columna RP-C18 con una mezcla de metanol y agua. Se obtiene el compuesto con engarzador conforme al invento como un material sólido incoloro en un rendimiento de 50 %. La masa del compuesto con engarzador conforme al invento se caracteriza con MALDI-TOF.

Ejemplo 13: Otros ejemplos adicionales de secuencias

- Para la realización de la prescripción general de síntesis de los Ejemplos 11 o 12 se preparan otros compuestos conformes al invento:



Ac- ε(L) TML-cC^RtG^RtC^RtC^RtC^RaG^RtA^Rc-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-G^RtC^RtC^RtC^RaG^RtA^RcA^RaT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-G^RC^RT^RC^RC^RT^RC^RG^RC^RC^RC^RT^RT^RG^RC^R-ε(L) TML-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-G^RC^RT^RC^RC^RT^RC^RG^RC^RC^RT^RT^RG^RC^R-ε(L) TML-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-A^RG^RC^RT^RC^RC^RT^RC^RG^RC^RC^RC^RT^RT^RG^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-tC^RaC^RA^RtG^RgT^RgG^RcG^RaC^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-aG^RcT^RcC^RtC^RgC^RcC^RtT^RgC^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-tG^RgT^RcG^RgG^RT^RaG^RcG^RgC^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-cT^RgC^RaC^RgC^RtG^RcC^RgT^RcC^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-gT^RtC^RtG^RcT^RgG^RtA^RgT^RgG^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-C^RT^RT^RC^RG^RC^RA^RC^RT^RC^RA^R-ε(L) TML-Gly-NH₂
 Ac-cT^RtC^RgC^RaC^RtC^Ra-ε(L) TML-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-cT^RtC^RgC^RaC^RtC^Ra-eg1-eg1-eg1-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-cT^RtC^RgC^RaC^RtC^Ra-eg1-eg1-eg1-tJ^StJ^S-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-cT^RtC^RgC^RaC^RtC^Ra-eg1-eg1-eg1-tJ^RtJ^R-Gly-NH₂
 Ac-G^RC^RT^RG^RC^RC^RA^RA^RA^RG^RA^RG^RT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-tcgcT^RG^RC^RC^RA^RA^RA^Rgagt-Gly-NH₂
~~Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-T^RC^RG^RctgccaaagA^RG^RT^R-ε(L) TML-Gly-NH₂~~
 Ac- ε(L) TML-tcgcT^RG^RC^RC^RA^RA^RA^Rgagt-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-T^RC^RG^Rctgccaaagagt-ε(L) TML-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-ε(L) TML-T^RC^RgctgC^RC^RaaagaG^RT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-T^RcgC^RtgC^RcaA^RagA^Rgt-Gly-NH₂

Ac- ε(L) TML-ε(L) TML-T^RcgctgcC^Raaagag^RT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-tcgctgC^RC^Raaagagt-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-tcgct^RgccaaA^Rgagt-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-T^RcgctgccaaagagT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-tcgctgccaaagagT^R-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-T^Rcgctgccaaagagt-Gly-NH₂
 Ac- ε(L) TML-tcgctgccA^Raagagt-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-g^RcT^RcC^RcA^RaA^RgA^RtC^RtT^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-T^RcG^RgA^RgC^RcA^RgC^RcC^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-G^RtA^RtT^RcA^RgT^RgT^RgA^RtG^Ra-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-gC^RtA^RtT^RaC^RcT^RtA^RaC^RcC^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-gC^RaA^RaT^RtC^RtT^RaT^RtC^RcC^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-A^RaA^RtC^RaG^RgG^RtT^RaG^RgT^R-Gly-NH₂
 Flu-ε(L) TML-A^RaA^RtC^RaG^RgG^RtT^RaG^RgT^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-cG^RcC^RtT^RaT^RcC^RgT^RaG^RcC^R-Gly-NH₂
 Flu-ε(L) TML-cG^RcC^RtT^RaT^RcC^RgT^RaG^RcC^R-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-C^RgT^RgT^RcT^RgT^RgT^RtG^RtA^Rg-Gly-NH₂
 Ac-ε(L) TML-cA^RcG^RtA^RtG^RcT^RtC^RgT^RcT^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML) ₄-tA^RtT^RaC^RtT^RcT^RgG^RgC^RtG^R-Gly-NH₂
 LiRho- (ε(L) TML) ₄-tA^RtT^RaC^RtT^RcT^RgG^RgC^RtG^R-Gly-NH₂

LiRho = lisamina rodanina B (sulforrodamina B)

Ac- (ε(L) TML) ₄-cT^RcT^RtG^RaT^RaA^RaT^RtT^RgA^R-Gly-NH₂
 LiRho- (ε(L) TML) ₄-cT^RcT^RtG^RaT^RaA^RaT^RtT^RgA^R-Gly-NH₂
~~Ac- (ε(L) TML) ₄-tG^RgT^RgA^RaA^RtT^RgC^RtG^RcC^R-Gly-NH₂~~
 LiRho- (ε(L) TML) ₄-tG^RgT^RgA^RaA^RtT^RgC^RtG^RcC^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML) ₄-gA^RgC^RtC^RtT^RcG^RtC^RgC^RtG^R-Gly-NH₂
 LiRho- (ε(L) TML) ₄-gA^RgC^RtC^RtT^RcG^RtC^RgC^RtG^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML) ₄-cT^RcC^RaT^RtA^RtC^RaT^RtC^RtC^R-Gly-NH₂
 LiRho- (ε(L) TML) ₄-cT^RcC^RaT^RtA^RtC^RaT^RtC^RtC^R-Gly-NH₂

Ac- (ε(L) TML)₄-c^Rc^RT^Rg^Rt^RG^Rt^RG^Rt^RA^Rg^RT^Rt^RC^R-Gly-NH₂
 LiRho- (ε(L) TML)₄-c^Rc^RT^Rg^Rt^RG^Rt^RG^Rt^RA^Rg^RT^Rt^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-A^Rg^RC^Rt^Rcctc^RG^Rc^RC^RT^Rt^RG^Rc^R-Gly-NH₂
 TxRed- (ε(L) TML)₄-A^Rg^RC^Rt^Rcctc^RG^Rc^RC^RT^Rt^RG^Rc^R-Gly-NH₂

TxRed = rojo de Tejas (sulforrodamina 101)

Ac- (ε(L) TML)₄-A^Rg^RC^Rt^RC^RT^Rc^RG^Rc^RC^RT^Rt^Rgc^R-Gly-NH₂
 TxRed- (ε(L) TML)₄-A^Rg^RC^Rt^RC^RT^Rc^RG^Rc^RC^RT^Rt^Rgc^R-Gly-NH₂
 Ac- (L) Lys)₄-G^Rt^RA^Rt^RT^Rc^RA^Rgtgtg^RA^Rt^RG^Ra^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-G^Rt^RA^Rt^RT^Rc^RA^Rgtgtg^RA^Rt^RG^Ra^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-gtat^RT^Rc^RA^Rgtgtg^RA^Rt^RG^Ra^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-c^RG^Rc^RT^Ratccg^RT^Ra^RG^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys)₄-g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Rccctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 TxRed- (L-Lys)₄-g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Racctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Racctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 TxRed- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Racctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Racctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 TxRed- (ε(L) TML)₄-g^RC^Rt^RA^Rt^RT^Racctt^RA^Ra^RC^Rc^RC^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-acttG^Ra^RA^Rt^RtcgtA^Rt^RC^Rc^R-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 acttG^Ra^RA^Rt^RtcgtA^Rt^RC^Rc^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-acttG^Ra^RaattcgtA^Rt^RC^Rc^R-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 acttG^Ra^RaattcgtA^Rt^RC^Rc^R-Gly-NH₂
 Ac- (ε(L) TML)₄-gtgtA^RT^RA^RcacggA^RaT^Ra^R-Gly-NH₂
 Flu- (ε(L) TML)₄-gtgtA^RT^RA^RcacggA^RaT^Ra^R-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 gtgtA^RT^RA^RcacggA^RaT^Ra^R-Gly-NH₂

Flu-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-
 gtgtA^RtA^RcacggA^RaT^Ra-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-gtgtA^RtacacggA^RaT^Ra-Gly-NH₂
 Flu-(ε(L)TML)₄-gtgtA^RtacacggA^RaT^Ra-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-ctgcT^RgC^RtgctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-
 ctgcT^RgC^RtgctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-ctgcT^RgctgctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-
 ctgcT^RgctgctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-agctC^RcT^RcggtA^RgT^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-
 agctC^RcT^RcggtA^RgT^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-agctC^RctcggtA^RgT^Rc-Gly-NH₂
 Ac-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Lys)-(L-Arg)-(L-Lys)-(L-Val)-
 agctC^RctcggtA^RgT^Rc-Gly-NH₂
 Ac-gtccC^RtG^RaagatG^RtC^Ra-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-gtccC^RtG^RaagatG^RtC^Ra-Gly-NH₂
 Ac-gtatT^RcA^RgtgtgA^RtG^Ra-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-gtatT^RcA^RgtgtgA^RtG^Ra-Gly-NH₂
 Ac-gtcgC^RtG^RtctccG^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-gtcgC^RtG^RtctccG^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-ctccA^RtG^RgtgctC^RaC^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(DEPABS)₂-Gly-ctccA^RtG^RgtgctC^RaC^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-ggctC^RcC^RaaagaT^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(DEPABS)₂-Gly-ggctC^RcC^RaaagaT^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-tcggA^RgC^RcagccC^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(DEPABS)₂-Gly-tcggA^RgC^RcagccC^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(ε(L)TML)₄-tcccA^RgC^RgtgcgC^RaC^Rt-Gly-NH₂
 Ac-(DEPABS)₂-Gly-tcccA^RgC^RgtgcgC^RaC^Rt-Gly-NH₂

Ac- (ϵ (L) TML)₄-catcC^RcA^RgcctcC^RgT^Rt-Gly-NH₂
 Ac- (DEPABS)₂-Gly-catcC^RcA^RgcctcC^RgT^Rt-Gly-NH₂
 Ac- (ϵ (L) TML)₄-gtcgcC^RtG^RtctccG^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac- (DEPABS)₂-Gly-gtcgcC^RtG^RtctccG^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 gtcgcC^RtG^RtctccG^RcT^Rt-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 ctgcT^RgC^RtgtctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac- (DEPABS)₂-Gly-ctgcT^RgC^RtgtctgC^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac-L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 agctC^RcT^RcgcccT^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac- (DEPABS)₂-Gly-agctC^RcT^RcgcccT^RtG^Rc-Gly-NH₂
 Ac- (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Lys) - (L-Arg) - (L-Lys) - (L-Val) -
 gcgtG^RtG^RggaagG^RcA^Rg-Gly-NH₂
 Ac- (DEPABS)₂-Gly-gcgtG^RtG^RggaagG^RcA^Rg-Gly-NH₂
 DOTA- ϵ (L) TML-C^RaG^RtT^RaG^RgG^RtT^RaG^R-Gly-NH₂

Ejemplo 14: Efecto antisentido más fuerte de compuestos conformes al invento en comparación con oligómeros estereoquímicamente heterogéneos

5 Unas células H9, que están infectadas crónicamente con la cepa 1-NL-4-3 de VIH, se lavan dos veces con un tampón de PBS, con el fin de eliminar los virus ya producidos. Las células se incuban en una placa de 96 pocillos con 10⁴ células/pocillo, con 4 pocillos por cada muestra, en 200 μ l de un medio de cultivo con o sin un compuesto conforme al invento, o respectivamente con ritonavir en el caso de una concentración. Después de 5 días, de cada uno de los 4 pocillos se sacan 40 μ l de la suspensión de células y se desactivan con 40 μ l de Nonidet P-40.

10 La cantidad del antígeno GAG de p24 se determina mediante un ensayo ELISA cuantitativo (ELISA en emparedado con biotina y estreptavidina y HRP (peroxidasa de rábano picante)) según el método clásico del Instituto de Microbiología Aplicada de Viena (Institut für Angewandte Mikrobiologie Wien). Como patrón se utilizan las muestras con una cantidad conocida de p24, con el fin de determinar la curva patrón.

15 En este contexto, en el caso de los oligómeros estereoquímicamente heterogéneos con la secuencia TCGCTGCCAAAGAGT-NH₂ se pudo comprobar una reducción en un 21 % de la cantidad de p24 en comparación con la muestra no tratada. Los compuestos conformes al invento con la secuencia T^RA^RG^RA^RG^RC^RT^RT^RC^RC^R-NH₂, que son más cortos, muestran una reducción aumentada en un 36 %.

Ejemplo 15: Eficacia frente a VIH durante 2 generaciones filiales

20 Unos linfocitos T CD4⁺ humanos (M8166) se incubaron previamente durante 24 horas con los compuestos conformes al invento y a continuación se infectaron con VIH (primera infección). Después de 6 días se había separado el material sobrenadante con los virus de la IH neoformados, mediante centrifugación con respecto de las células. El material sobrenadante se diluyó hasta un grado tal como es necesario para obtener en el caso de la infección consecutiva (la segunda infección) una reproducción de los VIH en una

25 región medible según el método clásico (de aproximadamente 1/5.000). A continuación, unas células no infectadas (M8166) se infectaron con los VIH procedentes del material sobrenadante diluido y se midió la cantidad de p24 después de otros 6 días con ayuda de un ELISA cuantitativo para p24.

30 En el experimento, se utilizaron unos compuestos conformes al invento con una secuencia de VIH eficaz (concordancia), los cuales, debido a su secuencia, se pueden fijar al ARN de VIH. Además, se emplearon unos compuestos conformes al invento, cuya secuencia no tiene ninguna coincidencia para realizar una fijación con el ARN de VIH (ninguna concordancia). Los valores de medición obtenidos a partir del ELISA cuantitativo para p24 después de la segunda infección, se compararon con los valores de medición que se habían obtenido asimismo a partir del testigo positivo, en el que no se empleó ninguno de los compuestos conforme al invento, y se han recopilado en la siguiente Tabla.

Ningún compuesto conforme al invento (testigo positivo)					
P24 [%]	100				
Compuestos conformes al invento (concordancia): Ac-ε(L)TML-T ^R C ^R G ^R C ^R T ^R G ^R C ^R C ^R A ^R A ^R A ^R G ^R A ^R G ^R T ^R -ε(L)TML-Gly-NH ₂					
Concentración [μM]	25	12,5	6,25	3,125	1,5625
P24 [%]	18	20	73	48	68
Compuestos conformes al invento (ninguna concordancia): Ac-ε(L)TML-G ^R C ^R T ^R C ^R C ^R T ^R C ^R G ^R C ^R C ^R T ^R T ^R G ^R C ^R -ε(L)TML-Gly-NH ₂					
Concentración [μM]	25	12,5	6,25	3,125	1,5625
P24 [%]	64	84	84	71	90

Sin embargo, después de la segunda infección, en el caso de los compuestos conformes al invento con una secuencia de VIH, en el caso de las dos concentraciones más altas empleadas se puede reconocer una manifiesta reducción del contenido en p24.

5

Ejemplo 16: Enriquecimiento de los compuestos conformes al invento en células con la secuencia diana

Los compuestos conformes al invento se enriquecen de una manera sorprendentemente fuerte en las células, en las que está presente una secuencia complementaria de ADN o respectivamente de ARN.

10

En un correspondiente experimento, los compuestos conformes al invento con una secuencia de VIH, que se pueden fijar a una secuencia complementaria de ADN o respectivamente de ARN, se marcaron con fluoresceína (Flu). Con estos compuestos conformes al invento marcados se incubaron una vez linfocitos T CD4⁺ humanos (M8166), infectados con VIH, y otra vez linfocitos T CD4⁺ humanos (M8166), no infectados con VIH.

15

El análisis por FACS (de "Fluorescence Activated Cell Sorting" = clasificación de células activada por fluorescencia) de las respectivas células muestra un enriquecimiento esencialmente más fuerte de los compuestos conformes al invento con la secuencia de VIH, en las células infectadas con VIH, en las que está presente una secuencia complementaria de ADN o respectivamente de ARN.

20

En la Figura 2 se representan los correspondientes resultados mediante utilización del compuesto Flu- ε(L)TML-T^RC^RG^RC^RT^RG^RC^RC^RA^RA^RA^RG^RA^RG^RT^R-Gly-NH₂ conforme al invento.

Ejemplo 17: Comparación de la capacidad de acceso a las células de diversos compuestos conformes al invento

25

Con la misma estructura del ensayo que en el Ejemplo 16 se comparó la capacidad de acceso a las células de los compuestos conformes al invento, en los que junto a cada centro asimétrico se encuentra un radical sustituido R¹, con la capacidad de acceso a las células de los compuestos conformes al invento, en los que junto a uno de cada dos centros asimétricos el radical R¹ se ha reemplazado por un átomo de H.

30

Los análisis por FACS de las respectivas células no muestran ninguna diferencia en la capacidad de acceso a las células entre los dos compuestos conformes al invento.

En la Figura 3 se representan los correspondientes resultados mediante utilización del compuesto Flu-εTML-T^RC^RG^RC^RT^RG^RC^RC^RA^RA^RA^RG^RA^RG^RT^R-Gly-NH₂ conforme al invento.

35

En la Figura 4 se representan los correspondientes resultados mediante utilización del compuesto Flu-εTML-t^RC^RG^Rt^RG^Rc^Ra^Ra^RG^Ra^RG^Rt^R-Gly-NH₂ conforme al invento.

Ejemplo 18: Detección de los compuestos conformes al invento en el tejido del tracto gastrointestinal y de la vejiga natatoria de peces Medaka

40

Unos peces Medaka se mantuvieron durante dos días en una solución 100 μM del compuesto TxRed-(εTML)₄-A^RG^RC^RT^RC^RT^RCG^RCC^RCT^RTGC-Gly-NH₂ conforme al invento y luego se transfirieron a un agua fresca. A continuación, se investigó la distribución del compuesto conforme al invento dentro de los peces en el día 1, así como en las días 2 y 5 después de la transferencia a un agua fresca, bajo el microscopio de fluorescencia. Las imágenes muestran, que, incluso después de 5 días, los compuestos conformes al invento son detectables todavía en el tracto gastrointestinal.

45

La Figura 5 muestra las correspondientes fotografías con microscopio de fluorescencia.

Ejemplo 19: Reducción in vivo de los contenidos de colesterol, ApoB100 y ApoB48 en ratones mediante un tratamiento por vía intravenosa con compuestos conformes al invento

El compuesto $\text{Ac}-(\epsilon\text{TML})_4\text{-gtatT}^{\text{R}}\text{cA}^{\text{R}}\text{gtgtgA}^{\text{R}}\text{tG}^{\text{R}}\text{a-Gly-NH}_2$ conforme al invento, que representa una secuencia de concordancia con la secuencia diana de ApoB100, se investigó en cuanto a su actividad farmacológica en ratones. Como testigo negativo sirvió en este caso la inyección con un tampón de PBS puro. En este caso, a los ratones se les administraron por vía intravenosa en tres días consecutivos tres diferentes concentraciones (25 mg kg^{-1} , $12,5 \text{ mg kg}^{-1}$, $6,24 \text{ mg kg}^{-1}$) del compuesto conforme al invento efectivo (disuelto en un tampón de PBS) y el testigo en porciones de 0,1 ml una vez al día. Al cuarto día se extrajeron muestras de sangre de los ratones y se investigaron sus contenidos de colesterol, ApoB100 y ApoB48. Los valores de la siguiente Tabla indican los contenidos de colesterol y de ApoB100 en relación con los ratones tratados solamente con una PBS.

5

Compuesto conforme al invento: $\text{Ac}-(\epsilon\text{TML})_4\text{-gtatT}^{\text{R}}\text{cA}^{\text{R}}\text{gtgtgA}^{\text{R}}\text{tG}^{\text{R}}\text{a-Gly-NH}_2$			
Concentración [mg/kg]	25	12,5	6,25
colesterol [%]	75	85	98
ApoB 100 [%]	59	67	--
ApoB 48 [%]	68	74	80

10

Los resultados muestran una reducción, manifiesta y dependiente de la concentración, de los contenidos de colesterol, ApoB100 y ApoB48 en la sangre de ratones.

Ejemplo 20: Eficacia de los compuestos conformes al invento contra un cáncer

15 El compuesto $\text{Ac}-\epsilon\text{TML-T}^{\text{R}}\text{cG}^{\text{R}}\text{gA}^{\text{R}}\text{gC}^{\text{R}}\text{cA}^{\text{R}}\text{gCcC}^{\text{R}}\text{cT}^{\text{R}}\text{t-Gly-NH}_2$ conforme al invento, que constituye una secuencia de concordancia con la secuencia diana para Her2/neu, se investigó en cuanto al efecto inhibitor de la proliferación del linaje de células MDA453, que sobreexpresa Her2/neu. Como testigo negativo sirvieron en este caso el compuesto $\text{Ac}-\epsilon\text{TML-cG}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{t}^{\text{R}}\text{aT}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{gT}^{\text{R}}\text{aG}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{-Gly-NH}_2$ conforme al invento, que no constituye ninguna secuencia de concordancia con la secuencia diana para Her2/neu, así como unas células testigo MDA453 no tratadas.

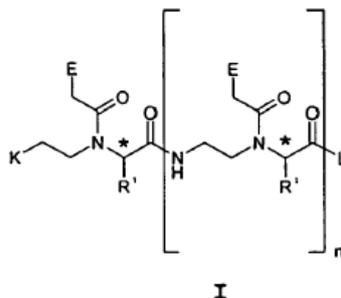
20 Entre 5.000 y 10.000 células MDA453 se cosechan en el día 1 en placas de 96 pocillos. En el día 2 se añade la secuencia de concordancia conforme al invento o respectivamente la secuencia testigo conforme al invento en una concentración de en cada caso $1 \mu\text{M}$. En los días 3, 4 y 5 se recambia el medio celular y se reemplaza por un medio fresco, que contiene los compuestos conformes al invento en cada caso en una concentración de $1 \mu\text{M}$. El efecto inhibitor de la proliferación se determina mediante determinación del contenido de ADN en los pocillos individuales mediante yoduro de propidio.

25

Ningún compuesto conforme al invento (testigo negativo)	
ADN [%]	100
Compuesto conforme al invento (concordancia): $\text{Ac}-\epsilon\text{TML-T}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{G}^{\text{R}}\text{gA}^{\text{R}}\text{gC}^{\text{R}}\text{cA}^{\text{R}}\text{gC}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{cT}^{\text{R}}\text{t-Gly-NH}_2$	
ADN [%]	67
Compuesto conforme al invento (ninguna concordancia): $\text{Ac}-\epsilon\text{TML-cG}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{t}^{\text{R}}\text{aT}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{gT}^{\text{R}}\text{aG}^{\text{R}}\text{cC}^{\text{R}}\text{-Gly-NH}_2$	
ADN [%]	103

REIVINDICACIONES

1. Componente de la fórmula general I,



realizándose que

5 **n** es un número entero de 7 a 35,

cada uno de los **E** es, independientemente unos de otros, un átomo de H, un radical fenilo sustituido o sin sustituir, un heterociclo sustituido o sin sustituir, una nucleobase sustituida eventualmente con grupos protectores, o un agente intercalador de ADN,

10 cada uno de los **R**¹ es, independientemente unos de otros, un átomo de H o una cadena lateral de un aminoácido natural o no natural, o un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo, heterocíclico o alicíclico eventualmente sustituido, que tiene hasta 20 átomos de C, estando sustituido por lo menos uno de los radicales alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituidos, que tienen hasta 20 átomos de C, con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos,

15 **K** es un grupo de la fórmula -NR²R³, -N[⊕]R²R³R⁴, -NR²(CO)R³ o -NR²(CS)R³, siendo los **R**², **R**³ y **R**⁴, independientemente unos de otros, un átomo de H, un radical alquilo, un grupo protector de amino, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un agente extintor de FRET o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales precedentes,

20 **L** es un grupo de la fórmula -NR⁵R⁶, -NR⁵(CO)R⁶, -NR⁵(CS)R⁶, -OR⁷ o -SR⁷, siendo los **R**⁵ y **R**⁶, independientemente unos de otros, un radical alquilo, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, una amida de un aminoácido, un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un extintor de FRET o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales antes mencionados, y siendo **R**⁷ un átomo de H, un radical alquilo, un ligando reportero, un marcador de fluorescencia, un agente intercalador, un compuesto quelador, un aminoácido, una amida de un aminoácido, un péptido, una amida de un péptido, una proteína, un hidrato de carbono, un lípido, un esteroide, un ácido graso, un oligonucleótido, un punto cuántico, un extintor de FRET o un polímero soluble o insoluble en agua, pudiendo estar eventualmente sustituido cada uno de los radicales precedentes,

35 teniendo el compuesto de la fórmula **I** por lo menos 2 centros asimétricos, y

teniendo por lo menos un 70 % de los centros asimétricos, que contienen radicales con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, la configuración R o la configuración S, cuando en el compuesto de la fórmula general **I** están presentes de 2 a 36 centros asimétricos y de 1 a 36 radicales **R**¹ eventualmente sustituidos con una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.

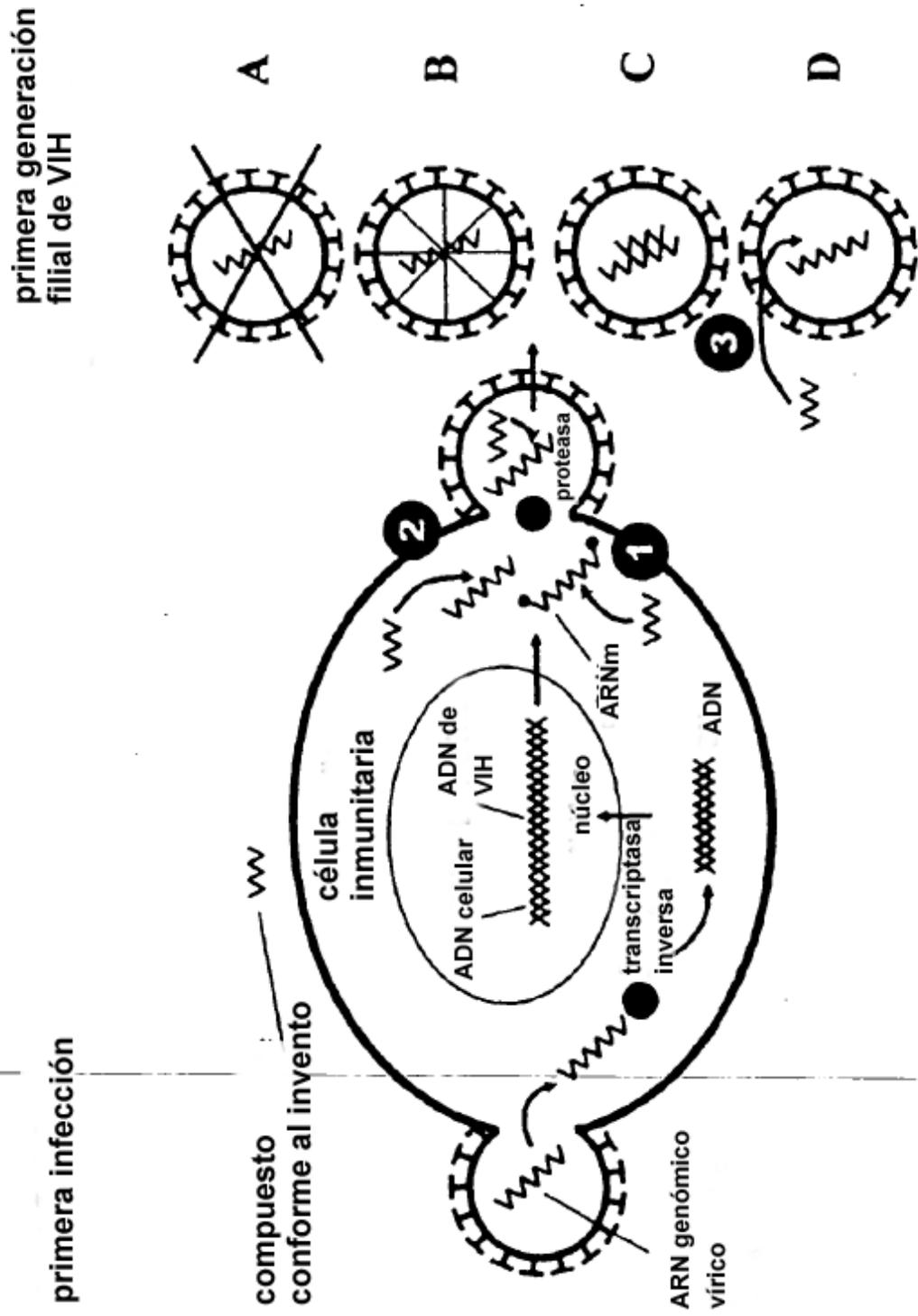
40 2. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, siendo uno de cada dos radicales **R**¹ o uno de cada tres radicales **R**¹, independientemente unos de otros, un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, con hasta 20 átomos de C, y los demás radicales **R**¹ restantes átomos de H.

45 3. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, siendo dos, tres o más radicales **R**¹ contiguos, independientemente unos de otros, radicales alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclicos, eventualmente sustituidos, con hasta 20 átomos de C, y los demás radicales **R**¹ restantes átomos de H.

50 4. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, siendo cada uno de los radicales **R**¹, independientemente unos de otros, un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico eventualmente sustituido, con hasta 20 átomos de C.

5. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, teniendo uno o varios de los radicales R^1 , independientemente unos de otros, funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos.
- 5 6. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, teniendo todos los centros asimétricos la misma configuración.
7. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, teniendo todos los centros asimétricos la configuración (S).
- 10 8. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6, teniendo todos los centros asimétricos la configuración (R).
- 15 9. Compuesto de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones anteriores, teniendo cada uno de los R^1 , independientemente unos de otros, una o varias funciones de ésteres de ácidos fosfónicos o de ácidos fosfónicos, poseyendo las funciones de ésteres de ácidos fosfónicos la fórmula $-P(=O)(OV)_2$ o $-P(=O)(OV)(OH)$, siendo cada uno de los V , independientemente unos de otros, un radical alquilo, alquenilo, alquilarilo, arilo o alicíclico sin sustituir, con hasta 20 átomos de C.
- 20 10. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, siendo cada uno de los V , independientemente unos de otros, un radical metilo, etilo, ciclohexilo o bencilo.
- 25 11. Compuesto, que contiene por lo menos dos compuestos de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 10, que están unidos uno con otro a través de un engarzador, siendo el engarzador, en particular, una cadena de alquilo, un péptido, un oligonucleótido o un oligómero, que está constituido por lo menos por tres unidades de ácido 8-amino-3,6-dioxa-octanoico.
12. Composición, que contiene por lo menos un compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores.
- 30 13. Composición farmacéutica, que contiene por lo menos un compuesto o una composición de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12, eventualmente en combinación con por lo menos un vehículo, un disolvente u otra sustancia auxiliar farmacéutica.
- 35 14. Utilización de un compuesto o de una composición de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 12 o de una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 13 para la producción de un medicamento destinado al tratamiento de enfermedades víricas, cánceres, enfermedades inflamatorias, enfermedades neurológicas, enfermedades del tracto gastrointestinal o enfermedades metabólicas, en particular para el tratamiento del VIH, del SIDA o de la hepatitis, o para el tratamiento de cáncer de piel, de pulmón, de hígado, de próstata, leucemia o tumores cerebrales, o para el tratamiento de asma o psoriasis, o para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, o para el tratamiento de un cáncer de intestino, de la enfermedad de Crohn o de la obesidad, o para el tratamiento de enfermedades, que están vinculadas con un nivel aumentado de colesterol en la sangre.
- 40

Figura 1



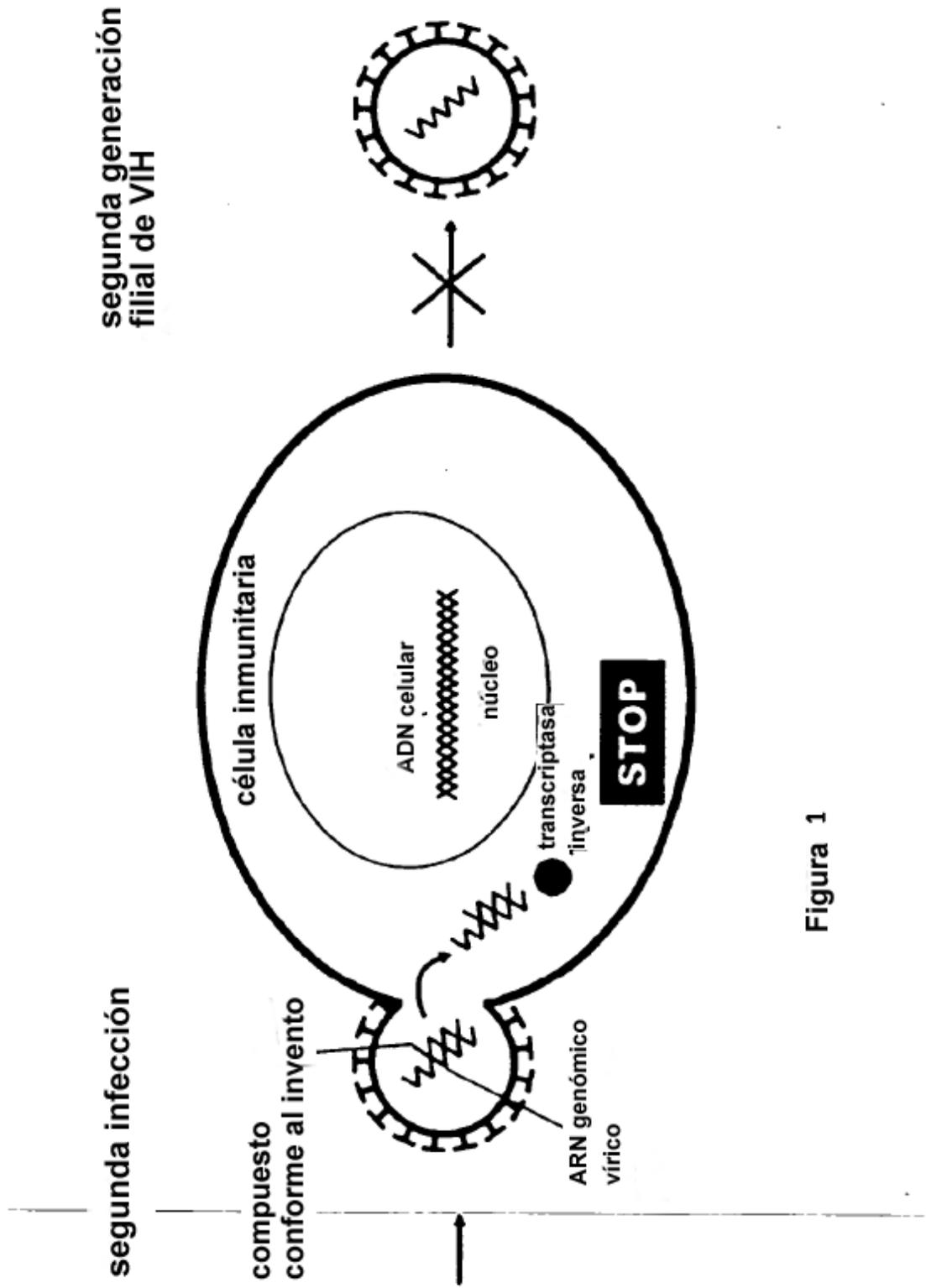
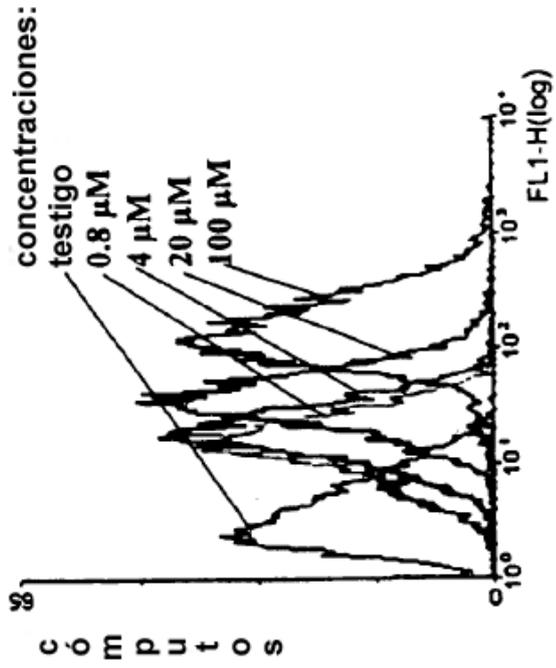
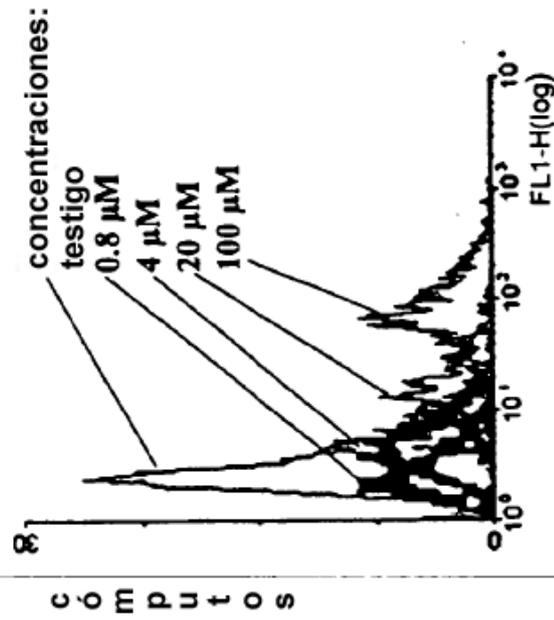


Figura 1

Figura 2



M8166 infectado con VIH



M8166 no infectado con VIH

Figura 3

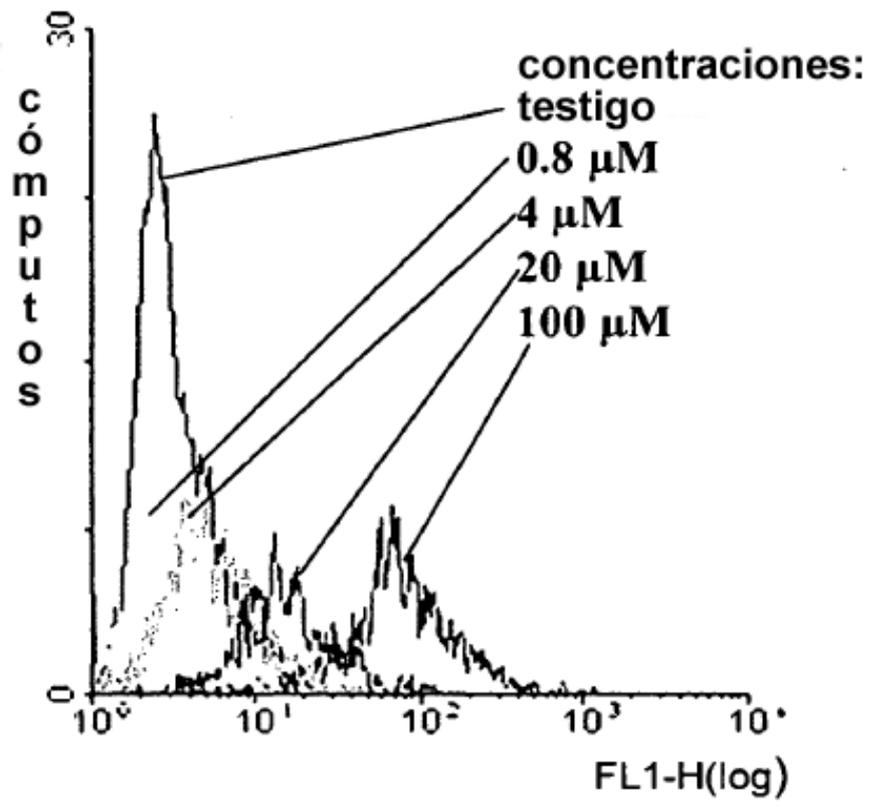


Figura 4

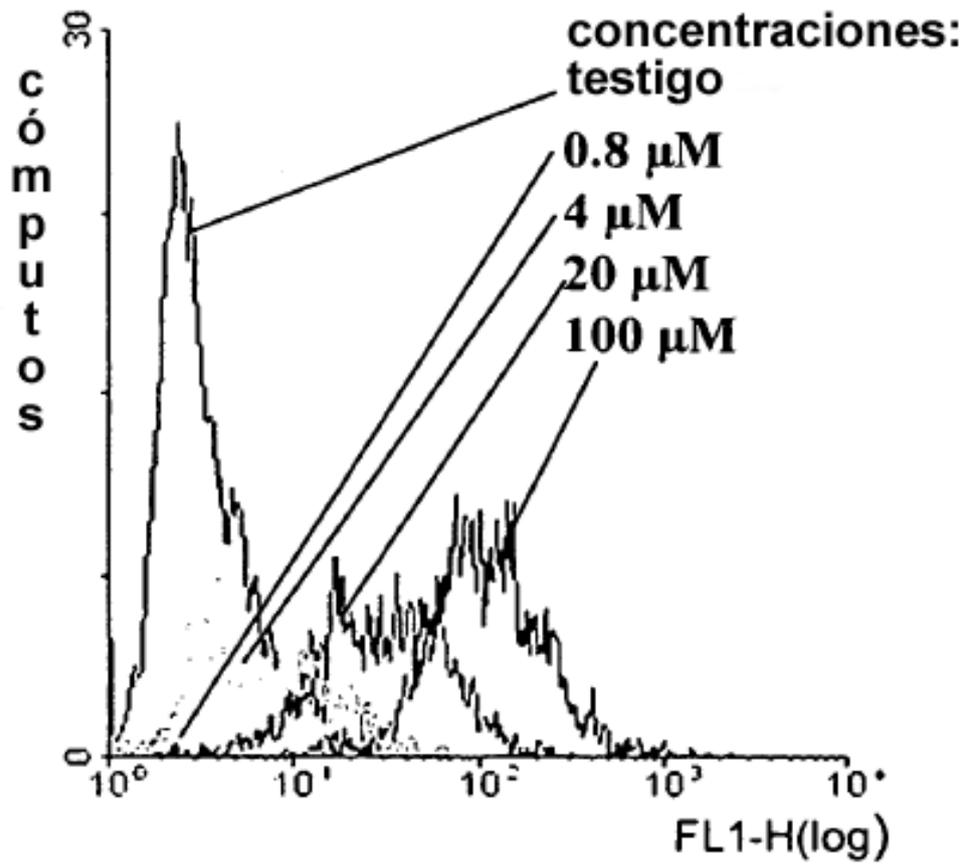


Figura 5

Localización de los compuestos conformes al invento en el tracto gastrointestinal y en la vejiga natatoria en peces Medaka (día 1 después de una transferencia a un agua fresca)



Tracto gastrointestinal y vejiga natatoria del pez Medaka

Localización de los compuestos conformes al invento en el tracto gastrointestinal y en la vejiga natatoria en peces Medaka (día 2 después de una transferencia a un agua fresca)



Localización de los compuestos conformes al invento en el tracto gastrointestinal y en la vejiga natatoria en peces Medaka (día 5 después de una transferencia a un agua fresca)

