



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 368 012**

51 Int. Cl.:
C07H 19/20 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61K 31/708 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07824684 .0**
96 Fecha de presentación : **23.11.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2097434**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.09.2009**

54 Título: **Arlifosforamidatos de nucleósido y su uso como agentes antivirales para el tratamiento del virus de la hepatitis C.**

30 Prioridad: **24.11.2006 GB 0623493**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
11.11.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
11.11.2011

73 Titular/es:
**University College Cardiff Consultants Ltd.
P.O. Box 497, 30-36 Newport Road
Cardiff, Wales CF24 0DE, GB
Katholieke Universiteit Leuven**

72 Inventor/es: **McGuigan, Christopher y
Perrone, Plinio**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 368 012 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

Arlifosforamidatos de nucleósido y su uso como agentes antivirales para el tratamiento del virus de la hepatitis C

La presente invención se refiere a compuestos químicos, su preparación y su uso en el tratamiento y la profilaxis de infecciones virales, en especial en el homo sapiens. En particular, aunque no exclusivamente, la presente invención se refiere a compuestos químicos útiles como agentes antivirales activos con respecto al virus de la hepatitis C (VHC).

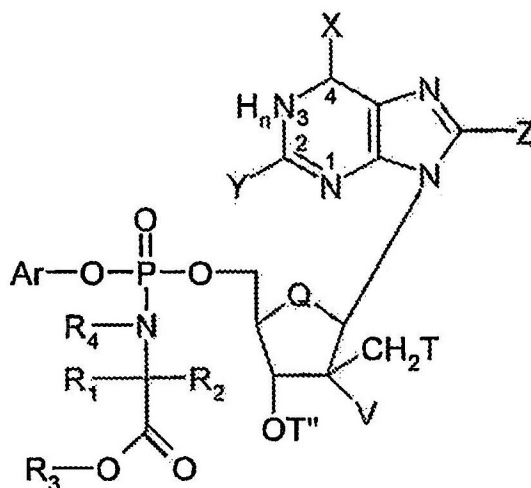
El documento WO 2006/012078 A describe algunos arlifosforamidatos de nucleósido, su síntesis y su uso como precursores de los inhibidores de la ARN polimerasa viral dependiente de ARN, en particular su uso como precursores de los inhibidores de la polimerasa NS5B del virus de la hepatitis C (VHC), como precursores de los inhibidores de la replicación del VHC, y para el tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C.

El documento WO 2006/100439 A se refiere a fosforamidatos de cladribina, isocladribina, fludaribina y clofarbina y a su uso en el tratamiento de un cáncer tal como la leucemia.

La activación mediada por cinasas intracelulares de los compuestos descritos en el documento WO 2006/100439 A con respecto a su uso en el tratamiento del cáncer es diferente a la activación mediada por cinasas intracelulares necesaria en el tratamiento y la profilaxis de las infecciones virales.

Es un objeto de la presente invención proporcionar compuestos químicos nuevos que proporcionen mejor profilaxis y tratamiento de las infecciones virales en el homo sapiens, en particular, mejor profilaxis y tratamiento de la infección por el virus de la hepatitis C en el homo sapiens.

Según un primer aspecto de la presente invención se proporciona un compuesto de fórmula I:



en la que:

Ar comprende naftilo;

T se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), flúor (-F), azido (-N₃), amino (-NH₂), hidroxilo (-OH), alquilo C₁₋₃ (C₁₋₃-), alcoxi C₁₋₃ (C₁₋₃O-), mercapto (-SH) y alquilo C₁₋₃ tio (C₁₋₃S-);

V se selecciona del grupo que consiste en -OT', hidrógeno (-H), flúor (-F) y cloro (-Cl), en el que T' se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), metilo (-CH₃), alquilo C₁₋₁₆ carbonilo (alquilo C₁₋₁₆-C(=O)-), alquenoil C₂₋₁₈ carbonilo (alquenoil C₂₋₁₈-C(=O)-), alcocarbonilo C₁₋₁₀ (alquilo C₁₋₁₀-O-C(=O)-), cicloalquilo C₃₋₆ carbonilo (cicloalquilo C₃₋₆-C(=O)-) y cicloalquilo C₃₋₆ oxicarbonilo (cicloalquilo C₃₋₆-O-C(=O)-);

T'' se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), metilo (-CH₃), alquilo C₁₋₁₆ carbonilo (alquilo C₁₋₁₆-C(=O)-), alquenoil C₂₋₁₈ carbonilo (alquenoil C₂₋₁₈-C(=O)-), alcoxi C₁₋₁₀ carbonilo (alquilo C₁₋₁₀-O-C(=O)-), cicloalquilo C₃₋₆ carbonilo (cicloalquilo C₃₋₆-C(=O)-) y cicloalquilo C₃₋₆ oxicarbonilo (cicloalquilo C₃₋₆-O-C(=O)-);

n es 0 o 1, en la que

cuando n es 1, X es =O, y

cuando n es 0, existe un enlace doble entre la posición 3 y la posición 4 y X se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

Z se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

Y se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆, alquino C₂₋₈ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

5 Q se selecciona del grupo que consiste en O, S y CR₇R₈, en el que R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de H, y el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alqueno C₂₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ alquilo C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, alquino C₂₋₂₀, cicloalquil C₃₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, arilo C₆₋₃₀, heterociclo C₅₋₂₀, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido; y

10 cada uno de R₃ y R₄ se selecciona independientemente de H, y el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alqueno C₂₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ alquilo C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, alquino C₂₋₂₀, cicloalquil C₃₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, arilo C₆₋₃₀, heterociclo C₅₋₂₀, cualquiera de los que cuales está opcionalmente sustituido, de preferencia R₃ es alquilo, de más preferencia R₃ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, 2-propilo, n-propilo, ciclohexilo, 2-butilo y bencilo;

15 con la condición de que R₁ y R₄ juntos puedan comprender una cadena de alqueno -(CH₂)₃;
y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.

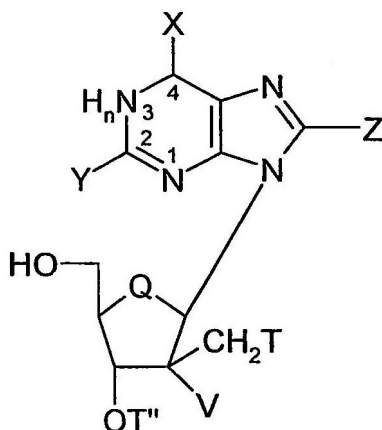
Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula I para uso en un procedimiento de tratamiento, adecuado para la profilaxis o el tratamiento de una infección viral, más adecuadamente en la profilaxis o el tratamiento del virus de la hepatitis C. Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula I en la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento de una infección viral, de preferencia un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del virus de la hepatitis C.

La solicitud además da a conocer un procedimiento de profilaxis o tratamiento de una infección viral, en particular por el virus de la hepatitis C, que comprende la administración de una dosis eficaz de un compuesto de fórmula I a un paciente, convenientemente un homo sapiens, que necesita dicho tratamiento.

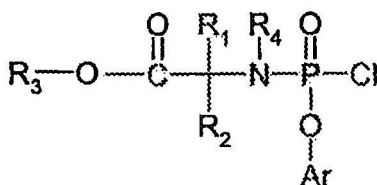
Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de combinar un compuesto de fórmula I con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, comprendiendo dicho proceso hacer reaccionar un compuesto de fórmula III:



con un compuesto de fórmula IV:



en la que Ar, T, V, T", n, X, Y, Z, Q, R₁, R₂, R₃ y R₄ tienen los significados que se presentaron anteriormente con respecto a la Fórmula I.

Se entenderá que la presente invención se extiende a intermediarios metabólicos de compuestos de fórmula I, en la que Ar es H y R₃ es H o R₃ es como se definió anteriormente.

- 5 Se aprecia que, considerando los compuestos definidos anteriormente con respecto a las Fórmulas I y III, un compuesto en el que n es 1 y X es =O es la forma tautomérica ceto de un compuesto enol por lo demás equivalente en el que n es 0 y X es OH.

10 La presente invención incluye especialmente a la guanina, como el resto base, en el que n es 1, X es = O, Y es NH₂ y no existe doble enlace entre la posición 3 y la posición 4, es decir entre el átomo de carbono del anillo que lleva el =O y el átomo de nitrógeno adyacente del anillo.

Se ha encontrado, sorprendentemente, que los compuestos que se incorporan en la presente invención tienen una mayor actividad antiviral. En particular, se ha encontrado que los compuestos que se incorporan a la presente invención tienen mayor potencia con respecto al virus de la hepatitis C.

15 Se cree que la mayor potencia antiviral de los compuestos de la presente invención se debe a la presencia en la molécula de fórmula I de la combinación de la entidad multianillos condensada de Ar en el resto fosforamido y al grupo metileno (-CH₂-) en la posición β-2' en el resto glucósido del nucleósido, con T, V y T" como se presentó anteriormente.

20 Ar es naftilo. La entidad naftilo está unida, de preferencia, a la entidad O-P en la posición 1 o α en el grupo naftilo, es decir, en un átomo de C adyacente al enlace condensado entre los dos anillos en el grupo naftilo. Cualquier otro sustituyente está presente, de preferencia, en la posición 4. De preferencia, Ar es 1-naftilo insustituido.

De preferencia, T se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (H-), flúor (F-), metilo (CH₃-) y etilo (C₂H₅-).

De preferencia, V se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (H-), flúor (F-) y OT', en el que T" es hidrógeno (H-) o metilo (CH₃-).

De preferencia, T" es hidrógeno (H-).

- 25 Una combinación de preferencia de T, V y T" es T = H, V = OH y T" = H.

La combinación de las entidades preferidas mencionadas anteriormente para Ar con T = H, V = OH y T" = H resulta especialmente de preferencia.

30 De preferencia n es 1 y X es =O. De más preferencia, n es 1, X es =O e Y es NH₂ y el resto base del nucleósido corresponde a guanina unida a través de la posición 9. En el caso en que Z es H, el resto base del nucleósido corresponde a guanina insustituida unida a través de la posición 9. En el caso en que Z no es H, el resto base del nucleósido corresponde a guanina sustituida en posición la 8 unida a través de la posición 9.

Como alternativa, de preferencia n es 0 y X se selecciona del grupo que consiste en NH₂, F, Cl y NR₅R₆ en el que uno de R₅ y R₆ es H y uno de R₅ y R₆ es alquilo C₁₋₆. En el caso en que n es 0, X es NH₂, Y es H y Z es H, el resto base del nucleósido corresponde a adenina unida a través de la posición 9.

- 35 De preferencia, Y se selecciona del grupo que consiste en H, F, Cl, NH₂ y NR₅R₆ en el que uno de R₅ y R₆ es H y uno de R₅ y R₆ es alquilo C₁₋₆.

De preferencia, Z se selecciona del grupo que consiste en H, F y Cl.

De preferencia, Q es O.

40 De preferencia, R₃ es alquilo. De más preferencia, R₃ se selecciona del grupo que consiste en metilo (-CH₃), etilo (CH₃CH₂-), 2-propilo ((CH₃)₂CH-), n-propilo (CH₃-CH₂-CH₂-), ciclohexilo (C₆H₁₁-), 2-butilo ((CH₃)C(H)(CH₂CH₃-) y bencilo (C₆H₅CH₂-), de más preferencia aún R₃ se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, 2-propilo y bencilo, de más preferencia aún R₃ se selecciona del grupo que consiste en etilo y bencilo.

De preferencia, R₄ es H o, junto con R₁, comprende -(CH₂)₃- de manera de proporcionar un grupo que corresponde a prolina.

- 45 De preferencia, R₁ y R₂ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, 2-propilo ((CH₃)₂CH-), bencilo (C₆H₅CH₂-) y -CH₂ isopropilo ((CH₃)₂C(H)-CH₂-) o se seleccionan de manera tal que correspondan a las cadenas laterales de un aminoácido natural.

De preferencia, uno de R₁ y R₂ es metilo (-CH₃) y uno de R₁ y R₂ es H, de manera tal que el átomo de C al que están unidos R₁ y R₂ tenga quiralidad L como en la alanina natural.

Los compuestos de preferencia tienen en combinación las identidades de preferencia para Ar, T, V, T', T'', X, Y, Z, Q, R¹, R², R³ y R⁴ como se presentaron anteriormente.

En particular, los compuestos de preferencia tienen:

n = 1, X = =O, Y = NH₂, Z = H, Q = O, T = H, V = OH y T'' = H y por lo tanto derivan de guanina; y

5 n = 0, X = NH₂, Y = Z = H, Q = O, T = H, V = OH y T'' = H y por lo tanto derivan de la adenina.

Cada uno de los compuestos particularmente de preferencia presentados en el párrafo inmediato anterior y por consiguiente derivados de guanina o adenina resultan especialmente de preferencia cuando cada uno de Ar, R₁, R₂, R₃ y R₄ tienen las identidades de preferencia como se presentaron anteriormente, y resulta especialmente de preferencia el caso en el que Ar es 1-naftilo y R₃ es bencilo o etilo.

10 Los compuestos particularmente de preferencia se describen en los Ejemplos 2, 3, 4, 6, 7, 8 y 11 y se presentan a continuación en la Tabla II.

El centro de fósforo en los compuestos de fórmula I puede ser un diastereoisómero R_P o S_P o puede ser una mezcla de los diastereoisómeros R_P o S_P. De preferencia, es un diastereoisómero puro. De manera adecuada, se selecciona el diastereoisómero más activo.

15 De manera adecuada, las sales, solvatos y profármacos farmacológicamente aceptables de los compuestos de fórmula I son ésteres o amidas en el 3'-OH del resto glicósido del grupo nucleósido.

De preferencia, el procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula I incluye la etapa de proteger los grupos OH libres, aparte del 5' en el resto glicósido del grupo nucleósido. El fosforocloridato se puede preparar a partir de un ariloxi fosforodichloridato y un derivado de aminoácido adecuadamente protegido. Como alternativa, se puede usar química de fosfato con agentes de condensación adecuados.

20

Cada uno de Ar, R₁, R₂, R₃ y R₄ pueden estar sustituidos con uno, dos, tres, cuatro, cinco o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que comprende restos donadores de electrones y grupos aceptores de electrones.

Los sustituyentes en Ar se seleccionan de manera adecuada independientemente del grupo que consiste en hidroxilo (OH-), acilo (R'C(=O)-), aciloxi (R'C(=O)O-), nitro (-NO₂), amino (-NH₂), -SO₃H, -SH, R'S-, en el que R' se selecciona independientemente del mismo grupo que se presentó anteriormente como R₁; carboxilo (-COOH), ésteres C₁₋₆, aldehído C₁₋₆, ciano (-CN), alquil C₁₋₆ amino, dialquil C₁₋₆ amino, tiol, cloro, bromo, flúor, yodo, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alcoxi-C₁₋₆ alquilo C₁₋₆, alcoxi-C₁₋₆ arilo C₅₋₁₀, cicloalquilo C₅₋₇, cicloalquil C₅₋₁₁ alquilo C₁₋₆, cicloalquenilo C₅₋₇, cicloalquinilo C₅₋₇, aril C₅₋₁₁ alquilo C₁₋₆, alquil C₁₋₆ arilo C₅₋₁₁, fluoroalquilo C₁₋₆ y fluoroalquenilo C₂₋₆. Cada sustituyente puede ser sustituido por cualquier otro sustituyente.

30

Los sustituyentes en R₁, R₂, R₃ y R₄ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidroxilo (-OH), acilo (R'C(=O)-), aciloxi (R'C(O=)O-), nitro (-NO₂), amino (-NH₂), amido (-CONH₂), -SO₃-H, -SH, -SR', en el que R' se selecciona de manera independiente del mismo grupo que se presentó anteriormente como R₁, carboxilo (-COOH), ésteres C₁₋₆, aldehído C₁₋₆, ciano (CN-), alquil C₁₋₆ amino, dialquil C₁₋₆ amino, tiol, cloro, bromo, flúor, yodo, cicloalquilo C₅₋₇, cicloalquenilo C₅₋₇, cicloalquinilo C₅₋₇, arilo C₅₋₁₁, aril C₅₋₁₁ alquilo C₁₋₆ y heterociclilo C₅₋₂₀. Cada sustituyente puede estar sustituido por cualquier otro sustituyente.

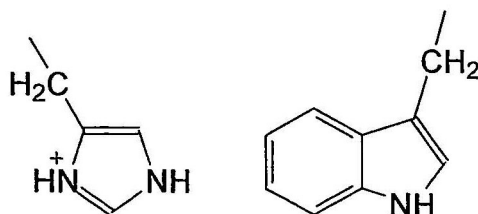
35

R₁ y R₂ se seleccionan de manera adecuada independientemente del grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alcoxi C₂₋₁₀ alquilo C₁₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀ arilo C₆₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, cicloalquilo C₃₋₂₀, cicloalquenilo C₃₋₂₀, cicloalquinilo C₄₋₂₀ y heterociclilo C₅₋₁₀.

40 R₁ y R₂ se seleccionan adecuadamente de las cadenas laterales de aminoácidos naturales o sintéticos.

R₁ y/o R₂ son de preferencia una cadena lateral de un aminoácido natural seleccionado del grupo que consiste en glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, triptófano, serina, treonina, lisina, arginina, histidina, ácido aspártico, ácido glutámico, asparagina, glutamina, cisteína y metionina. Específicamente, R₁ y/o R₂ se seleccionan de preferencia del grupo que consiste en H, CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)(CH₂CH₃), -CH₂Ph, -CH₂Ph-OH, -CH₂SH, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂OH, -CH(CH₃)(OH), -CH₂CH₂CH₂CH₂NH₃⁺, -CH₂CH₂CH₂NHC(=NH₂⁺)NH₂, -CH₂C(O)O-, -CH₂CH₂C(O)O-, -CH₂C(O)NH₂, -CH₂CH₂C(O)NH₂,

45



50

pueden estar cada uno sustituidos por uno, dos, tres o más sustituyentes, tal como se define en el presente documento con respecto a las definiciones de alcoxi y arilo, respectivamente.

5 Según se utiliza en el presente documento, el término "cicloalquilarilo" se refiere a un grupo arilo que tiene un sustituyente alquilo cíclico. El enlace es a través del grupo arilo. El resto cicloalquilo y el resto arilo son como se definen en el presente documento con respecto a las definiciones de cicloalquilo y arilo, respectivamente. El resto cicloalquilo y el resto arilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos por uno, dos, tres o más sustituyentes tal como se presenta en el presente documento con respecto a las definiciones de alquilo y arilo, respectivamente.

10 Excepto cuando se establezca de otro modo, con respecto a la definición de "Ar", según se utiliza en el presente documento, el término "arilo" se refiere a un radical carbocíclico aromático insaturado y monovalente que tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis anillos, de preferencia uno, dos o tres anillos, que pueden estar condensados o ser bicíclico. Un grupo arilo puede opcionalmente estar sustituido por uno, dos, tres o más sustituyentes tal como se presentó anteriormente con respecto a sustituyentes opcionales que pueden estar presentes en el grupo Ar. Los grupos arilo preferidos son: un anillo aromático monocíclico que contiene 6 átomos de carbono; un sistema de anillos aromáticos, bicíclico o condensado que contiene 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono; o un sistema de anillos aromáticos tricíclico que contiene 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de carbono. Ejemplos no limitantes de arilo incluyen fenilo y naftilo. Los grupos sustituyentes de preferencia se seleccionan independientemente de hidroxilo (-OH), acilo (R'-C(=O)-), aciloxi (R'-C(=O)-O-), nitro (-NO₂), amino (-NH₂), -SO₃H, -SH, -SR', en el que R' se selecciona independientemente de los mismos grupos que R₁; carboxilo (-COOH), ciano (-CN), alquil C₁₋₆ amino, dialquil C₁₋₆ amino, tiol, cloro, bromo, flúor y yodo.

20 Según se utiliza en el presente documento, el término "heterociclilo" se refiere a un sistema de anillos heterocíclico, saturado o parcialmente insaturado, que tiene uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis anillos, de preferencia uno, dos o tres anillos, que pueden estar condensados o ser bicíclico, y que contiene dentro del anillo o anillos al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en N, O y S. El sufijo "C₅₋₂₀" o "C₅₋₁₀" que se utiliza después de heterociclilo significa, respectivamente, un sistema de anillos de cinco a veinte o de cinco a diez miembros de los cuales al menos uno se selecciona del grupo que consiste en N, O y S. Los sistemas de heterociclilo de preferencia son: un sistema de anillos monocíclico que tiene cinco miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que opcionalmente contiene un átomo de O adicional o uno, dos o tres átomos de N adicionales; un anillo monocíclico que tiene seis miembros de los cuales uno, dos o tres miembros son átomos de N; un sistema de anillos bicíclico que tiene nueve miembros de los cuales al menos un miembro es un átomo de N, O o S y que opcionalmente contiene uno, dos o tres átomos de N adicionales; o un sistema de anillos bicíclico que tiene diez miembros de los cuales uno, dos o tres miembros son átomos de N. Los ejemplos incluyen, y no se limitan a, pirrolinilo, pirrolidinilo, 1,3-dioxolanilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, pirazolinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo o piperazinilo.

35 Los átomos de carbono y/o heteroátomos de los sistemas de anillos de "heterociclilo" descritos anteriormente pueden estar sustituidos en el anillo con uno o más heteroátomos. En el caso en que el (los) anillo(s) está(n) sustituido(s) con uno o más heteroátomos, los sustituyentes heteroátomos se seleccionan de oxígeno, nitrógeno, azufre y halógeno (F, Cl, Br y I). En el caso en que el (los) anillo(s) está(n) sustituido(s) con uno o más heteroátomos, de preferencia hay 1, 2, 3 o 4 sustituyentes heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en oxígeno, nitrógeno y/o halógeno. Los grupos sustituyentes de preferencia se seleccionan independientemente de hidroxilo, acilo, aciloxi, nitro, amino, SO₃H, SH, SR', en el que R' se selecciona independientemente del mismo grupo que R; carboxilo, ciano, alquilamino C₁₋₆, dialquilamino C₁₋₆, tiol, cloro, bromo, flúor y yodo.

El procedimiento se realiza de preferencia en presencia de un disolvente adecuado.

45 Los disolventes adecuados incluyen disolventes de hidrocarburos, tales como el benceno y el tolueno; disolventes de tipo éter, tales como el éter dietílico, tetrahidrofurano, éter difenílico, anisol y dimetoxibenceno; disolventes de hidrocarburos halogenados, tales como el cloruro de metileno, cloroformo y clorobenceno; disolventes de tipo cetona, tales como acetona, metiletilcetona y metilisobutilcetona; disolventes de tipo alcohol, tales como metanol, etanol, propanol, isopropanol, alcohol n-butílico y alcohol terc-butílico; disolventes de tipo nitrilo, tales como el acetoniitrilo, propionitrilo y benzonitrilo, disolventes de tipo éster, tales como el acetato de etilo y el acetato de butilo; disolventes de tipo carbonato, tales como el carbonato de etileno y el carbonato de propileno; y similares. Estos se pueden utilizar solos o se pueden utilizar dos o más de ellos en una mezcla.

50 De preferencia, en el procedimiento de la presente invención se utiliza un disolvente inerte. La expresión "disolvente inerte" significa un disolvente inerte en las condiciones de la reacción descritas conjuntamente con la misma, que incluyen, por ejemplo, benceno, tolueno, acetoniitrilo, tetrahidrofurano, dimetilformamida, cloroformo, cloruro de metileno (o diclorometano), éter dietílico, acetato de etilo, acetona, metiletil cetona, metanol, etanol, propanol, isopropanol, terc-butanol, dioxano, piridina, y similares. El tetrahidrofurano es particularmente de preferencia.

De preferencia, el procedimiento de la presente invención se lleva a cabo en condiciones sustancialmente de sequedad.

Según se utiliza en el presente documento, el término "estereoisómero" define a todos los compuestos posibles formados por los mismos átomos unidos por la misma secuencia de enlaces pero con diferentes estructuras tridimensionales que no son intercambiables, que pueden poseer los compuestos de la presente invención.

5 En el caso en que los compuestos según la presente invención tienen al menos un centro quiral, los mismos pueden existir en consecuencia como enantiómeros. En el caso en que los compuestos poseen dos o más centros quirales, los mismos pueden existir además como diastereómeros. En el caso en que los procedimientos para la preparación de los compuestos según la invención dan lugar a mezcla de estereoisómeros, estos isómeros pueden separarse por medio de técnicas convencionales, tales como la cromatografía preparativa. Los compuestos se pueden preparar en forma estereoquímicamente mixta o se pueden preparar enantiómeros individuales por medio de técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo, por síntesis o resolución enantioespecífica, formación de pares diastereoméricos por formación de sales con un ácido ópticamente activo, seguida por cristalización fraccionada y regeneración de la base libre. Los compuestos también se pueden resolver por formación de amidas o ésteres diastereoméricos, seguido por la separación cromatográfica y eliminación del auxiliar quiral. Como alternativa, los compuestos se pueden resolver utilizando una columna de HPLC quiral. Debe entenderse que todos esos isómeros y las mezclas de los mismos están incluidos en el ámbito de la presente invención.

Además, debe apreciarse que el centro fosfato es quiral en los compuestos de la presente invención y que los compuestos pueden existir como diastereómeros Rp y Sp. La composición del compuesto puede ser una mezcla de Rp y Sp o un diastereómero puro. De preferencia, el compuesto es un único isómero sustancialmente puro.

20 Puede haber una mezcla de diastereómeros Rp a Sp de 1:1. Como alternativa, puede haber una relación de diastereómeros Rp a Sp de 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:15, 1:20, 1:50 o 1:100 o viceversa.

El término "solvato" significa un compuesto de, según se define en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de estructura (I) o (II), en el que se incorporan moléculas de un disolvente adecuado en la red cristalina. Un disolvente adecuado es fisiológicamente tolerable en la dosis administrada. Ejemplos de disolventes adecuados son el etanol, el agua y similares. Cuando el disolvente es agua, la molécula se conoce como hidrato.

Los compuestos de la presente invención también pueden estar presentes en forma de sales farmacéuticamente aceptables. Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de la presente invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Las formas de sales farmacéuticamente aceptables autorizadas por la FDA (Ref. International J. Pharm. 1986, 33, 201-217; J. Pharm. Sci., enero de 1977, 66 (1)) incluyen sales ácidas/aniónicas o básicas/catiónicas farmacéuticamente aceptables.

Las sales ácidas/aniónicas farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limita a, acetato, benzenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, glicceptato, gluconato, glutamato, glicilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, pamoato, pantotenato, fosfato, difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato y trietyoduro.

Las sales básicas/catiónicas farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limita a, aluminio, benzatina, calcio, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, litio, magnesio, potasio, procaína, sodio y cinc.

40 La solicitud da a conocer además profármacos de los compuestos de la presente invención. En general, tales profármacos serán derivados funcionales de los compuestos que son fácilmente convertibles in vivo en el compuesto necesario. Por consiguiente, el término "administrar" incluirá el tratamiento de los diversos trastornos descritos con el compuesto específicamente dado a conocer o con un compuesto que puede no darse a conocer específicamente, pero que se convierte en el compuesto especificado in vivo después de la administración al sujeto. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados profármacos adecuados se describen, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985.

Los derivados de éster farmacéuticamente aceptables en los que uno o más grupos hidroxilo libres están esterificados en forma de un éster farmacéuticamente aceptable son ésteres profármacos especialmente que pueden resultar convertibles por solvolisis en condiciones fisiológicas en los compuestos de la presente invención que tienen grupos hidroxilo libres.

Las composiciones farmacéuticas para uso según la presente invención pueden ser formuladas de una manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. Estas composiciones farmacéuticas pueden fabricarse de una manera conocida de por sí, por ejemplo, por medio de procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulación, producción de grageas, levigación, emulsión, encapsulamiento, atrapamiento o liofilización. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

Se puede administrar el compuesto que tiene la fórmula I o una composición farmacéutica según la presente invención a un paciente, que puede ser homo sapiens o animal, por cualquier medio adecuado.

5 Los medicamentos utilizados en la presente invención se pueden administrar por vía oral o parenteral, incluyendo administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica, por las vías aéreas (aerosoles), rectal, vaginal y tópica (incluyendo bucal y sublingual).

Para la administración oral, los compuestos de la invención se presentarán por lo general en forma de comprimidos o cápsulas, en forma de polvo o gránulos, o como una disolución o suspensión acuosa.

10 Los comprimidos para uso oral pueden incluir el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como diluyentes inertes, agentes disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y conservantes. Los diluyentes inertes incluyen el carbonato de sodio y de calcio, el fosfato de sodio y de calcio y la lactosa, mientras que el almidón de maíz y el ácido algínico son agentes disgregantes adecuados. Los agentes aglutinantes pueden incluir almidón y gelatina, mientras que el agente lubricante, si está presente, por lo general será estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse con un material tal como el monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, para retrasar la absorción en el tracto gastrointestinal.

Las cápsulas para uso oral incluyen cápsulas duras de gelatina en las que se mezcla el ingrediente activo con un diluyente sólido, y cápsulas blandas de gelatina en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un aceite tal como el aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

20 Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar como un supositorio con una base adecuada que comprende por ejemplo manteca de cacao o un salicilato.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal se pueden presentar como pesarios, tampones, cremas, geles, pomadas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen, además del ingrediente activo, vehículos que en la técnica se sabe que son adecuados.

25 Para uso intramuscular, intraperitoneal, subcutáneo e intravenoso, los compuestos de la invención se proporcionarán por lo general en disoluciones o suspensiones acuosas estériles, tamponadas a un pH e isotonicidad adecuados. Los vehículos acuosos adecuados incluyen la solución de Ringer y el cloruro de sodio isotónico. Las suspensiones acuosas según la invención pueden incluir agentes de suspensión tales como derivados de celulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y goma de tragacanto, y un agente humectante, tal como la lecitina. Los conservantes adecuados para suspensiones acuosas incluyen p-hidroxibenzoato de etilo y de n-propilo.

30 Los compuestos de la invención también se pueden presentar como formulaciones de liposomas.

35 En general, una dosis adecuada estará en el intervalo de 0,1 a 300 mg por kilogramo de peso corporal del paciente por día. Una dosis más baja de preferencia es de 0,5 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día, una dosis menor de más preferencia es de 1 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por día. Una dosis adecuada es de preferencia en el intervalo de 1 a 50 mg por kilogramo de peso corporal por día, y de más preferencia en el intervalo de 1 a 10 mg por kilogramo de peso corporal por día. La dosis deseada se presenta de preferencia como dos, tres, cuatro, cinco, seis o más sub-dosis administradas a intervalos adecuados durante todo el día. Estas sub-dosis pueden administrarse en forma de monodosis que contienen, por ejemplo, de 10 a 1500 mg, de preferencia de 20 a 1000 mg, y de mayor preferencia de 50 a 700 mg del principio activo por forma de monodosis.

40 Ejemplos

Las formas de realización de la presente invención se describirán ahora sólo a manera de ejemplo con respecto a los siguientes ejemplos.

45 Los compuestos diana se prepararon haciendo reaccionar el nucleósido adecuado, su precursor modificado, con el fosforocloridato necesario. Los últimos reactivos se prepararon mediante procedimientos publicados a partir de aril fosforocloridato con clorhidratos de ésteres de aminoácidos. Se presentan varios ejemplos.

Procedimiento convencional C2: Preparación de fosforamidatos de nucleósido modificado con 2',3'-ciclopentilideno

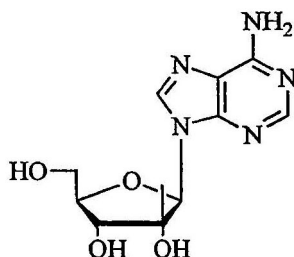
50 Se disolvieron ^tBuMgCl (2,0 equivalentes mol) y 2',3'-ciclopentilideno, 4'-azido-citidina (1,0 equivalentes mol) en tetrahidrofurano seco (THF) (31 equivalentes mol) y se agitó durante 15 minutos. A continuación, se añadió gota a gota una disolución 1 M del fosforocloridato adecuado (2,0 equivalentes mol) en THF seco, posteriormente se agitó durante la noche. Se añadió una disolución saturada de NH₄Cl y se eliminó el disolvente bajo presión reducida dando un sólido amarillo, que por consiguiente se purificó.

Procedimiento convencional C3: Preparación de fosforamidatos de nucleósido modificado

Se disolvieron fosforamidatos de nucleósido modificado con 2',3'-ciclopentilideno en una disolución al 80% de ácido fórmico en agua durante 4 horas. El disolvente se eliminó bajo presión reducida dando un sólido blanco, que por consiguiente se purificó.

5 Procedimiento convencional C4: Preparación de fosforamidatos de nucleósido modificado

Se disolvieron fosforamidatos de nucleósido modificado con 2' 3'-isopropilideno en una disolución al 60% de ácido acético en agua a 90 °C durante la noche. El disolvente se eliminó bajo presión reducida dando un sólido blanco, que por consiguiente se purificó.

Ejemplo 1 (Referencia)**10 Síntesis de β -2'-metil-adenosina (CHC1)**

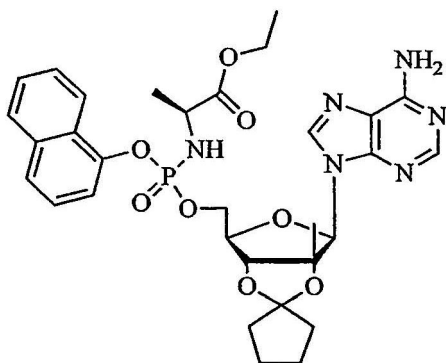
15

Se añadió N6-terc-butanoil- β -2'-metil-2',3',5'-tribenzoil-adenosina (400 mg, 0,590 mmol) a una disolución de MeOH saturada con amoníaco y se agitó a temperatura ambiente. Tras 12 horas, se eliminó el disolvente y el sólido obtenido se purificó por medio de cromatografía en columna en gradiente comenzando con una mezcla 9:1 de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ y a continuación con una mezcla 8:2. El producto puro se obtuvo como un sólido blanco (120 mg, 0,427 mmol, 72%).

20

δ_{H} (d_6 -DMSO): 8,47 (1H, s, H8-adenosina), 8,15 (1H, s, H2-adenosina), 7,30 (1H, s, NH_2 -adenosina), 5,95 (1H, s, H1'-adenosina), 5,25-5,21 (3H, m, OH5'-adenosina, OH3'-adenosina, OH2'-adenosina), 4,12-4,05 (1H, d, H3'-adenosina, $J = 8,6$ Hz), 3,91 (1H, m, H4'-adenosina), 3,84 (1H, m, H5'-adenosina), 3,70 (1H, m, H5'-adenosina), 0,77 (3H, s, CH_3 -adenosina); δ_{C} (d_6 -DMSO): 156,02 (1C, C6-adenosina), 152,53 (1C, C2-adenosina), 149,01 (1C, C4-adenosina), 138,68 (1C, C8-adenosina), 118,67 (1C, C5-adenosina), 90,78 (1C, C1'-adenosina), 82,52 (1C, C4'-adenosina), 78,46 (1C, C2'-adenosina), 71,63 (1C, C3'-adenosina), 59,47 (1C, C5'-adenosina), 19,83 (1C, CH_3 -2'-adenosina). Análisis calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4$: C 46,97%, H 5,38%, N 24,90%. Hallado: C 46,67%, H 5,22%, N 24,20%.

25

30 Ejemplo 2**Síntesis de 5'-O-[fenil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidin- β -2'-metil-adenosina**

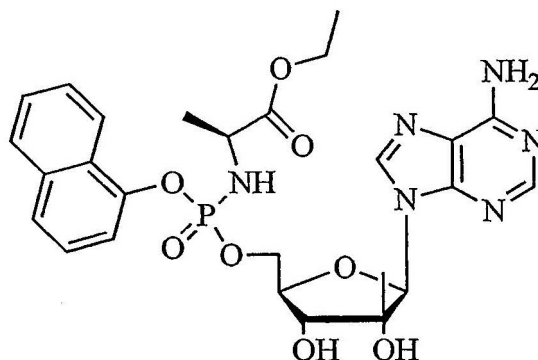
35

Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-ciclopentilidin- β -2'-metil-adenosina (60 mg, 0,172 mmol), $^i\text{BuMgCl}$ (0,5 ml, disolución 1 M en THF, 0,519 mmol) y α -naftil(etoxi-L-alaninil) fosforocloridato (0,5 ml de disolución 1 M en THF, 0,519 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (30 mg, 0,046 mmol, 26%).

40

δ_P (d_4 -CH₃OH): 4,31, 4,26; δ_H (d_4 -CH₃OH): 8,19 (1H, s, H2-adenosina), 8,10 (1H, s, H8-adenosina), 7,88 (1H, m, CH-naftilo), 7,73 (1H, m, CH-naftilo), 7,57-7,52 (4H, m, CH-naftilo), 7,45-7,43 (1H, m, CH-naftilo), 6,26 (1H, m, H1'-adenosina), 4,56-4,42 (4H, m, H4'-adenosina, H3'-adenosina, 2 H5'-adenosina), 4,08 (3H, m, CH α , CH₂-etilo), 2,21-2,09 (2H, m, CH₂-ciclopentilo), 1,76-1,71 (6H, m, 3 CH₂-ciclopentilo), 1,35 (3H, d, CH₃-alanina, J = 6,9 Hz), 1,25 (3H, m, CH₃-etilo), 0,95 (3H, s, CH₃2'-adenosina).

Síntesis de 5'-O-[α -naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-adenosina (CHC2)

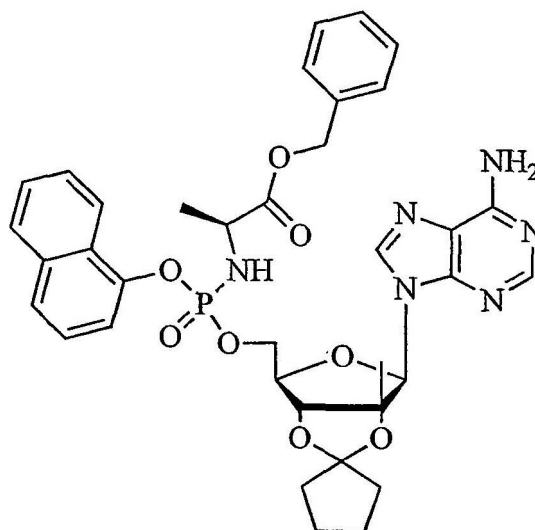


Se preparó según el Procedimiento convencional C3, a partir de 5'-O-[α -naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidín- β -2'-metil-adenosina (30 mg, 0,036 mmol) y 10 ml de una disolución de HCOOH al 80% en agua. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (95:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (4 mg, 0,007 mmol, 19%). δ_P (d_4 -CH₃OH): 4,23, 4,20; δ_H (d_4 -CH₃OH): 8,24-8,19 (3H, m, H2-adenosina, H8-adenosina, CH-naftilo), 7,90 (1H, m, CH-naftilo), 7,63 (1H, CH-naftilo), 7,53 (4H, m, CH-naftilo), 7,41 (1H, m, CH-naftilo), 6,12 (1H, d, H1'-adenosina, J = 2,1 Hz), 4,61-4,59 (2H, d, H3'-adenosina, H4'-adenosina), 4,30 (1H, m, H5'-adenosina), 4,02-3,99 (3H, m, CH α , CH₂-etilo), 1,37 (3H, m, CH₃-alanina), 1,27 (3H, m, CH₃-etilo), 0,95 (3H, s, CH₃-2'-adenosina).

EM (EV) m/e: 609,2 (MNa⁺, 100%); masa exacta: C₂₆H₃₁N₆O₈NaP, requerido: 609,1846, hallado: 609,1839.

Ejemplo 3

Síntesis de 5'-O-[fenil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidín- β -2'-metil-adenosina



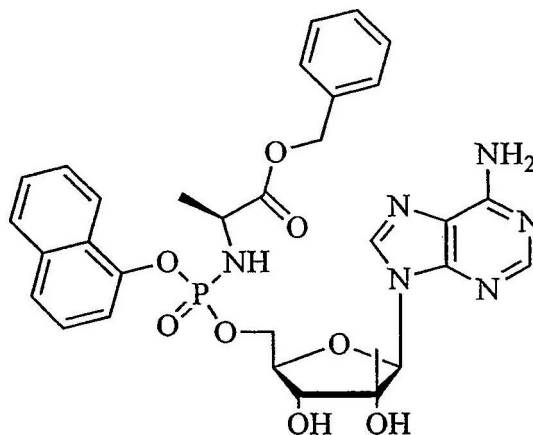
Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-ciclopentilidín- β -2'-metil-adenosina (40 mg, 0,115 mmol), ^tBuMgCl (0,35 ml, disolución 1 M en THF, 0,345 mmol) y α -naftil(benzoxi-L-alaninil) fosforocloridato (0,35 ml de disolución 1 M en THF, 0,345 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (20 mg, 0,028 mmol, 24%).

δ_P (d_4 -CH₃OH): 4,34, 4,18; δ_H (d_4 -CH₃OH): 8,50 (1H, s, H2-adenosina), 8,17 (1H, s, H8-adenosina), 7,90 (1H, m, CH-naftilo), 7,71 (1H, m, CH-naftilo), 7,69 (1H, CH-bencilo), 7,55-7,50 (3H, m, CH-naftilo, 2 CH-bencilo), 7,42-7,27 (6H,

m, 4 CH-naftilo, 2 CH-bencilo), 6,25 (1H, d, H1'-adenosina), 5,10 (2H, s, CH₂-bencilo), 4,61 (1H, m, H3'-adenosina), 4,41 (1H, m, H4'-adenosina), 4,15 (1H, m, CH α), 3,95 (1H, m, H5'-adenosina, J = 12,2 Hz), 3,85 (1H, m, H5'-adenosina, J = 12,2 Hz), 2,12-2,03 (2H, m, CH₂-ciclopentilo), 1,79-1,72 (6H, m, 3 CH₂-ciclopentilo), 1,37 (3H, d, CH₃-alanina, J = 7,2 Hz), 0,89 (3H, s, CH₃-2'-adenosina).

5 Síntesis de 5'-O-[α -naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-adenosina (CHC3)

10



15 Se preparó según el Procedimiento convencional C3, a partir de 5'-O-[α -naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidin- β -2'-metil-adenosina (30 mg, 0,036 mmol) y 10 ml de una disolución de HCOOH al 80% en agua. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (95:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (5 mg, 0,008 mmol, 21 %).

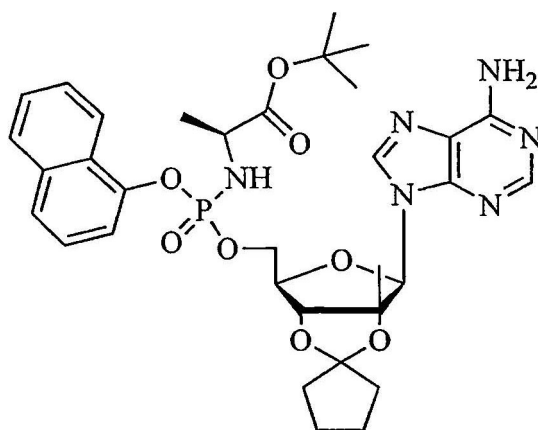
20 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,25, 4,14; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,04-7,95 (3H, m, H2-adenosina, H8-adenosina, CH-naftilo), 7,68 (1H, m, CH-naftilo), 7,48 (1H, m, CH-naftilo), 7,32-7,23 (3H, m, CH-naftilo, 2 CH-bencilo), 7,16 (1H, m, CH-naftilo), 7,05 (6H, m, 3 CH-naftilo, 3 CH-bencilo), 5,88 (1H, d, H1'-adenosina, J = 2,9 Hz), 4,85-4,65 (2H, m, CH₂-bencilo), 4,37-4,35 (2H, d, H3'-adenosina, H4'-adenosina), 4,06 (2H, m, H5'-adenosina), 3,88-3,83 (1H, m, CH α), 1,35 (3H, m, CH₃-alanina), 0,88 (3H, s, CH₃-2'-adenosina).

25 EM (EV) m/e: 671,2 (MNa⁺, 100%); masa exacta: C₃₁H₃₃N₆O₈NaP, requerido: 671,1990, hallado: 671,1995.

Ejemplo 4

Síntesis de 5'-O-[fenil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidin- β -2'-metil-adenosina

30



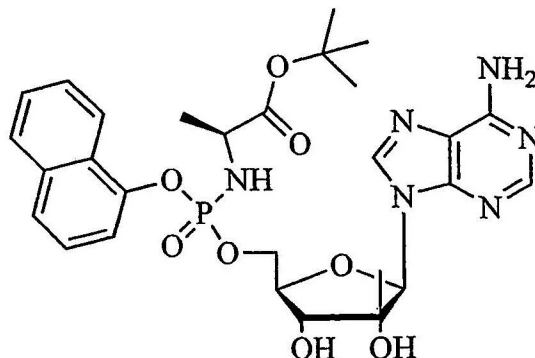
35

40 Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-ciclopentilidin- β -2'-metil-adenosina (60 mg, 0,172 mmol), ^tBuMgCl (0,51 ml, disolución 1 M en THF, 0,51 mmol) y α -naftil(terc-butoxi-L-alaninil) fosforocloridato (0,5 ml de disolución 1 M en THF, 0,519 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (27 mg, 0,039 mmol, 22%).

δ_P (d₄-CH₃OH): 4,37, 4,28; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,21 (1H, s, H2-adenosina), 8,13 (1H, s, H8-adenosina), 7,85 (1H, m, CH-naftilo), 7,73 (1H, m, CH-naftilo), 7,57-7,52 (4H, m, CH-naftilo), 7,43-7,41 (1H, m, CH-naftilo), 6,25 (1H, m, H1'-adenosina), 4,55-4,40 (4H, m, H4'-adenosina, H3'-adenosina, 2 H5'-adenosina), 4,05 (1H, m, CH α), 2,20-2,12 (2H,

m, CH₂-ciclopentilo), 1,79-1,69 (6H, m, 3 CH₂-ciclopentilo), 1,36 (9H, 3 CH₃-terc-butilo), 1,25 (3H, d, CH₃-alanina, J = 6,9 Hz), 0,96 (3H, s, CH₃-2'-adenosina).

Síntesis de 5'-O-[α-naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-adenosina (CHC4)

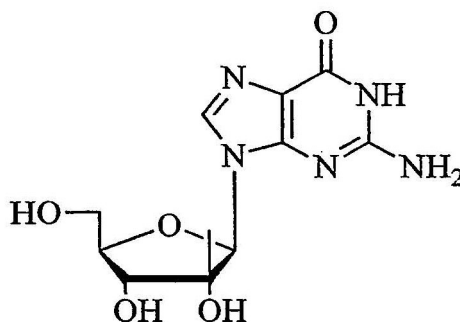


Se preparó según el Procedimiento convencional C3, a partir de 5'-O-[α-naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-ciclopentilidin-β-2'-metil-adenosina (27 mg, 0,039 mmol) y 10 ml de una disolución de HCOOH al 80% en agua. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (95:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (10 mg, 0,016 mmol, 41%).

δ_P (d₄-CH₃OH): 4,20, 4,08; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,20-8,15 (3H, m, H2-adenosina, H8-adenosina, CH-naftilo), 7,81 (1H, m, CH-naftilo), 7,60 (1H, CH-naftilo), 7,54 (4H, m, CH-naftilo), 7,39 (1H, m, CH-naftilo), 6,15 (1H, d, H1'-adenosina), 4,63-4,57 (2H, d, H3'-adenosina, H4'-adenosina), 4,31 (1H, m, H5'-adenosina), 4,00-3,97 (1H, m, CHα), 1,39 (9H, 3 CH₃-terc-butilo), 1,27 (3H, m, CH₃-alanina), 0,97 (3H, s, CH₃-2'-adenosina).

Ejemplo 5 (Referencia)

Síntesis de β-2'-metil-guanosina (CHC5)



Se añadió N2-acetil-β-2'-metil-2',3',5'-tribenzoil-guanosina (1,42 g, 2,18 mmol) a una disolución de MeOH saturada con amoníaco y se agitó a temperatura ambiente. Tras 12 horas se eliminó el disolvente y el sólido obtenido se purificó por medio de cromatografía en columna usando como eluyente una mezcla 8:2 de CHCl₃/MeOH. El producto puro se obtuvo como un sólido blanco (565 mg, 1,90 mmol, 87%).

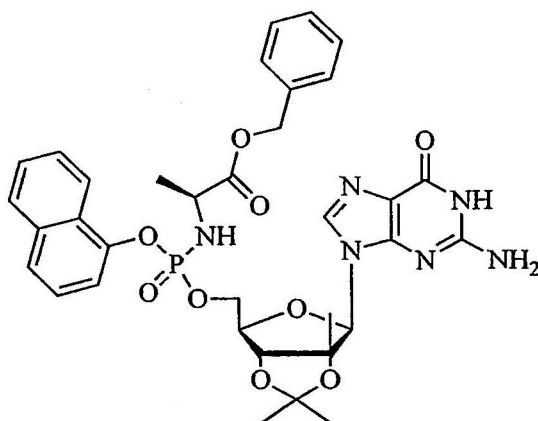
δ_H (d₆-DMSO): 10,52 (1H, s, NH1-guanosina), 8,48 (1H, s, H8-guanosina), 6,52 (2H, s, NH₂2-guanosina), 5,73 (1H, s, H1'-guanosina), 5,24 (1H, d, OH3'-guanosina, J = 6,3 Hz), 5,11 (1H, m, OH5'-guanosina), 5,03 (1H, s, OH2'-guanosina), 3,97 (1H, m, H3'-guanosina), 3,85-3,79 (2H, m, H4', H5'-guanosina), 3,66 (1H, d, H5'-guanosina, J = 12,2 Hz), 0,81 (3H, s, CH₃-2'-guanosina); δ_C (d₆-DMSO): 156,72 (1C, C6-guanosina), 153,68 (1C, C2-guanosina), 150,77 (1C, C4-guanosina), 135,07 (1C, C8-guanosina), 116,38 (1C, C5-guanosina), 90,10 (1C, C1'-guanosina), 82,30 (1C, C3'-guanosina), 78,52 (1C, C2'-guanosina), 71,63 (1C, C4'-guanosina), 59,40 (1C, C5'-guanosina), 19,96 (1C, CH₃-2'-guanosina).

EM (EV) m/e: 320,2 (MNa⁺, 100%); masa exacta: C₁₁H₁₅N₅O₅Na, requerido: 320,0968, hallado: 320,0971.

Ejemplo 6

Síntesis de 5'-O-[fenil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilidin-β-2'-metil-guanosina

5

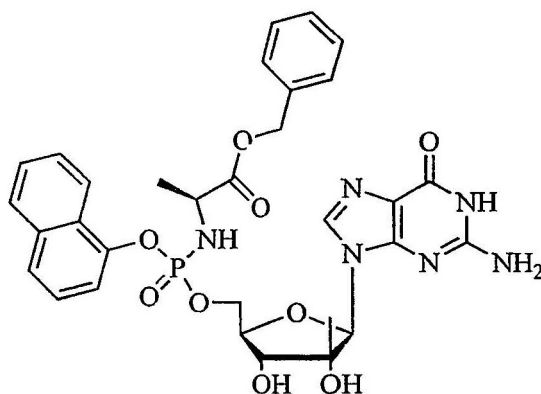


10 Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina (170 mg, 0,503 mmol), ^tBuMgCl (1,0 ml, disolución 1 M en THF, 1,006 mmol) y α-naftil(benzoxi-L-alaninil) fosforocloridato (1,0 ml de disolución 1 M en THF, 1,006 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (70 mg, 0,098 mmol, 19%).

15 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,53, 4,40; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,28 (1H, s, H8-guanosina), 7,84 (1H, m, CH-naftilo), 7,77-7,71 (1H, m, CH-bencilo), 7,55-7,49 (4H, m, 2 CH-naftilo, 2 CH-bencilo), 7,44-7,29 (6H, m, 4 CH-naftilo, 2 CH-bencilo), 6,06 (1H, d, H1'-guanosina), 5,10 (2H, s, CH₂-bencilo), 4,59 (1H, m, H3'-guanosina), 4,52-4,45 (1H, m, H4'-guanosina), 4,34 (2H, H5'-guanosina), 4,14 (1H, m, CHα), 1,59 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 10,4 Hz), 1,37 (6H, d, CH₃-alanina, CH₃-isopropilidina), 0,99 (3H, d, CH₃-2'-guanosina, J = 20,11 Hz).

20 **Síntesis de 5'-O-[α-naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-guanosina (CHC6)**

25



30 Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[α-naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina (70 mg, 0,098 mmol) y 10 ml de una disolución de CH₃COOH al 60% en agua a 90 °C durante 15 horas. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (85:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (12 mg, 0,018 mmol, 18%).

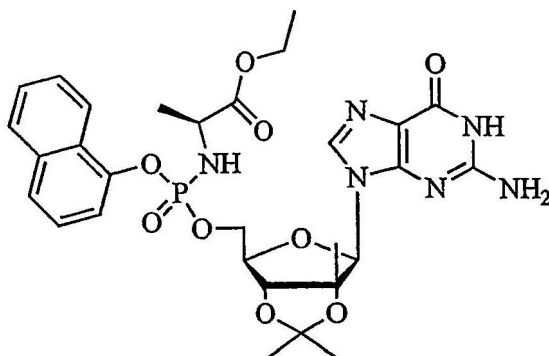
35 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,25, 4,14; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,17 (1H, m, H8-guanosina), 7,88 (1H, m, CH-naftilo), 7,79 (1H, m, CH-naftilo), 7,53 (2H, m, CH-naftilo, CH-bencilo), 7,42-7,40 (1H, m, CH-naftilo), 7,36-7,21 (7H, m, 3 CH-naftilo, 4 CH-bencilo), 6,05 (1H, d, H1'-guanosina, J = 8,4 Hz), 5,15-4,90 (2H, m, CH₂-bencilo), 4,58-4,49 (2H, d, H3'-guanosina, H4'-guanosina), 4,44-4,34 (2H, m, H5'-guanosina), 4,17-4,11 (1H, m, CHα), 1,37 (3H, m, CH₃-alanina), 1,00 (3H, s, CH₃-2'-guanosina).

40 EM (EV) m/e: 687,2 (MNa⁺, 100%); masa exacta: C₃₁H₃₃N₆O₉NaP, requerido: 687,1954, hallado: 687,1944.

Ejemplo 7

Síntesis de 5'-O-[fenil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina

5

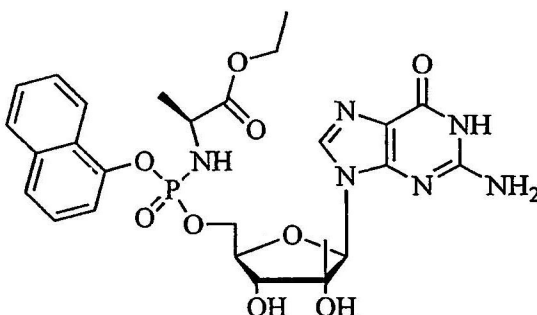


10 Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina (220 mg, 0,652 mmol), ^tBuMgCl (1,3 ml, disolución 1 M en THF, 1,30 mmol) y α-naftil(etoxi-L-alaninil) fosforocloridato (1,3 ml de disolución 1 M en THF, 1,30 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (35 mg, 0,054 mmol, 9%).

15 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,41, 4,32; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,18 (1H, s, H8-guanosina), 7,88 (1H, m, CH-naftilo), 7,73 (1H, m, CH-naftilo), 7,59-7,52 (4H, m, 4 CH-naftilo), 7,46-7,42 (1H, m, CH-naftilo), 6,08 (1H, d, H1'-guanosina), 4,62-4,40 (4H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina, H5'guanosina), 4,11-4,09 (3H, m, CH_α, CH₂-etilo), 1,59 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 13,2 Hz), 1,37 (6H, m, CH₃-alanina, CH₃-isopropilidina), 1,20 (3H, m, CH₃-etilo), 1,00 (3H, m, CH₃-2'-guanosina).

Síntesis de 5'-O-[α-naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-guanosina (CHC7)

20



25 Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[α-naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina (35 mg, 0,054 mmol) y 10 ml de una disolución de CH₃COOH al 60% en agua a 90 °C durante 15 horas. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (85:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (10 mg, 0,018 mmol, 31 %).

30 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,25, 4,14; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,18 (1H, m, H8-guanosina), 7,87 (1H, m, CH-naftilo), 7,71 (1H, m, CH-naftilo), 7,53 (4H, m, 4 CH-naftilo), 7,51-7,40 (1H, m, CH-naftilo), 5,93 (1H, d, H1'-guanosina), 4,62-4,57 (2H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina), 4,24 (2H, m, H5'guanosina), 4,03-3,98 (3H, m, CH_α, CH₂-etilo), 1,31 (3H, d, CH₃-alanina, J = 7,9 Hz), 1,15 (3H, m, CH₃-etilo), 1,00 (3H, m, CH₃-2'-guanosina).

EM (EV) m/e: 625,3 (MNa⁺, 100%); masa exacta: C₂₆H₃₁N₆O₉NaP, requerido: 625,1795, hallado: 625,1788.

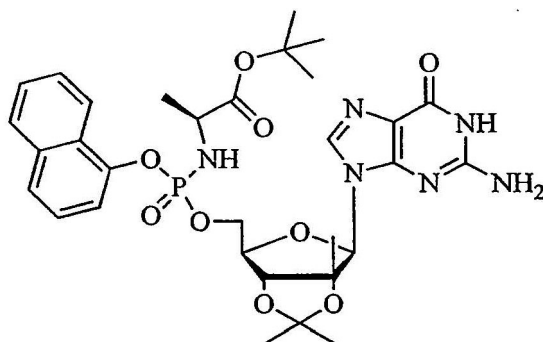
35 Análisis calculado para C₂₆H₃₁N₆O₉P: C 51,83%, H 5,19%, N 13,95%. Hallado: C 51,86%, H 5,10%, N 12,04%.

Ejemplo 8

Síntesis de 5'-O-[fenil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de 2', 3'-O,O-isopropilidín-β-2'-metil-guanosina

40

5



10

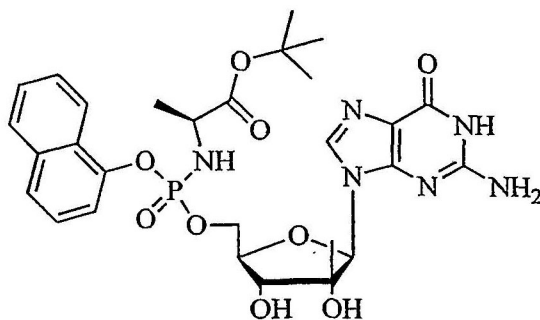
Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilidino-β-2'-metil-guanosina (120 mg, 0,355 mmol), ^tBuMgCl (0,70 ml, disolución 1 M en THF, 0,711 mmol) y α-naftil(terc-butoxi-L-alaninil) fosforocloridato (0,70 ml de disolución 1 M en THF, 0,711 mmol). El bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (95:5). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (24 mg, 0,036 mmol, 10%).

15

δ_P (d₄-CH₃OH): 4,41, 4,32; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,20 (1H, s, H8-guanosina), 7,89 (1H, m, CH-naftilo), 7,73 (1H, m, CH-naftilo), 7,59-7,54 (4H, m, 4 CH-naftilo), 7,49-7,42 (1H, m, CH-naftilo), 6,07 (1H, d, H1'-guanosina), 4,62-4,40 (4H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina, 2 H5'guanosina), 3,99-3,86 (1H, m, CHα), 1,58 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 13,7 Hz), 1,44 (9H, s, 3 CH₃-terc-butilo), 1,38-1,34 (6H, m, CH₃-alanina, CH₃-isopropilidina), 1,01 (3H, m, CH₃2'-guanosina).

Síntesis de 5'-O-[α-naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-guanosina (CHC8)

20



25

30

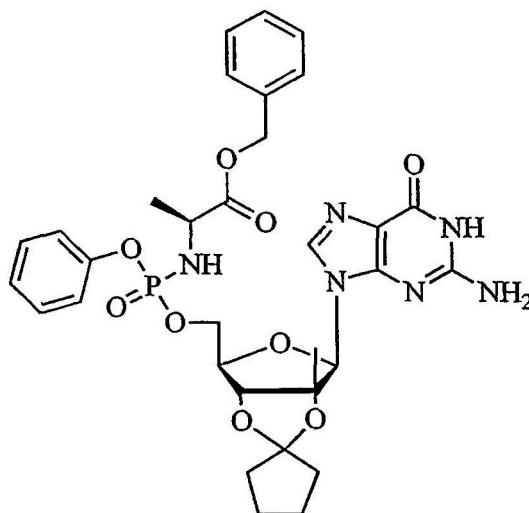
Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[α-naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilidino-β-2'-metil-guanosina (24 mg, 0,036 mmol) y 10 ml de una disolución de CH₃COOH al 60% en agua. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (85:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (4 mg, 0,018 mmol, 17%). δ_P (d₄-CH₃OH): 4,23, 4,10; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,20 (1H, m, H8-guanosina), 7,85 (1H, m, CH-naftilo), 7,67 (1H, m, CH-naftilo), 7,57 (4H, m, 4 CH-naftilo), 7,53-7,43 (1H, m, CH-naftilo), 6,00 (1H, d, H1'-guanosina), 4,61-4,55 (2H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina), 4,25 (2H, m, 2 H5'guanosina), 4,00-3,97 (1H, m, CHα), 1,47 (9H, s, 3 CH₃-terc-butilo), 1,36 (3H, m, CH₃-alanina), 1,00 (3H, m, CH₃2'-guanosina).

Ejemplo 9 (Referencia)

35

Síntesis de 5'-O-[fenil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina

40



10

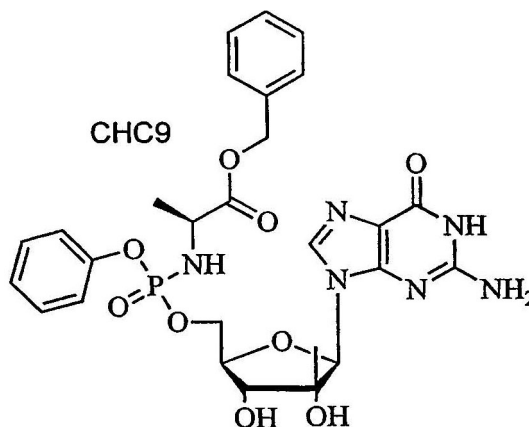
15

Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina (120 mg, 0,355 mmol), ¹BuMgCl (1,0 ml, disolución 1 M en THF, 1,07 mmol) y fenil(benzoxi-L-alaninil) fosforocloridato (1,0 ml de disolución 1 M en THF, 1,07 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (9:1) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (40 mg, 0,061 mmol, 17%).

20

δ_P (d₄-CH₃OH): 4,63, 4,37; δ_H (d₄-CH₃OH): 7,85 (1H, d, H8-guanosina, J = 5,7 Hz), 7,36-7,34 (5H, m, 2 CH-fenilo, 3 CH-bencilo), 7,33-7,26 (5H, m, 2 CH-bencilo, 3 CH-fenilo), 6,02 (1H, d, H1'-guanosina, J = 11,4 Hz), 5,16 (2H, s, CH₂-bencilo), 4,67 (1H, d, H3'-guanosina, J = 1,1 Hz), 4,54-4,43 (1H, m, H4'-guanosina), 4,31 (2H, H5'guanosina), 4,10 (1H, m, CHα), 1,61 (3H, s, CH₃-isopropilidina), 1,53 (3H, s, CH₃-isopropilidina), 1,39 (3H, d, CH₃-alanina, J = 8,4 Hz), 1,00 (3H, s, CH₃-2'-guanosina).

Síntesis de 5'-O-[fenil (benzoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-guanosina (CHC9)



35

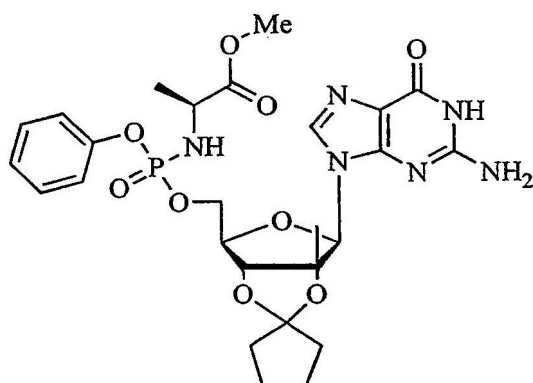
Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[fenil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina (40 mg, 0,061 mmol) y 10 ml de una disolución de CH₃COOH al 60% en agua a 90 °C durante 15 horas. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (85:5) seguido por una HPLC semipreparativa. El producto puro obtenido fue un sólido blanco (15 mg, 0,024 mmol, 40%).

40

δ_P (d₄-CH₃OH): 4,27, 4,10; δ_H (d₄-CH₃OH): 7,92 (1H, d, H8-guanosina, J = 8,3 Hz), 7,37-7,29 (5H, m, 2 CH-fenilo, 3 CH-bencilo), 7,25-7,18 (5H, m, 2 CH-bencilo, 3 CH-fenilo), 5,96 (1H, d, H1'-guanosina, J = 2,3 Hz), 5,15 (2H, s, CH₂-bencilo), 4,43-4,35 (2H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina), 4,33-4,28 (1H, m, H5'-guanosina), 4,24-4,19 (1H, m, H5'-guanosina), 4,08-3,93 (1H, m, CHα), 1,35 (3H, m, CH₃-alanina), 1,24 (3H, s, CH₃-2'-guanosina).

Ejemplo 10 (Referencia)

Síntesis de 5'-O-[fenil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina

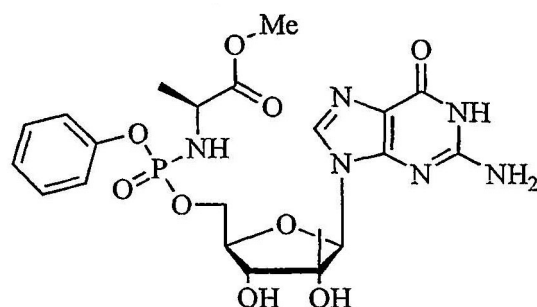


5

10 Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilideno- β -2'-metil-guanosina (130 mg, 0,385 mmol), t BuMgCl (0,96 ml, disolución 1 M en THF, 0,96 mmol) y α -naftil(metoxi-L-alaninil) fosforocloridato (0,96 ml de disolución 1 M en THF, 0,96 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (97:3). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (26 mg, 0,041 mmol, 11%).

15 δ_P (d_4 - CH_3OH): 4,51, 4,45; δ_H (d_4 - CH_3OH): 8,21 (1H, d, H8-guanosina, $J = 7,5$ Hz), 7,91-7,89 (1H, m, CH-naftilo), 7,73 (1H, m, CH-naftilo), 7,58-7,53 (4H, m, 4 CH-naftilo), 7,48-7,45 (1H, m, CH-naftilo), 6,09 (1H, d, H1'-guanosina, $J = 7,4$ Hz), 4,63 (1H, d, H3'-guanosina, $J = 3,0$ Hz), 4,57-4,53 (2H, m, H4'-guanosina), 4,43-4,41 (2H, m, H5'-guanosina), 4,12-4,05 (1H, m, CH α), 3,62 (3H, d, CH_3 -metilo, $J = 10,1$ Hz), 1,59 (3H, d, CH_3 -isopropilidina, $J = 7,9$ Hz), 1,40 (3H, d, CH_3 -alanina, $J = 3,4$ Hz), 1,35 (3H, d, CH_3 -isopropilidina, $J = 7,2$ Hz), 1,05 (3H, d, CH_3 -2'-guanosina, $J = 7,0$ Hz).

20 **Síntesis de 5'-O-[α -naftil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-guanosina (CHC10)**



25

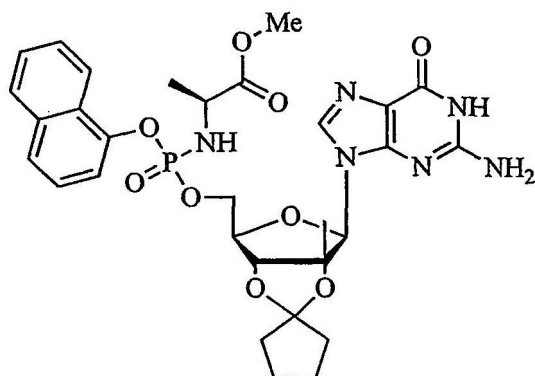
30 Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[α -naftil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno- β -2'-metil-guanosina (26 mg, 0,041 mmol) y 10 ml de una disolución de CH_3COOH al 60% en agua a 90 °C durante 15 horas. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (92: 8). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (4,1 mg, 0,007 mmol, 17%).

35 δ_P (d_4 - CH_3OH): 4,35, 4,26; δ_H (d_4 - CH_3OH): 8,20 (1H, d, H8-guanosina, $J = 5,8$ Hz), 7,91-7,87 (2H, m, CH-naftilo), 7,70 (1H, m, CH-naftilo), 7,58-7,52 (3H, m, 3 CH-naftilo), 7,50-7,41 (1H, m, CH-naftilo), 5,93 (1H, s, H1'-guanosina), 4,58-4,56 (2H, m, H3'-guanosina, H4'-guanosina), 4,29-4,21 (2H, m, H5'-guanosina), 4,06-4,03 (1H, m, CH α), 3,56 (3H, d, CH_3 -metilo, $J = 1,7$ Hz), 1,31 (3H, d, CH_3 -alanina, $J = 7,4$ Hz), 1,00 (3H, d, CH_3 -2'-guanosina, $J = 12,4$ Hz).

Ejemplo 11

Síntesis de 5'-O-[fenil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno- β -2'-metil-guanosina

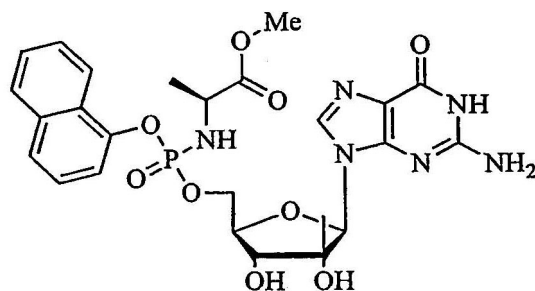
40



10 Se preparó según el Procedimiento convencional C2, a partir de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina (140 mg, 0,415 mmol), ^tBuMgCl (1,04 ml, disolución 1 M en THF, 1,04 mmol) y fenil(metoxi-L-alaninil) fosforocloridato (1,04 ml de disolución 1 M en THF, 1,04 mmol). El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente CHCl₃/MeOH (97:3). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (21 mg, 0,036 mmol, 9%).

15 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,09, 3,91; δ_H (d₄-CH₃OH): 7,88, 7,80 (1H, d, H8-guanosina), 7,41-7,35 (2H, m, CH-fenilo), 7,30-7,20 (3H, m, 3 CH-fenilo), 6,14 (1H, d, H1'-guanósina, J = 11,8 Hz), 4,69 (1H, d, H3'-guanósina, J = 2,9 Hz), 4,49-4,39 (3H, m, H4'-guanósina, H5'guanósina), 4,04-3,99 (1H, m, CHα), 3,70 (3H, d, CH₃-metilo, J = 12,7 Hz), 1,63 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 2,3 Hz), 1,44 (3H, d, CH₃-alanina, J = 3,1 Hz), 1,41 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 6,8 Hz), 1,10 (3H, d, CH₃-2'-guanósina, J = 6,5 Hz).

20 **Síntesis de 5'-O-[fenil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de β-2'-metil-guanosina (CHC11).**



Se preparó según el Procedimiento convencional C4, a partir de 5'-O-[fenil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de 2',3'-O,O-isopropilideno-β-2'-metil-guanosina (21 mg, 0,036 mmol) y 10 ml de una disolución de CH₃COOH al 60% en agua a 90 °C durante 15 horas. El producto bruto se purificó por medio de cromatografía en columna, usando como eluyente en primer lugar CHCl₃/MeOH (92:8). El producto puro obtenido fue un sólido blanco (7,0 mg, 0,013 mmol, 36%).

30 δ_P (d₄-CH₃OH): 4,15, 3,90; δ_H (d₄-CH₃OH): 8,96 (1H, a, H8-guanosina), 7,40-7,35 (2H, m, CH-fenilo), 7,29-7,20 (3H, m, 3 CH-fenilo), 6,08 (1H, d, H1'-guanósina, J = 8,5 Hz), 4,55-4,49 (2H, m, H3'-guanósina, H4'-guanósina), 4,26 (1H, m, H5'guanósina), 4,17-4,11 (1H, m, H5'-guanósina), 4,00-3,97 (1H, m, CHα), 3,73 (3H, d, CH₃-metilo, J = 11,1 Hz), 1,36 (3H, d, CH₃-alanina, J = 7,1 Hz), 1,41 (3H, d, CH₃-isopropilidina, J = 6,8 Hz), 1,14 (3H, d, CH₃-2'-guanósina, J = 4,9 Hz).

35 Se realizaron pruebas de potencia con respecto al VHC a cada uno de los compuestos CHC1 a CHC9, preparados según los Ejemplos 1 a 11, respectivamente.

Los ensayos anti-VHC utilizados fueron los siguientes:

40 **Ensayo anti-VHC en células Huh 7.** Las células Huh 7 que contienen replicones subgenómicos de VHC I389luc-ubi-neo/NS3-3'/5.1 (Huh 5-2) o I377/NS3-3'/wt (Huh 9-13) han sido descritas (Lohmann V, Komer F, Koch J, Herian U, Theilmann L, Bartenschlager R. (1999) Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. Science 285: 110-113. Lohmann V, Korner F, Dobierzewska A, Bartenschlager R. (2001) Mutations in hepatitis C virus RNAs conferring cell culture adaptation. J Virol. 75:1437-1449.). Las células se cultivaron medio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM; Gibco, Merelbeke, Bélgica) suplementado con suero de ternera fetal inactivado por calor (PCS) al 10% (Integro, Zaandam, Holanda), 1x sin aminoácidos esenciales (Gibco), penicilina 100 UI/ml (Gibco), estreptomycin 100 µg/ml (Gibco) y geneticina 250 µg/ml (G418, Gibco) para las células Huh 5-2, G418 1000 µg/ml para las células Huh 9-13.

Ensayo anti-VHC en células Huh 5-2. Se sembraron las células Huh 5-2 a una densidad de 5 x 10³ por pocillo en una placa blanca de cultivo tisular de 96 pocillos tratada (Packard, Canberra, Canadá) en DMEM completo

5 suplementado con G418 250 µg/ml. Tras la incubación durante 24 horas a 37 °C (CO₂ al 5%) se eliminó el medio y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de prueba en DMEM completo (sin G418) en un volumen total de 100 µl. Después de 4 días de incubación a 37 °C, se eliminó el medio de cultivo celular y se determinó la actividad de luciferasa usando el sistema de ensayo de luciferasa Steady-Glo (Promega, Leiden, Holanda); la señal de la luciferasa se midió usando un Luminoskan Ascent (Thermo, Vantaa, Finlandia). Se definió la concentración eficaz 50% (CE₅₀) como la concentración del compuesto que redujo la señal de luciferasa hasta el 50%.

Ensayo anti-VHC en células Huh 9-13.

10 Se sembraron células Huh 9-13 a una densidad de 5×10^3 células por pocillo en placas de cultivo celular de 96 pocillos en DMEM completo suplementado con G418 1000 µg/ml. Tras la incubación durante 24 horas a 37 °C se eliminó el medio de cultivo celular y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de prueba en DMEM completo sin G418 en un volumen total de 100 µl. Después de 4 días de incubación a 37 °C, se eliminó el líquido de cultivo celular y se lavaron las monocapas una vez con disolución salina tamponada de fosfato. Se lisaron las células en tampón RLT 350 µl (Qiagen, Venlo, Holanda) según las instrucciones del fabricante. Los lisados se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

15 **RT-qPCR.** Una reacción de RT-qPCR de 25 µl contenía 2x tampón de reacción 12,5 µl (Eurogentec, Seraing, Bélgica), H₂O 6,3 µl, extracto de ARN celular total 5 µl y en el caso de las muestras de Huh 9-13 y Huh6 cebador neo-directo 300 nmol/l [5'-CCG GCT ACC TGC CCA TTC-3'], cebador neo-inverso 300 nmol/l [5'-CCA GAT CAT CCT GAT CGA CAA G-3'], neo-sonda 300 nmol/l [5'-FAM-ACA TCG CAT CGA GCG AGC ACG TAC-TAMRA-3'] o para las muestras Huh-mono cebador UTR-directo 300 nmol/l [5'-ACG CAG AAA GCG TCT AGC CAT GGC GTT AGT-3'], cebador UTR-inverso 300 nmol/l [5'-TCC CGG GGC ACT CGC AAG CAC CCT ATC AGG-3'], UTR-sonda 300 nmol/l [5'-FAM-TGG TCT GCG GAA CCG GTG ACT ACA CC-TAMRA-3']. La etapa de tratamiento con transcriptasa inversa (RT) se realizó a 48 °C durante 30 minutos, 15 minutos a 95 °C y posterior amplificación por PCR de 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 20 segundos e hibridación y extensión a 60 °C durante 1 minuto en un detector de secuencias ABI 7000. Se definió la concentración eficaz 50% (CE₅₀) como la concentración del compuesto que redujo el contenido de ARN replicón hasta el 50%.

En la Tabla I a continuación se presentan los resultados en términos de CE₅₀/µM y CC₅₀/µM para el VHC.

En la Tabla I:

30 A se refiere a adenina unida a través de la posición 9, G se refiere a guanina unida a través de la posición 9, Nap se refiere a 1-naftilo (-C₁₀H₉), Ph se refiere a fenilo (-C₆H₅), Et se refiere a etilo (CH₃CH₂-), Bn se refiere a bencilo (C₆H₅CH₂-), t-Bu se refiere a butilo terciario (CH₃)₃C- y Me se refiere a metilo (CH₃-).

Tabla I

Compuesto	Base	Ar	R ₃	VHC Huh 5-2 CE ₅₀ /µM	VHC Huh 9-13 CE ₅₀ /µM	CC ₅₀ /µM
CHC1	A	-	-	0,14 0,08 0,13		29 >33 >33
CHC2	A	Nap	Et	0,12		>50
CHC3	A	Nap	Bn	0,16		44
CHC4	A	Nap	t-Bu	2,36		>50
CHC5	G	-	-	3 5	1,5	>50 >50
CHC6	G	Nap	Bn	0,08 0,032 0,11 0,13 0,044	0,06	>50 >50 >50 >50 >50
CHC7	G	Nap	Et	0,15 0,2 0,16		>50 >50 >50
CHC8	G	Nap	t-Bu	>50		>50
CHC9	G	Ph	Bn	36	4,1	>50
CHC10	G	Ph	Me	0,87 0,88		>50 >50
CHC11	G	Nap	Me	0,14 0,063		>50 >50

Los datos en la Tabla I muestran que cada uno de los compuestos CHC6 y CHC7 que se incorporan en la presente invención presenta mayor potencia con respecto al VHC que el compuesto CHC5 que corresponde al nucleósido libre guanina unida a través de la posición 9.

- 5 Una comparación de los datos de la Tabla I con respecto a cada uno de los compuestos CHC6 y CHC9, y con respecto a cada uno de los compuestos CHC10 y CHC11, muestra que la mayor potencia con respecto al VHC es atribuible a la presencia en los compuestos CHC6 y CHC11, respectivamente, de 1-naftilo como el grupo Ar.

La Tabla II siguiente establece las estructuras de los compuestos de ejemplo recientemente presentados y de los compuestos de referencia CHC1 a CHC11 en términos de la fórmula I anterior, en cada caso con Z = H y Q = O.

Tabla II

10

Compuesto	X	Y	T"	V	T	Ar	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
CHC1	NH ₂	H	H	OH	H	-	-	-	-	-
CHC2	NH ₂	H	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	CH ₃ CH ₂	H
CHC3	NH ₂	H	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	C ₆ H ₅ CH ₂	H
CHC4	NH ₂	H	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	t-C ₄ H ₉	H
CHC5	=O	NH ₂	H	OH	H	-	-	-	-	-
CHC6	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	C ₆ H ₅ CH ₂	H
CHC7	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	CH ₃ CH ₂	H
CHC8	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	t-C ₄ H ₉	H
CHC9	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₆ H ₅	CH ₃	H	C ₆ H ₅ CH ₂	H
CHC10	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₆ H ₅	CH ₃	H	CH ₃	H
CHC11	=O	NH ₂	H	OH	H	C ₁₀ H ₇	CH ₃	H	CH ₃	H

En los casos en que Ar es C₁₀H₇, se trata de 1-naftilo. En los casos en que X es NH₂, n es 0. En los casos en que X es =O, n es 1.

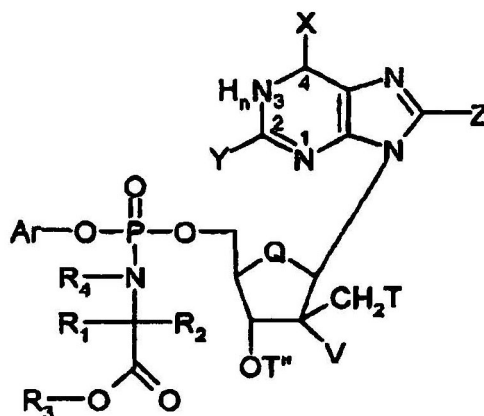
Los compuestos CHC1, CHC5, CHC9 y CHC10 son compuestos de comparación.

- 15 El compuesto CHC1 corresponde al nucleósido libre adenina unido a través de la posición 9, no fosforamidado.
El compuesto CHC5 corresponde al nucleósido libre guanina unido a través de la posición 9, no fosforamidado.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:

5



10

en la que:

Ar es naftilo;

15

T se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), flúor (-F), azido (N₃-), amino (-NH₂), hidroxilo (-OH), alquilo C₁₋₃ (C₁₋₃-), alcoxi C₁₋₃ (alquil C₁₋₃-O-), mercapto (-SH) y alquil C₁₋₃ tio (alquilo C₁₋₃-S-);

V se selecciona del grupo que consiste en -OT', hidrógeno (-H), flúor (-F) y cloro (-Cl), en el que T' se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), metilo (-CH₃), alquil C₁₋₁₆ carbonilo (alquil C₁₋₁₆-C(=O)-), alquenal C₂₋₁₈ carbonilo (alquenal C₂₋₁₈-C(=O)-), alcoxi C₁₋₁₀ carbonilo (alquil C₁₋₁₀-O-C(=O)-), cicloalquil C₃₋₆ carbonilo (cicloalquil C₃₋₆-C(=O)-) y cicloalquil C₃₋₆ oxicarbonilo (cicloalquil C₃₋₆-O-C(=O)-);

20

T'' se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (-H), metilo (-CH₃), alquil C₁₋₁₆ carbonilo (alquil C₁₋₁₆-C(=O)-), alquenal C₂₋₁₈ carbonilo (alquenal C₂₋₁₈-C(=O)-), alcoxi C₁₋₁₀ carbonilo (alquil C₁₋₁₀-O-C(=O)-), cicloalquil C₃₋₆ carbonilo (cicloalquil C₃₋₆-C(=O)-) y cicloalquil C₃₋₆ oxicarbonilo (cicloalquil C₃₋₆-O-C(=O)-);

n es 0 o 1, en la que

cuando n es 1, X es =O, y

25

cuando n es 0, existe un enlace doble entre la posición 3 y la posición 4 y X se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

Z se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

30

Y se selecciona del grupo que consiste en H, OH, F, Cl, Br, I, alquilo C₁₋₆, alquino C₂₋₈ y NR₅R₆, en el que cada uno de R₅ y R₆ se selecciona independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

Q se selecciona del grupo que consiste en O, S y CR₇R₈, en el que R₇ y R₈ se seleccionan independientemente de H y alquilo C₁₋₆;

35

cada uno de R₁ y R₂ se selecciona independientemente de H, y el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alqueno C₂₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ alquilo C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, alquino C₂₋₂₀, cicloalquil C₃₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, arilo C₆₋₃₀, heterociclo C₅₋₂₀;

cada uno de R₃ y R₄ se selecciona independientemente de H, y el grupo que consiste en alquilo C₁₋₂₀, alqueno C₂₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ alquilo C₁₋₂₀, alcoxi C₁₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, alquino C₂₋₂₀, cicloalquil C₃₋₂₀ arilo C₆₋₃₀, arilo C₆₋₃₀, heterociclo C₅₋₂₀;

40

con la condición de que R₁ y R₄ juntos puedan comprender una cadena de alqueno -(CH₂)₃;

en la que alquilo es un radical hidrocarburo acíclico o cíclico monovalente, saturado, lineal o ramificado, alqueno es un radical hidrocarburo acíclico o cíclico monovalente insaturado, lineal o ramificado que tiene uno o más enlaces dobles C=C y alquino es un radical hidrocarburo acíclico o cíclico monovalente, insaturado, lineal o ramificado que tiene uno o más enlaces triples C≡C; y

- en la que alquilo, alqueno o alquino pueden estar opcionalmente sustituidos con uno, dos, tres o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en hidroxilo, acilo, aciloxi, nitro, amino, amido, $-\text{SO}_3-\text{H}$, $-\text{SH}$ y $-\text{SR}'$, en el que R' se selecciona independientemente de R_1 , ésteres de C_{1-6} carboxilo, aldehído C_{1-6} , ciano, alquil C_{1-6} amino, dialquil C_{1-6} amino, tiol, cloro, bromo, flúor, yodo, cicloalquilo C_{5-7} , cicloalqueno C_{5-7} , cicloalquino C_{5-7} , arilo C_{5-11} , aril C_{5-11} alquilo C_{1-6} y heterociclilo C_{5-20} ;
- 5 y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables.
2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que Ar es 1-naftilo insustituido.
3. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que T se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (H-), flúor (F-), metilo (CH_3-) y etilo (CH_3CH_2-).
- 10 4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que V se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno (H-), flúor (F-) y OT' en el que T' es hidrógeno (H-) o metilo (CH_3-).
5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que T'' es H.
6. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que T es H, V es OH y T'' es H.
7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que n es 1, X es $=\text{O}$ e Y es NH_2 .
- 15 8. Un compuesto según la reivindicación 7 en el que Z es H.
9. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que n es 0, existe un enlace doble entre la posición 3 y la posición 4, X se selecciona del grupo que consiste en NH_2 , F, Cl y NR_5R_6 en el que uno de R_5 y R_6 es alquilo C_{1-6} .
10. Un compuesto según la reivindicación 10 en el que X es NH_2 , Y es H y Z es H.
- 20 11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que Q es O.
12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R_3 es alquilo.
13. Un compuesto según la reivindicación 12 en el que R_3 se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, 2-propilo, n-propilo, ciclohexilo, 2-butilo y bencilo.
14. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R_4 es H.
- 25 15. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que R_1 y R_2 se seleccionan de manera tal que el resto $-\text{NCR}_1\text{R}_2-\text{COO}-$ corresponde al del aminoácido natural.
16. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que cada uno de R_1 y R_2 se selecciona independientemente de metilo ($-\text{CH}_3$) y H.
- 30 17. Un compuesto según la reivindicación 16 en el que uno de R_1 y R_2 es metilo y uno de R_1 y R_2 es H de manera tal que el átomo de C al que están unidos R_1 y R_2 tiene quiralidad L como en la alanina natural.
18. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en el que Ar está insustituido.
19. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende el diastereoisómero R_p , el diastereoisómero S_p o una mezcla de los diastereoisómeros R_p y S_p .
20. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores seleccionado del grupo que comprende:
- 35 5'-O-[α -naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-adenosina;
- 5'-O-[α -naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-adenosina;
- 5'-O-[α -naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-adenosina;
- 5'-O-[α -naftil(benzoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-guanosina;
- 5'-O-[α -naftil(etoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-guanosina;
- 40 5'-O-[α -naftil(terc-butoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-guanosina; y
- 5'-O-[α -fenil(metoxi-L-alaninil)] fosfato de β -2'-metil-guanosina.
21. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 para su uso en un procedimiento de tratamiento.

22. Un compuesto según la reivindicación 21 para su uso en la profilaxis o el tratamiento de una infección viral.

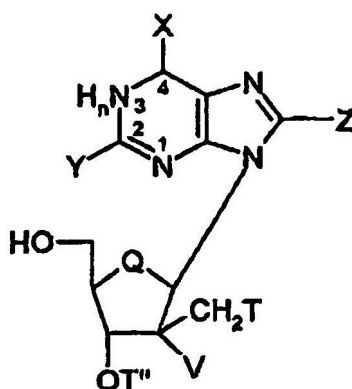
23. Un compuesto según la reivindicación 22 para su uso en la profilaxis o el tratamiento del virus de la hepatitis C.

24. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 en combinación con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

5 25. Un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica que comprende la etapa de combinar un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20 con un excipiente, vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

26. Un procedimiento de la preparación de un compuesto de fórmula I, comprendiendo dicho procedimiento hacer reaccionar un compuesto de fórmula III:

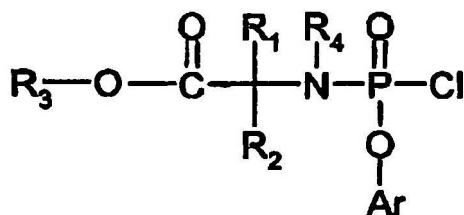
10



15

con un compuesto de fórmula IV:

20



25

en la que Ar, T, V, T'', n, X, Y, Z, Q, R1, R2, R3 y R4 tienen los significados establecidos en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.