

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 840**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/675** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**C07H 19/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **96909007 .5**

96 Fecha de presentación: **19.04.1996**

97 Número de publicación de la solicitud: **0821690**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.02.1998**

54

Título: **Análogos de nucleótido para el tratamiento de infecciones virales**

30

Prioridad:

**21.04.1995 US 426372**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:

**14.12.2012**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**14.12.2012**

73

Titular/es:

**USTAV ORGANICKE CHEMIE A BIOCHEMIE  
AKADEMIE VED CESKE REPUBLIKY (50.0%)**

**FLEMINGOVO NAM. 2**

**166 10 PRAHA 6, CZ y**

**REGA STICHTING VZW. (50.0%)**

72

Inventor/es:

**HOLY, ANTONIN y**

**DE CLERCQ, ERIK DESIRE ALICE**

74

Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 392 840 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

Análogos de nucleótido para el tratamiento de infecciones virales

5 La presente solicitud se refiere a análogos de nucleótido y a su uso en el tratamiento de infecciones virales.

Los análogos de nucleótido que contienen grupos fosfonato se desvelan, por ejemplo, en las patentes de EE.UU. 4.659.825, 4.808.716, 4.724.233, 5.142.051, 5.302.585, 5.208.221, 5.352.786, 5.356.886, en las publicaciones EP número 269.947, 481.214, 630.381, 369.409, 454.427, 618.214 y 398.231 y en los documentos WO 95/07920 y WO  
10 94/03467. Las enseñanzas de estas patentes incluyen compuestos en los que un grupo fosfonato está unido a una base de purina definida, generalmente en la posición 9 de la base, mediante un grupo 2-(metoxi)propilo, un grupo 2-(metoxi)etilo, un grupo 2-metoxi-3-hidroxi-propilo, o un grupo 2-metoxi-3-fluoropropilo, conocidos respectivamente como compuestos PMP, PME, HPMP y FPMP. Las bases de purina pueden incluir los análogos aza y desaza de las mismas. Las bases de purina típicas son adenina, 2,6-diaminopurina y guanina.

15 La patente de EE.UU. 5.142.051 desvela un compuesto (RS) HPMP en el que la base de purina es N<sup>6</sup>-dimetiladenin-9-ilo.

20 El documento EP 454.427 incluye una divulgación en la que las bases de purina de los compuestos FPMP están sustituidos con amino sustituido (se desvela alquilamino).

El documento EP 468.119 describe ciertos agentes antivirales de metoxifosfonato en los que una base heterocíclica de purina está sustituida en la posición 6 con "NHR" y en la posición 2 con H o NH<sub>2</sub>, pero R no está definido.

25 El documento EP 481.214 desvela ciertos compuestos antivirales de metoxifosfonato como agentes antivirales para virus de ARN o ADN donde la base de purina está sustituida independientemente en su posición 2 o 6 con NHR<sup>5</sup> o N(R<sup>5</sup>)<sub>2</sub>, en la que R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, arilo o aril-alquilo, que puede estar sustituido o no sustituido con sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en hidroxilo, oxígeno, nitrógeno o halógeno.

30 El documento WO 94/03467 desvela compuestos PMP para su uso en el tratamiento de retrovirus en los que la base heterocíclica es una purina o sus análogos, en los que la posición 2 y/o 6 y/o 8 está sustituida con, entre otras cosas, alquilamino, aralquilamino, dialquilamino, heteroalquilamino, alquiloxiamino o amino heterocíclico, en los que alquilo es un grupo hidrocarbilo saturado, lineal o de cadena ramificada, que contiene C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, tal como metilo, etilo, 2-propilo, n-pentilo o neopentilo; alquiloxi es O-alquilo; aralquilo o heteroaralquilo es -R-Ar donde -R- es el homólogo alquilenilo de alquilo (-R) y Ar es un grupo aromático sustituido (con hidroxilo, halo, amino, sulfonilo, carbonilo o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> sustituido con hidroxilo, halo, amino, sulfonilo, o carbonilo) o no sustituido, que tiene 6-10C y, opcionalmente, un heteroátomo seleccionado entre oxígeno o nitrógeno, por ejemplo, fenilo, naftilo, quinolilo o bencilo; aralquilamino y heteroaralquilamino se definen como grupos de la fórmula -N(Z)<sub>2</sub>, en la que Z es independientemente H o -R-Ar (pero al menos 1 Z es -R-Ar); amino heterocíclico es un anillo heterocíclico saturado o insaturado que contiene al menos 1 átomo de N (normalmente 1) y opcionalmente además al menos otro heteroátomo (siendo ejemplos pirrolidina, morfolina o piperidina). El documento WO 94/03467 desvela que las estructuras cíclicas que contienen de 3 a 6 átomos en el anillo y son monocíclicas, y en algunas realizaciones los sustituyentes de los grupos 6-amino de purina se toman junto con el N<sup>1</sup> de purina para formar un N-heterociclo condensado al resto purinilo, como en N<sup>1</sup>-N<sup>6</sup>-etenoadenina.

45 El documento WO 94/03467 desvela un número de compuestos (R)-PMPDAP N<sup>6</sup>-sustituidos específicos, incluyendo 9-(R)-(2-fosfometoxipropil)-2-amino-6-ciclohexilaminopurina y 9-(R)-(2-fosfometoxipropil)-2-amino-6-ciclopropilaminopurina.

50 El documento WO 95/07920 desvela diversos compuestos de metoxifosfonato antivirales que tienen bases heterocíclicas protegidas en las que los grupos amino están mono-sustituidos con alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, incluyendo residuos alquilo de cadena lineal, ramificados o cíclicos, incluyendo metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, isopropilo, n-, sec-, iso-, y terc-butilo, ciclobutilo y "N-, S- u O-heterocarbonilo cíclico" (tal como piperidinilo o morfolino).

55 El documento EP 434.450 desvela ciertos análogos de nucleósido distintos de fosfonilo que contienen 2,6-diaminopurina en los que la posición 6 de la base 2,6-diaminopurinilo está sustituida con ciclopropilamino o N-ciclopropil-N-metilamino. El documento EP 421.819 desvela un análogo de nucleósido similar en el que la sustitución es ciclopropilmetilamino. Daluge et al. (34<sup>a</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemoterapia, 4-7 Oct., 1994) desvela derivados de carbovir en los que la posición 6 de la purina está sustituida con ciclopropilamino, N-ciclopropil-N-metilamino o N-aziridinilo.

Cihlar et al., "Antimicrobial Agents and Chemotherapy" 39(1):117-124 (1995) develan N<sup>6</sup>-aminohexil-PME-DAP.

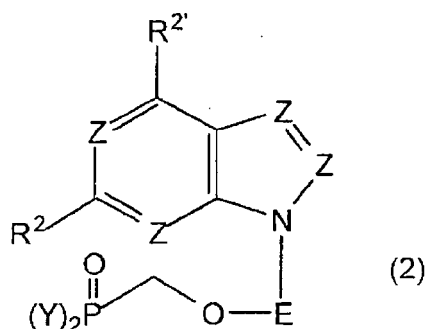
65 Holy et al., "ACS symposium series " 401:57-71 (1989) y Holy, "Kemija u industriji" 38(10):457-462 (1989) describen la actividad antiviral de ciertos análogos de nucleótido N<sup>6</sup>-sustituidos.

**Sumario de la invención**

Un objeto de la presente invención es proporcionar compuestos antivirales que tienen un índice de selectividad mejorado, es decir, que son menos tóxicos pero más eficaces que los análogos de nucleótido conocidos hasta ahora.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar compuestos útiles en el tratamiento de virus del ADN.

Los objetos de la presente invención se consiguen proporcionando compuestos que tienen la estructura (2)



en la que:

Y es, independientemente, -OH, -OR<sup>3</sup>, -OCH(R<sup>16</sup>)OC(O)R<sup>3</sup>, un monofosfato, un difosfato, un amidato de aminoácido, un amidato de polipéptido, -NHR<sup>3</sup>, o -N(R<sup>3</sup>)<sub>2</sub>;

R<sup>3</sup> es, independientemente, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>, arilo, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alcarilo, alquinilarilo o alquenilarilo; estando dichos grupos no sustituidos o sustituidos con alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, carboxilalquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> éster, halo, carboxi, hidroxilo, ciano, nitro, N-morfolino, o amino; y/o dichos grupos que tienen -CH<sub>2</sub>- sustituido con NH, S, u O;

R<sup>2</sup> y R<sup>2'</sup> son, independientemente, halo, NH<sub>2</sub>, X o H, pero al menos uno de R<sup>2</sup> y R<sup>2'</sup> es X; R<sup>16</sup> es H o R<sup>3</sup>; y

X es -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>(O)<sub>n</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>N(R<sup>10</sup>)<sub>2</sub> en la que m es 0-2, n es 0-1, y R<sup>10</sup> independientemente es:

- H, o

- ciclopropilo, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, o alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o

- alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>, alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo C<sub>6</sub>-C<sub>15</sub>, o heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, en los que el metileno en el resto alquilo no adyacente a N<sup>6</sup> se ha reemplazado por -O-,

opcionalmente, uno de los grupos R<sup>10</sup> anteriores está sustituido con 1 a 3 halo, CN o N<sub>3</sub>; pero al menos un grupo R<sup>10</sup> no es H; y

Z es N o CH, con la condición de que el núcleo heteríclico varíe de purina en no más de un Z;

E es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>F)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>O)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH=CH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(C≡CH)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(R<sup>6</sup>)OCH(R<sup>6</sup>)-, -CH(R<sup>9</sup>)CH<sub>2</sub>O- o -CH(R<sup>8</sup>)O-, en las que el enlace a mano derecha está unido a la posición 9 de la purina, monoazapurina o heterociclo monodesazapurina y en la que Y y el grupo hidroxilo de -CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-, o un grupo hidroxilo presente en R<sup>6</sup>, R<sup>8</sup>, o R<sup>9</sup> se unen para formar un anillo de 6 miembros;

R<sup>6</sup> y R<sup>6</sup> son independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alcanoílo C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>;

R<sup>8</sup> es H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sup>9</sup> es H, hidroximetilo o aciloximetilo; y

las sales terapéuticamente aceptables de los mismos;

con la condición de que, cuando E es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>- y R<sup>2</sup> es NH<sub>2</sub>, entonces X no es ciclopropilamino.

En un grupo de compuestos preferido, al menos un Y es OR<sup>3</sup> y R<sup>3</sup> es arilo, orto-(alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> arilo), -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C(O)O (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), o -OCH<sub>2</sub>OC(O) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o arilo).

La invención cubre ambos compuestos que tienen la configuración (R) o la configuración (S) en el átomo de carbono quiral E.

- 5  $R^{10}$  es preferentemente alquinilo o alquenilo  $C_3-C_8$  que no está sustituido o está sustituido con 1 a 3 halo, CN o  $N_3$ . Los grupos  $R^{10}$  específicos son  $-CH_2CH=CH_2$ ,  $-CH(CH_3)CH=CH_2$ ,  $-CH_2C(CH_3)=CH_2$ , y  $-CH_2CH=CH(CH_3)$ .

Los compuestos de acuerdo con la presente invención son particularmente útiles en el tratamiento de infecciones virales, tales como VHS-1, VHS-2, CMV, VVZ, virus vacuna, o VHH-6.

- 10 Inesperada y sorprendentemente, se ha descubierto que la sustitución en  $N^6$  de adenina o diaminopurina da como resultado la adquisición de una potencia extremadamente alta frente a los virus del ADN en la parte de los compuestos definidos. Tales compuestos, por otro lado, se ha considerado que tienen poca o ninguna actividad frente a los virus del ADN. Además, sorprendentemente, el enantiómero (S) quiralmemente enriquecido o puro es  
15 antiviralmente activo. Hasta ahora, solo el enantiómero (R) era notablemente antiviralmente activo, y entonces solo frente a los retrovirus.

### Descripción detallada de la invención

- 20 Como se usa en el presente documento y, a menos que esté modificado por el contexto inmediato:

1. Alquilo significa hidrocarburos  $C_1-C_{15}$  saturados, ramificado, normales o cíclicos, e incluye metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, ciclobutilo, isopropilo, n-, sec-, iso- y terc-butilo, pentilo, isopentilo, 1-metilbutilo, 1-etilpropilo, neopentilo, y t-pentilo.

- 25 2. Alquenilo significa hidrocarburos  $C_2-C_{15}$  ramificados, normales o cíclicos que contienen al menos 1 (generalmente 1-3) dobles enlaces cis o trans orientados, conjugados o no conjugados, incluyendo alilo, etenilo, propenilo, isopropenilo, 1-, 2- y 3-butenilo, 1- y 2-isobutenilo y similares.

- 30 3. Alquinilo significa hidrocarburo  $C_2-C_{15}$  ramificado, normal, o cíclico que lleva al menos 1 (generalmente 1-3) triples enlaces, por ejemplo, 2-propinilo.

4. Arilo o heteroarilo significa una estructura de anillo policíclico resonante, cíclico o condensado, que contiene al menos un anillo de 3-6 miembros que contiene átomos en el anillo únicamente de carbono o de carbono y uno o dos  
35 heteroátomos de N-, S- u O-, incluyendo por ejemplo fenilo, 2- y 4-imidazolilo, 2-, 4- y 5-oxazolilo, 2-, 3-, 4- o 5-isoxazolilo, 2-, 3-, 4- o 5-furazanilo, 2-, 4- y 5-tiazolilo, 3-, 4- y 5-isotiazolilo, 3- y 4-pirazolilo, 2-, 3- y 4-piridinilo o 2-, 4- y 5-pirimidinilo, 1-, 2-, 3- o 4- azetidina, 2-, 3-, 4-, o 5-tiofeno, 2-, 3-, 4-, o 5-furanilo, 1-, 2-, 3-, 4-, de 5-pirrolilo y análogos de los mismos en los que un doble enlace ha sido desplazado, por ejemplo 2H-pirrol, o saturado, por ejemplo 2-pirrolinilo o 3-pirazolinilo. En general, aunque los anteriores son ejemplos, cualquier átomo del anillo  
40 distinto de oxígeno o nitrógeno sirve como el sitio de unión para el grupo amino  $N^6$ , aunque un nitrógeno del anillo también esté unido directamente al carbono 6 de la purina en circunstancias en las que dos  $R^{10}$  se toman juntos.

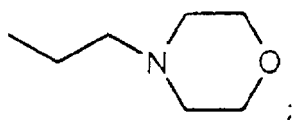
5. Alcarilo, alquenilarilo, alquinilarilo, arilalquilo, arilalquinilo, de aralquenilo significa alquilo, alquinilo o alquenilo sustituido con al menos 1 (generalmente 1-3) grupos arilo, o arilo sustituido con al menos 1 (generalmente 1-3)  
45 grupos alquilo, alquinilo o alquenilo. Cuando estos son un grupo  $R^{10}$  están unidos a  $N^6$  a través de un carbono de arilo alifático (saturado o insaturado).

6. Heterocicloalquilo significa cualquier grupo alquilo totalmente saturado que forme un anillo que tiene  $C_3-C_6$  en el que 1 a 3 grupos  $CH_2$  se han sustituido con NH, O o S. Normalmente, solo 1 o 2 grupos metileno están sustituidos con un heteroátomo. Heterocicloalquilo incluye los homólogos saturados de los grupos heteroarilo definidos  
50 anteriormente, e incluye, por ejemplo, piperazinilo, morfolino, aziridinilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, piperidinilo, tetrahidrofuranilo. Como en el caso de los heterociclos insaturados descritos anteriormente, cualquier átomo del anillo distinto de oxígeno o nitrógeno sirve como el sitio de unión para el grupo amino  $N^6$ , aunque un nitrógeno del anillo también está unido directamente al carbono 6 de la purina en circunstancias en las que dos  $R^{10}$   
55 se toman juntos.

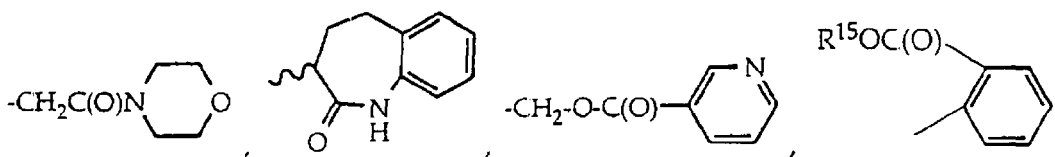
- $R^2$  y  $R^2$  son, normalmente, X, H o  $NH_2$ , pero al menos uno de  $R^2$  o  $R^2$  es X. En algunas realizaciones, ambos  $R^2$  y  $R^2$  son X, que entonces pueden ser iguales o diferentes, aunque en general solo 1  $R^2$  o  $R^2$  es X. Las realizaciones incluyen las siguientes sustituciones en  $R^2$  y  $R^2$ , respectivamente: H, X;  $NH_2$ , X; X, X; X, H; X,  $NH_2$ . Habitualmente, X se encuentra en la posición 6 y la posición 2 está sustituida con  $NH_2$  o H  $R^2$  o  $R^2$  también son halo, tales como cloro  
60 o bromo, con lo que en algunas realizaciones el otro  $R^2$  o  $R^2$  es X. Los halo compuestos son particularmente útiles como intermedios.  $R^2$  generalmente es H cuando los compuestos del presente documento se van a emplear para el tratamiento o profilaxis de infecciones por virus del ADN, pero los compuestos en los que  $R^2$  es  $NH_2$  son satisfactorios.

- 65  $R^3$  no es una funcionalidad crítica y puede variar ampliamente.  $R^3$  incluye, por ejemplo, arilo  $C_3-C_6$  (incluyendo fenilo,

2- y 3-pirrolilo, 2- y 3-tienilo, 2- y 4-imidazolilo, 2-, 4- y 5-oxazolilo, 3- y 4-isoxazolilo, 2-, 4- y 5-tiazolilo, 3-, 4- y 5-isotiazolilo, 3- y 4-pirazolilo, 1-, 2-, 3- y 4-piridinilo, y 1-, 2-, 4- y 5-pirimidinilo), arilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> sustituido con halo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, CN, NO<sub>2</sub>, OH, carboxi, carboxiester, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> (1-6 átomos de halógeno), alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> o alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> [incluyendo 2-, 3- y 4-alcoxifenilo (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>), 2-, 3- y 4-metoxifenilo, 2-, 3- y 4-etoxifenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- y 3,5-dietoxifenilo, 2- y 3-carboetoxi-4-hidroxifenilo, 2- y 3-etoxi-4-hidroxifenilo, 2- y 3-etoxi-5-hidroxifenilo, 2- y 3-etoxi-6-hidroxifenilo, 2-, 3- y 4-O-acetilfenilo, 2-, 3- y 4-dimetilaminofenilo, 2-, 3- y 4-halofenilo (incluyendo 2-, 3- y 4-fluorfenilo y 2-, 3- y 4-clorofenilo), 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- y 3,5-dimetilfenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- y 3,5-biscarboxietilfenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- y 3,5-dimetoxifenilo, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- y 3,5-dihalofenilo (incluyendo 2,4-difluorfenilo y 3,5-difluorfenilo), 2-, 3- y 4-haloalquilfenilo (de 1 a 5 átomos de halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> incluyendo 4-trifluorometilfenilo), 2-, 3- y 4-cianofenilo, 2-, 3- y 4-nitrofenilo, 2-, 3- y 4-haloalquilbencilo (de 1 a 5 átomos de halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> incluyendo 4-trifluorometilbencilo y 2-, 3- y 4-triclorometilfenilo y 2-, 3- y 4-triclorometilfenilo), 4-N-metilpiperidinilo, 3-N-metilpiperidinilo, 1-etilpiperazinilo, bencilo, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-C(O)-C alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, incluyendo 2-, 3- y 4-etilsalicilfenilo), 2-,3- y 4-acetilfenilo, 1,8-dihidroxi-naftilo (-O-C<sub>10</sub>H<sub>6</sub>-OH) y ariloxietilo [arilo C<sub>6</sub>-C<sub>9</sub> (incluyendo fenoxietilo)], 2,2'-dihidroxibifenilo, alcoxi etilo [alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> incluyendo -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub> (2-metoxietilo)], alquilo sustituido con OH o con 1 a 3 átomos de halo (incluyendo -CH<sub>3</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, y -CH<sub>2</sub>CCl<sub>3</sub>), 2-, 3- y 4-N,N-dialquilaminofenilo, -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,



-N-2-propilmorfolino, trimetoxibencilo, trietoxibencilo, 2-alquilpiridinilo (alquilo C<sub>1-4</sub>),



alqueno C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-arilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (incluyendo bencilo, -CH<sub>2</sub>-pirrolilo, -CH<sub>2</sub>-tienilo, -CH<sub>2</sub>-imidazolilo, -CH<sub>2</sub>-oxazolilo, -CH<sub>2</sub>-isoxazolilo, -CH<sub>2</sub>-tiazolilo, -CH<sub>2</sub>-isotiazolilo, -CH<sub>2</sub>-pirazolilo, -CH<sub>2</sub>-piridinilo y -CH<sub>2</sub>-pirimidinilo) sustituido en el resto arilo con de 3 a 5 átomos de halógeno o de 1 a 2 átomos o grupos seleccionados entre halógeno, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> (incluyendo metoxi y etoxi), ciano, nitro, OH, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> (de 1 a 6 átomos de halógeno; incluyendo -CH<sub>2</sub>-CCl<sub>3</sub>), alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> (incluyendo metilo y etilo), alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> o alquino C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub>, y otros compuestos expuestos en la tabla 1a a continuación.

R<sup>6</sup> y R<sup>6i</sup> generalmente son H o metilo. Normalmente, R<sup>6</sup> es H o metilo, mientras que R<sup>6i</sup> es H.

R<sup>8</sup> y R<sup>9</sup> típicamente son H, metilo o hidroximetilo.

Los grupos R<sup>10</sup> son una funcionalidad importante. Son responsables del desarrollo inesperado de actividad anti-virus del ADN en la serie PMP. Uno o ambos de estos grupos es distinto de H.

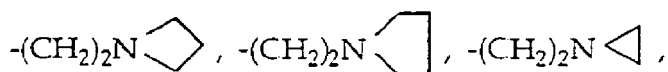
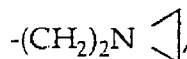
Típicamente, los grupos R<sup>10</sup> son relativamente pequeños, del orden de 1 a 6 átomos de carbono y de 0 a 1 N y opcionalmente un átomo de S u O en total para cada R<sup>10</sup>. Cuando ambos R<sup>10</sup> no son hidrógeno, un R<sup>10</sup> es opcionalmente menor que el otro, por ejemplo, puede contener 2-6 átomos de carbono, y el otro solo 1.

Habitualmente los heteroátomos presentes en R<sup>10</sup> no están localizados terminalmente y están sustituidos por CH<sub>2</sub> o CH. En algunas realizaciones el heteroátomo es donado por el grupo 6-amino de la base heterocíclica, como ocurre cuando dos grupos R<sup>10</sup> se ciclan para formar un anillo. En tales casos, el N se enlaza al carbono 6 de la purina. Sin embargo, no es necesario que un alquilo o arilo heterocíclico que contiene un átomo de N en el anillo esté unido al C-6 a través del átomo de N. También está dentro del alcance de la presente invención enlazar tales grupos a través de átomos de carbono del anillo directamente o a través de grupos alquilo o alcoxilalquilo intermedios. Tales grupos de unión intermedios generalmente serán pequeños (C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), tales como metileno, etileno o etoxi.

Una realización particularmente interesante de R<sup>10</sup> es alquilo, alqueno o alquino que contiene adicionalmente átomos de O intracatenarios. Tales grupos R<sup>10</sup> normalmente están emparejados con un R<sup>10</sup> = H o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>. El O intracatenario se usa en cualquiera de los grupos alquilo descritos en el presente documento, donde los heteroátomos se usan para sustituir a CH<sub>2</sub>. Las estructuras R<sup>10</sup> típicas incluyen -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,



-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -CH=CH<sub>2</sub>, -CH(CH<sub>3</sub>)(CH=CH<sub>2</sub>), -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,



10 -CH<sub>2</sub>CH=CHCH<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>C≡CH

Los átomos de hidrógeno de los grupos R<sup>10</sup>, particularmente aquellos descritos en los párrafos anteriores, y especialmente alquilo o alqueno, a su vez están opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 de cualquier halógeno (especialmente F), ciano o azido, o combinaciones de los mismos. Las realizaciones típicas incluyen -CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CN, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N<sub>3</sub>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>(fluorociclopropilo), -CHFCH<sub>3</sub> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>F).

15 En algunas realizaciones, cuando un R<sup>2</sup> es NH<sub>2</sub> entonces R<sup>10</sup> es alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> amino-C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-alquilo.

Los grupos R<sup>10</sup> pueden llevar átomos de N o C quirales. Estos se usan adecuadamente como las mezclas racémicas o diastereoméricas, o pueden ser quiralmente puros. En general, se prefiere que sean quiralmente puros.

20 Z normalmente se selecciona para producir un núcleo de purina, aunque opcionalmente se elige para producir un núcleo de purina aza o desaza (monoaza o monodesaza) tal como 1-desaza, 3-desaza, 8-aza o 7-desaza.

25 Típicamente, F es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH=CH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(C≡CH)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(R<sup>9</sup>)CH<sub>2</sub>O- o -CH(R<sup>8</sup>)O-, más normalmente, -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>- o -CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-.

30 El átomo o átomos de carbono quirales en los diversos grupos E son diastereómeros o racematos u, opcionalmente, son enantioméricamente puros o enriquecidos. En general, se seleccionarán los enantiómeros o diastereómeros que se ha descubierto que son los más activos en los compuestos parentales, por ejemplo el compuesto HPMP será el enantiómero (S), mientras que el compuesto PMP será el enantiómero (R).

El grupo Y típicamente será OH o puede convertirse en OH por medios químicos o biológicos. Para hidrólisis *in vivo* Y normalmente es OR<sup>3</sup> en la que R<sup>3</sup> se ha descrito anteriormente o Y es -OCH(R<sup>16</sup>)OC(O)R<sup>3</sup>.

35 En una realización de los compuestos de estructura (2), E es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, Y es OH u OR<sup>3</sup>, R<sup>2</sup> es NH<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> es X y X es uno cualquiera de -NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>C≡CH o -NHCH<sub>2</sub>CH=CH(Phe)

45 En otra realización de los compuestos de estructura (2), E es -CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>- Y es OH u OR<sup>3</sup>, R<sup>2</sup> es H, R<sup>2</sup> es X y X es uno cualquiera de -NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>(ciclopropilo), -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, -NHCH<sub>2</sub>C≡CH o -NHCH<sub>2</sub>CH=CH(Phe).

#### Utilidades

50 Los nuevos compuestos de la presente invención son útiles por sí mismos o como intermedios en la preparación de polímeros que tienen una gran diversidad de utilidades de diagnóstico, terapéuticas e industriales.

55 Los compuestos son útiles en la preparación de retardantes de llama de polifosfonato. Los compuestos de la presente invención que contienen sitios de insaturación no resonantes, por ejemplo, que contienen vinilo, alilo u otros sitios de insaturación alifática, se incorporan en polímeros de polivinilo por métodos empleados hasta ahora para polimerizar vinilfosfonatos conocidos, o métodos claramente análogos a éstos que resultarán evidentes para el experto ordinario. Estos monómeros están copolimerizados con resinas de vinilo mediante métodos de catálisis por radicales libres ya conocidos por sí mismos, por ejemplo, mediante el uso de persulfato o haz de electrones. Los compuestos de la presente invención que ya no contienen grupos vinilo son útiles no obstante como intermedios en la preparación de monómeros de vinilfosfonato, o pueden polimerizarse usando otros métodos.

Los compuestos de la presente invención también son adecuados como intermedios para su uso en la preparación de matrices de absorción por afinidad que aprovechan las propiedades químicas de los grupos sustituyentes de los compuestos. Por ejemplo, los grupos fosfonato en una matriz en forma unida son útiles en la separación cromatográfica de moléculas cargadas positivamente. Otros ejemplos inmovilizados de los compuestos en el presente documento son útiles en purificar proteínas, por ejemplo, enzimas implicadas en el reconocimiento de los compuestos de la presente invención, por ejemplo, proteínas de transporte (véase Cihlar, *supra*). Los métodos de incorporación adecuados de los compuestos de la presente invención en resinas poliméricas resultarán fácilmente evidentes para el experto, por ejemplo los compuestos se incorporan por reticulación de los grupos hidroxilo del fosfonato o sustituyentes hidroximetilo usando agentes de reticulación conocidos hasta ahora. La unión a través de un grupo distinto de la base heterocíclica producirá una resina útil en la cromatografía de afinidad hidrófoba. Otros métodos de unión adecuados se describen en Cihlar (*supra*).

Los compuestos de la presente invención son útiles como intermedios en la preparación de sondas oligonucleotídicas marcadas, por ejemplo, cuando Y se convierte en un oligonucleótido. Estos oligonucleótidos son directamente útiles en ensayos para secuencias de ácido nucleico diana. Típicamente, el grupo fosfonato de los compuestos de la presente invención está unido covalentemente al extremo de un oligonucleótido que tiene una secuencia predeterminada, aunque cualquier grupo hidroxilo de los compuestos de la invención es útil para este fin. La estructura o secuencia del oligonucleótido no es importante excepto en lo que respecta a que posee unión competente con su secuencia complementaria. Muchos oligonucleótidos que tienen esta propiedad se conocen bien, por ejemplo, oligonucleótidos de fosfodiéster o fosforotioato convencionales.

Los compuestos de la presente invención generalmente se incorporarán terminalmente en el oligonucleótido. Si contienen un grupo hidroxilo libre distinto de fosfonilo, opcionalmente se incorporan internamente en la secuencia del oligonucleótido. Los compuestos difosforilo incorporados terminalmente de la presente invención que no contienen hidroxilo libre capaz de participar en el alargamiento de cadena también son útiles en secuenciación de ADN esencialmente de la misma manera que los desoxiNTP se han usado en el pasado (véase el ejemplo 8 de la patente de EE.UU. 5.276.143). Los análogos de nucleótido de la invención (cuando están difosforilados) son útiles como terminadores de cadena para los protocolos de secuenciación de ADN tipo didesoxinucleótido, con la condición de que el análogo de nucleótido carezca de un grupo hidroxilo libre adecuado para el alargamiento de cadena mediado por polimerasa. Estos compuestos no tendrán R = hidroximetilo y no poseen una estructura cíclica que incorpore el átomo de fósforo (aunque los compuestos que tienen tales estructuras excluidas pueden ser intermedios). El análogo de nucleótido se incluye en un kit con otros reactivos (tal como polimerasa Klenow o polimerasa T4, dNTP, etc.) necesarios para la secuenciación de ADN (Otvos, et al, "Nucl. Acids Res." 15:1763-1777 (1987).

Si el compuesto de la presente invención con oligonucleótido incorporado posee unión competente por su secuencia complementaria, es decir, si es capaz de apareamiento de bases, entonces este monómero de nucleótido participará en la hibridación. Sin embargo, no es necesario que el análogo de nucleótido incorporado de la presente invención aparee bases o participe de otra manera en la hibridación. Si está localizado en el extremo del oligonucleótido será útil como sitio de reconocimiento inmunológico, o sitio de reconocimiento hapténico, para facilitar la detección del oligonucleótido por un anticuerpo capaz de unirse al compuesto de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención también son útiles como engarces o espaciadores en la preparación de matrices de absorción por afinidad (lo contrario al funcionamiento como restos de afinidad por sí mismos, como se ha indicado anteriormente), enzimas inmovilizadas para controlar el método, o reactivos de inmunoensayo. Los compuestos en el presente documento contienen una multiplicidad de grupos funcionales que son adecuados como sitios para la reticulación de sustancias deseadas. Por ejemplo, es convencional unir reactivos de afinidad tales como hormonas, péptidos, anticuerpos, fármacos, y similares con sustratos insolubles. Estos reactivos insolubilizados se emplean de una manera conocida para absorber parejas de unión para los reactivos de afinidad a partir de preparaciones fabricadas, muestras de diagnóstico y otras mezclas impuras. Análogamente, las enzimas inmovilizadas se usan para realizar conversiones catalíticas con recuperación fácil de enzima. Los compuestos bifuncional se usan habitualmente para unir análisis a grupos detectables en la preparación de reactivos para diagnóstico.

Muchos grupos funcionales presentes en los compuestos de la presente invención son adecuados para su uso en reticulación. Por ejemplo, el ácido fosfónico se usa para formar ésteres con alcoholes o amidas con aminos. Los grupos R sustituidos con OH, azido (que se reduce a amino si se desea antes de la reticulación) o vinilo son sitios ejemplares adecuados. Análogamente, el amino, halo, acilo y otros sitios reactivos encontrados en el grupo B son adecuados. La protección adecuada de grupos reactivos se usará cuando sea necesario mientras se ensambla el reactivo reticulado. En general, los compuestos del presente documento se usan uniéndolos mediante ácido fosfónico a los grupos hidroxilo o amino de un miembro de la pareja de unión de la misma manera que la mostrada en el presente documento, y unidos covalentemente al otro miembro de la pareja de unión a través de un grupo R. Por ejemplo, un primer miembro de la pareja de unión, tal como una hormona esteroidea, se esterifica al ácido fosfónico de la presente invención y después este conjugado se reticula mediante hidroximetilo R a Sepharose activada con bromuro de cianógeno, con lo que se obtiene el esteroide inmovilizado. Otras químicas para conjugación se conocen bien. Véase, por ejemplo, Maggio, "Enzyme-Immunoassay" (CRC, 1988, pág. 71-135) y las referencias citadas en ese documento.

Los oligonucleótidos de la presente invención se etiquetan con cualquier marcador convencional detectable, por ejemplo un resto fluorescente tal como fluoresceína, radioisótopos tales como  $C_{14}$  o  $H_3$ , radicales libres estables, avidina, biotina y similares, todos los cuales se han usado previamente como marcadores para inmunoensayos o sondas de diagnóstico. El marcador estará presente en el oligonucleótido o en el residuo del análogo de nucleótido de la presente invención. Los métodos de marcaje adecuados se conocen bien y se usan fácilmente con grupos reactivos tales como hidroxilo, alilo y similares. Un método sencillo es etiquetar el compuesto de la presente invención con  $H_3$  por intercambio de protones. Los compuestos también se biotinilan usando métodos convencionales. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. 5.276.143 para estructuras análogas. Sin embargo, los oligonucleótidos de la presente invención también son útiles directamente en ensayos con sonda de diagnóstico sin un marcador exógeno detectable. En una realización de esta alternativa, los anticuerpos se elevan contra los compuestos de la presente invención. Tales anticuerpos (que a su vez se marcan o se usan en una configuración de doble anticuerpo), se unen al análogo de la presente invención y, de esta manera, son útiles para detectar su presencia como marcador para una proteína u oligonucleótido.

Los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de infecciones microbianas, para el tratamiento de tumores o para otras indicaciones descritas más adelante. Las infecciones microbianas tratables por los compuestos de la presente invención incluyen virus, parásitos, levaduras y hongos, aunque se cree que los compuestos son más eficaces contra virus, lo que constituye su utilidad preferida. Las infecciones virales ejemplares incluyen infecciones provocadas por virus del ADN o ARN incluyendo herpesvirus (CMV, VHS 1, VHS 2, EBV, virus varicela-zóster [VVZ] ciertos compuestos son excepcionalmente potentes contra este virus y, por lo tanto, serán útiles en el tratamiento de herpes y varicela, habitualmente por aplicación tópica), herpesvirus bovino tipo 1, herpesvirus equino tipo 1, VHH-6, papilomavirus (HPV tipos 1-55 incluyendo HPV carcinogénico), flavivirus (incluyendo virus de la fiebre amarilla, virus de la peste porcina africana y virus de la encefalitis japonesa), togavirus (incluyendo virus de la encefalomielit equina venezolana), virus de la gripe (tipos A-C), retrovirus (VIH-1, VIH-2, VLTH-I, VLTH-II, SIV, FeLV, FIV, MoMSV), adenovirus (tipos 1-8), virus de la viruela (vacuna contra el virus), enterovirus (poliovirus tipos 1-3, Coxsackie, virus de la hepatitis A, y virus ECHO), virus de la gastroenteritis (virus de Norwalk, rotavirus), hantavirus (virus de Hantaan), poliomavirus, papovavirus, rinovirus, virus parainfluenza tipos 1-4, virus de la rabia, virus sincitial respiratorio (VSR), hepatitis virus A, B, C y E, y similares.

La actividad antiviral de los análogos de nucleótido individuales se determina por un ensayo de la actividad antiviral (u otro antimicrobiano) rutinario usando ensayos de inhibición de enzima, ensayos de cultivo tisular, ensayos de modelo animal y similares, como entenderán los especialistas en la técnica.

Las infecciones por parásito protozoario se tratan usando los compuestos de la invención. El término protozoo incluye aquellos miembros de los subtipos *Sarcomastigophora* y *Sporozoa* del tipo *Protozoa*. Más particularmente, el término protozoo como se usa en el presente documento incluye géneros de protozoos parasitarios que son importantes para el hombre porque provocan enfermedades en el hombre o en sus animales domésticos. Estos géneros, en su mayor parte, se clasifican en la superclase *Mastigophora* del subtipo *Sarcomastigophora* y la clase *Telosporea* del subtipo *Sporozoa* en la clasificación de acuerdo con Baker (1969). Los géneros ilustrativos de estos protozoos parasitarios incluyen *Histomonas*, *Pneumocystis*, *Trypanosoma*, *Giardia*, *Trichomonas*, *Eimeria*, *Isopora*, *Leishmania*, *Entamoeba*, *Toxoplasma* y *Plasmodium*. Parasitic protozoons incluyen *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium berghei*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Leishmania braziliensis*, *Leishmania donovani*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma rhodesiense*, *Pneumocystis carinii*, *Entamoeba histolytica*, *Trichomonas vaginalis* y similares (de Vries, E., et al, "Mol. Biochem. Parasitol" 47:43-50 (1991)) y tripanosomas (Kaminsky et al. "J. Parasitol." 80(6):1026-30 (1994). Los compuestos en los que R es  $CH_2OH$  y B es 3-desazaadenina son particularmente interesantes en el tratamiento de parásitos de la malaria.

Los análogos de nucleótido de la invención se usan para tratar infecciones por levadura u hongos provocadas por *Candida glabrata*, *Candida ropicalis*, *Candida albicans*, y otras especies de *Candida*, especies de *Cryptococcus* incluyendo *Cryptococcus neoformans*, especies de *Blastomyces* incluyendo *Blastomyces dermatidis*, especies de *Torulopsis* incluyendo *Torulopsis glabrata*, especies de *Coccidioides* incluyendo *Coccidioides immitis*, especies de *Aspergillus* y similares.

Los compuestos terapéuticamente útiles de la presente invención son útiles en formas de liberación oral o sostenida. En estos usos, un éster u otro grupo se retira *in vivo*, por ejemplo, se hidroliza y oxida, de manera que produce, por ejemplo, un grupo amino o hidroxilo libre. Los ésteres o amidatos protectores o precursor adecuados se seleccionan en base a la especificidad del sustrato de esterasas y/o carboxipeptidasas que se espera encontrar dentro de las células donde se desea la hidrólisis del precursor. En tanto que la especificidad de estas enzimas es desconocida, se buscará una pluralidad de análogos de nucleótido de la presente invención hasta que se encuentre la especificidad de sustrato deseada. Esto resultará evidente a partir de la aparición de fosfonato libre o de actividad antimicrobiana. Generalmente se seleccionan compuestos que (i) no están hidrolizados o se hidrolizan de forma comparativamente lenta en el intestino superior, (ii) son permeables para el intestino y las células y (iii) se hidrolizan en el citoplasma celular y/o en la circulación sistémica. El reconocimiento con células de tejidos particular se usa para identificar precursores que se liberan en órganos susceptibles a una infección viral o microbiana diana, por ejemplo en el caso del hígado, fármacos precursores capaces de hidrólisis en el hígado. Otras infecciones, por



ejemplo CMV o VIH, opcionalmente se tratan con un precursor que se hidroliza sustancialmente a la misma velocidad y sustancialmente al mismo grado en todos los tejidos. Los ensayos conocidos en la técnica son adecuados para estos fines, incluyendo estabilidad de la luz intestinal, permeación celular, estabilidad del homogeneizado hepático y ensayos de estabilidad en plasma. Estos ensayos se usan para determinar las características de biodisponibilidad de los precursores. Sin embargo, incluso aunque los derivados no se conviertan *in vivo* siguen siendo útiles como intermedios químicos.

Los análogos de nucleótido de la invención también pueden (1) aplicarse a sistemas de cultivo tisular para eliminar o reducir la propagación o el crecimiento viral durante la producción de productos biofarmacéuticos u otros productos (tales como proteínas o vacunas), (2) usarse para eliminar o reducir la propagación o el crecimiento viral en muestras clínicas (tal como sangre), y (3) usarse para detener el crecimiento de las células del cultivo tisular o bacterianas (usando cantidades tóxicas de compuesto) mientras se deja que las células continúen la producción de proteína.

Se ha descubierto que los compuestos en el presente documento suprimen la inmunoestimulación. Por consiguiente, pueden suprimir las actividades metabólicas de los linfocitos T estimulados por diversos agentes, por ejemplo concavalina A; encontrarán aplicación principalmente en el tratamiento de enfermedades autoinmunes, por ejemplo artritis, o en la supresión del rechazo de trasplantes. Sus concentraciones terapéuticamente activas están en el intervalo de 5 mg/kg a 100 mg/kg de peso corporal.

Formulaciones farmacéuticas. Los compuestos en el presente documento y sus sales fisiológicamente aceptables (en lo sucesivo en el presente documento denominados colectivamente los ingredientes activos) se formulan para administración por cualquier vía apropiada para la afección a tratar. Los compuestos y formulaciones preferentemente serán estériles.

Los ingredientes activos se ponen en formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, para uso tanto veterinario como humano, comprenden al menos un ingrediente activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables para el mismo y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos. El vehículo o vehículos deben ser "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no perjudiciales para el destinatario.

Las formulaciones se presentan convenientemente en forma de dosificación unitaria, y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. En general, las formulaciones se preparan asociado de forma uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos y, después, si fuera necesario, conformando el producto.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite-en-agua o una emulsión líquida de agua-en-aceite. El ingrediente activo puede presentarse también como un bolo, electuario o pasta.

Para infecciones externas del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica que contiene el o los ingredientes activos en una cantidad de, por ejemplo, el 0,075 al 20% p/p (incluyendo ingredientes activos en un intervalo entre el 0,1% y el 20% en incrementos del 0,1% p/p tal como el 0,6% p/p, 0,7% p/p, etc.), típicamente del 0,2 al 15% p/p y más típicamente del 0,5 al 10% p/p. Cuando se formula en una pomada, los ingredientes activos pueden emplearse con cualquiera de una base de pomada parafínica o miscible en agua. Como alternativa, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite-en-agua.

Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos un 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG 400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir, deseablemente, un compuesto que potencie la absorción o penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de tales potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de la presente invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Esta fase puede comprender un emulsionante solo, o una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o tanto con una grasa como con un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizador. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Los estabilizadores de emulsión adecuados para su uso en la formulación de la presente invención incluyen Tween<sup>®</sup> 60, Span<sup>®</sup> 80, alcohol cetosteárico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, mono-estearato de glicerol y lauril sulfato sódico. Los aceites o grasas adecuados incluyen ésteres de alquilo mono- o dibásicos, lineales o de cadena ramificada, tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, propilenglicol diéster de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo o

palmitato de 2-etilhexilo. Estos pueden usarse solos o en combinación, dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, pueden usarse lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

- 5 Las formulaciones adecuadas para administración tópica al ojo también incluyen gotas para el ojo en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo típicamente está presente en tales formulaciones en una concentración del 0,01 al 20% en peso.
- 10 Las formulaciones adecuadas para administración nasal, en las que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partícula en un intervalo entre 20 y 500 micrómetros en incrementos de 5 micrómetros tal como 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administra por inhalación rápida a través del pasaje nasal desde un recipiente que contiene el polvo. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para administración tal como por ejemplo un pulverizador nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para administración mediante aerosol pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden suministrarse con otros agentes terapéuticos tales como pentamida para el tratamiento de neumonía por pneumocystis.
- 15
- 20 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse en forma de pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización que contienen, además del ingrediente activo, vehículos tales como los conocidos en la técnica como apropiados.

25 Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles, acuosas y no acuosas, que pueden contener anti-oxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen a la formulación isotónica con la sangre del destinatario pretendido; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en forma de dosis unitaria o como recipientes multi-dosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos de la clase descrita previamente. Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una unidad sub-dosis diaria, como las citadas anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de las mismas, de un ingrediente activo.

30

35

La presente invención proporciona adicionalmente composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario para el mismo. Los vehículos veterinarios son materiales para administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que por lo demás son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo.

40 Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

Los compuestos en el presente documento se usan opcionalmente en formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como ingrediente activo uno o más compuestos activos en los que la liberación del ingrediente activo está controlada y regulada para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un compuesto dado. En general, los compuestos se administran desde sistemas de liberación controlada tales como el implante intravítreo del documento WO 92/14450 o la patente de EE.UU. 5.098.443, o las matrices de la patente de EE.UU. 4.740.365 o la patente de EE.UU. 5.141.752. Se conocen otros muchos y son adecuados para su uso en el presente documento.

45

50 Administración terapéutica. Las vías adecuadas para la administración incluyen oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravítrea, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La vía de administración preferida dependerá del estado del paciente, la toxicidad del compuesto y el sitio de infección, entre otras consideraciones conocidas por el médico.

55 Para cada una de las indicaciones terapéuticas indicadas anteriormente la cantidad requerida de un ingrediente activo (como se ha definido anteriormente) dependerá de un número de factores incluyendo la gravedad de la afección a tratar, el agente infeccioso, si el uso es profiláctico o para tratar una infección aguda, el sitio de infección o patología (por ejemplo, la retinitis CMV se trata sistémicamente o por inyección intravítrea, o en el tratamiento de VHH-6 en pacientes con esclerosis múltiple, opcionalmente por administración intratecal) y otros factores finalmente a discreción del médico o veterinario que atienda. En general, sin embargo, una dosis adecuada según la consideración del médico estará en el intervalo de metoxifosfonatos análogos (véase lo anterior), teniendo en cuenta diferencias en potencia, generalmente de 0,1 a 250 mg por kilogramo de peso corporal del destinatario por dosis (incluyendo ingredientes activos en un intervalo entre 0,1 mg y 250 mg/kg/dosis en incrementos de 0,5 mg/kg/ dosis, tal como 2,5 mg/kg/dosis, 3,0 mg/kg/dosis, 3,5 mg/kg/dosis, etc.), típicamente en el intervalo de 0,5 a 50 mg por kilogramo de peso corporal por dosis y, más normalmente, en el intervalo de 1 a 15 mg por kilogramo de peso corporal por dosis. A menos que se indique otra cosa, todos los pesos de ingrediente activo se calculan como

60

65

compuestos en los que Y no es polímero.

La dosis deseada se administra a los intervalos apropiados en formas de dosificación unitarias, normalmente con una dosis de inducción relativamente mayor y con dosis de mantenimiento menores y menos frecuentes. Los compuestos se usan profilácticamente, por ejemplo, por administración durante aproximadamente de 1 a 7 días antes de la infección viral. Los tumores o engrosamientos HPV y lesiones por herpes a menudo se tratan por vía tópica, ya sea por inyección local o mediante geles tópicos, pomadas o similares.

En general, se espera que los compuestos ciclados internamente tengan una biodisponibilidad oral mayor que el análogo de nucleótido no ciclado correspondiente y/o que presenten una toxicidad reducida en comparación con la misma dosis del análogo de nucleótido no ciclado correspondiente. Además, los compuestos N<sup>6</sup>-sustituídos por sí mismos poseen una menor toxicidad y son más selectivos que los derivados de guanina comparables. Por lo tanto, las dosis se ajustarán en consecuencia.

Los compuestos de la invención, opcionalmente, se emplean junto con otros agentes terapéuticos para el tratamiento o profilaxis de las infecciones o afecciones indicadas anteriormente. Los ejemplos de tales agentes terapéuticos adicionales incluyen agentes que son eficaces para el tratamiento o profilaxis de infecciones virales, parasitarias o bacteriales, o afecciones asociadas, o para el tratamiento de tumores o afecciones relacionadas. Éstos incluyen 3'-azido-3'-desoxitimidina (zidovudina, AZT), 2'-desoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-didesoxi-2',3'-dideshidroadenosina (D4A), 2',3'-didesoxi-2',3'-dideshidrotimidina (D4T), carbovir (2',3'-didesoxi-2',3'-dideshidroguanosa carbocíclica), 3'-azido-2',3'-didesoxiuridina, 5-fluorotimidina, (E)-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina (BVDU), 2-cloro-2'-desoxiadenosina, 2-desoxicofomicina, 5-fluorouracilo, 5-fluorouridina, 5-fluoro-2'-desoxiuridina, 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina, 6-azauridina, ácido 5-fluoroorótico, metotrexato, triacetiluridina, 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-1-β-D-arabinosil)-5-yodocitidina (FIAC), tetrahidroimidazo(4,5,1-jk)-(1,4)-benzodiazepin-2(1H)-tiona (TIBO), GMP 2'-nor-cíclico, 6-metoxipurina arabinósido (ara-M), 6-metoxipurina arabinósido 2'-O-valerato; citosina arabinósido (ara-C), 2',3'-didesoxinucleósidos tales como 2',3'-didesoxicitidina (ddC), 2',3'-didesoxiadenosina (ddA) y 2',3'-didesoxiinosina (ddI), nucleósidos acíclicos tales como aciclovir, valaciclovir, penciclovir, fanciclovir, ganciclovir, nucleótidos acíclicos tales como HPMP, PMEA, PMEG, PMPA, PMPDAP, FPMPA, HPMPA y HPMP-DAP, (2R,5R)-9-[tetrahidro-5-(fosfonometoxi)-2-furanil]adenina, (2R,5R)-1-[tetrahidro-5-(fosfonometoxi)-2-furanil]timina, otros antivirales incluyendo ribavirina (adenina arabinósido), 2-tio-6-azauridina, tubercidina, ácido aurintricarboxílico, 3-desazaneoplanocina, neoplanocina, rimantidina, adamantina, y foscarnet(fosfonoformiato trisódico), agentes antibacterianos incluyendo fluoroquinolonas bactericidas (ciprofloxacina, pefloxacina y similares), aminoglicósido antibióticos bactericidas (estreptomina, gentamicina, ampicilina y similares), inhibidores de β-lactamasa (cefalosporinas, penicilinas y similares), otros antibacterianos incluyendo tetraciclina, isoniazid, rifampicina, cefoperazona, claitromicina y azitromicina, agentes antiparasitarios o antifúngicos incluyendo pentamidina (1,5-bis(4'-aminofenoxi)pentano), 9-desazainosina, sulfametoxazol, sulfadiazina, quinapiramina, quinina, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, anfotericina B, 5-fluorocitosina, clotrimazol, hexadecilfosfocolina y nistatina, inhibidores de la excreción renal tales como probenecid, inhibidores del transporte de nucleósido tales como dipiridamol, dilazep y nitrobenclitioinosina, inmunomoduladores tales como FK506, ciclosporina A, timosina ct-1, citocinas incluyendo interferones TNF y TGF-β incluyendo IFN-α, IFN-β y IFN-γ, inter-leucinas incluyendo interleucina 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, factores estimulantes de la colonia de macrófago/granulocito incluyendo GM-CSF, G-CSF, M-CSF, antagonistas de citocina incluyendo anticuerpos anti-TNF, anticuerpos anti-interleucina, receptores de interleucina soluble, inhibidores de proteína cinasa C y, particularmente en el tratamiento de VIH, co-terapia con IFN-α, IL-2 o IL-12.

**Inmunógenos y anticuerpos.** Los compuestos de la presente invención se usan como inmunógenos para preparar anticuerpos capaces de unirse específicamente a los compuestos a sus productos metabólicos. Las composiciones inmunógenas son útiles como intermedios en la preparación de anticuerpos para su uso en ensayos de control diagnóstico o de calidad para los compuestos o sus productos metabólicos. Los anticuerpos son útiles para medir la presencia, ausencia o cantidades de los compuestos por cualquier procedimiento homogéneo o heterogéneo conveniente, tal como inmunoensayo de polarización por fluorescencia, inmunoensayo de fluorescencia (usando marcadores fluorescentes tales como fluoresceína y similares), radioinmunoensayo, inmunoensayo enzimático (usando indicadores enzimáticos tales como fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano rusticano, glucosa oxidasa, ureasa y similares) y ensayo de inhibición nefelométrica por métodos descritos (documento WO 92/22639). Los ensayos de tipo competitivo normalmente requieren el anticuerpo, y un trazador (tal como un marcador fluorescente o radio-marcador) conjugado con el compuesto a ensayar. Los anticuerpos dirigidos contra los compuestos de la presente invención deseablemente no reaccionarán con nucleótidos o nucleósidos de origen natural.

Los inmunógenos de la presente invención contienen los productos precursores o hidrolíticos en asociación con una sustancia inmunógena tal como una proteína o péptido. Las sustancias inmunógenas incluyen adyuvantes tales como adyuvante de Freund, proteínas inmunógenas tales como polipéptidos virales, bacterianos, de levadura, vegetales y animales, en particular hemo-cianina de lapa ojo de cerradura, albúmina de suero, tiroglobulina bovina o inhibidor de tripsina de semilla de soja, y polisacáridos inmunógenos.

Los métodos para la fabricación de inmunógenos de hapteno son convencionales por sí mismos, y son útiles en el presente documento, teniendo en cuenta los grupos funcionales que están disponibles para la reticulación. El

inmunógeno de polipéptido (o un polipéptido que se desea hacer inmunógeno por reticulación a un compuesto de la presente invención) puede conjugarse en un sitio en la base heterocíclica en lugar de al resto fosfonato. En general, el sitio será un fosfonil hidroxilo reticulado por amidación o esterificación del fosfonato por el propio polipéptido o por una funcionalidad de reticulación unida covalentemente al polipéptido, con lo que Y es una proteína inmunógena que

5 tiene más de 50 residuos aminoacídicos, normalmente menos de 1000. Los conjugados se preparan de una manera convencional. Por ejemplo, N-hidroxisuccinimida, anhídrido succínico o carbodiimidas N,N-disustituidas son útiles en la preparación de conjugados de la presente invención. Los animales típicamente se inmunizan contra los conjugados inmunógenos y anticuerpos monoclonales preparados de una forma convencional.

#### 10 Métodos sintéticos

Los compuestos en el presente documento se preparan por métodos conocidos por sí mismos. Véanse, por ejemplo, los documentos WO 94/03467 y WO 95/07920, o los Esquemas 1 y 2 a continuación (obsérvese que puede usarse cualquier grupo protector de OH-alquilación OH-alquilación en lugar de isopropilo o que R<sup>3</sup>, y R<sup>3</sup> y iPr pueden usarse

15 de forma intercambiable). En general, en el Esquema 1, la 6-cloropurina se alquila en primer lugar en DMF, en presencia de una cantidad equivalente de hidruro sódico o carbonato de cesio a 60-100 °C. Los productos se aíslan después por cromatografía en sílice y se cristalizan en acetato de etilo por adición lenta de éter de petróleo hasta que ocurre la cristalización (los compuestos 2-amino-6-cloropurinil PME/PMP son cristalinos, pero los compuestos 6-cloropurinil PME/PMP son aceites). El compuesto 6-cloro obtenido se trata en solución de etanol con un exceso (de

20 5 a 10 veces) de la amina a reflujo correspondiente. La reacción va seguida de análisis por TLC o HPLC. La mezcla se evapora después, se desioniza en una columna de intercambio de cationes (Dowex 50), se lava con metanol acuoso al 20%, y el compuesto se libera mediante el uso de amoniaco al 2,5% en metanol acuoso al 20%. El eluato se evaporó y se secó sobre pentóxido de fósforo, el residuo se trató con bromotrimetilsilano al 10% (v/v) en acetoneitrilo (5 ml por mM de compuesto) para desproteger los grupos hidroxilo. La mezcla se dejó reposar durante

25 una noche y se trató como se ha descrito en el documento WO 94/03467.

En un método alternativo para fabricar los compuestos de la presente invención, mostrado en el Esquema 2, se trata 6-cloropurina (R<sup>2</sup> = H o NH<sub>2</sub>) durante 3-12 h con exceso (5-10 veces) de amina primaria o secundaria en etanol absoluto o metanol a la temperatura de reflujo o en un autoclave a 100-120 °C. El disolvente se recoge al vacío y el residuo se destila junto con el mismo disolvente. El residuo se purifica por cristalización, desionización en una resina

30 de intercambio de cationes o por cromatografía sobre gel de sílice. El derivado de 6-(amino sustituido)purina obtenido de esta manera (R<sup>2</sup> = H o NH<sub>2</sub>) se pretrata en solución de dimetilformamida con medio equivalente molar de carbonato de cesio, un equivalente molar de hidruro sódico durante 1 h a 100 °C y el sintón fosforoorgánico apropiado usado, por ejemplo, para la preparación de derivados de PME-, (R)-PMP o (S)- PMP (se añaden 1,1-1,5 equivalentes molares a la mezcla). La mezcla se calienta a 100-120 °C durante 8-16 h, se separa el disolvente y el intermedio diéster se aísla por cromatografía sobre gel de sílice. El tratamiento adicional con bromotrimetilsilano y purificación se realiza como en el caso anterior.

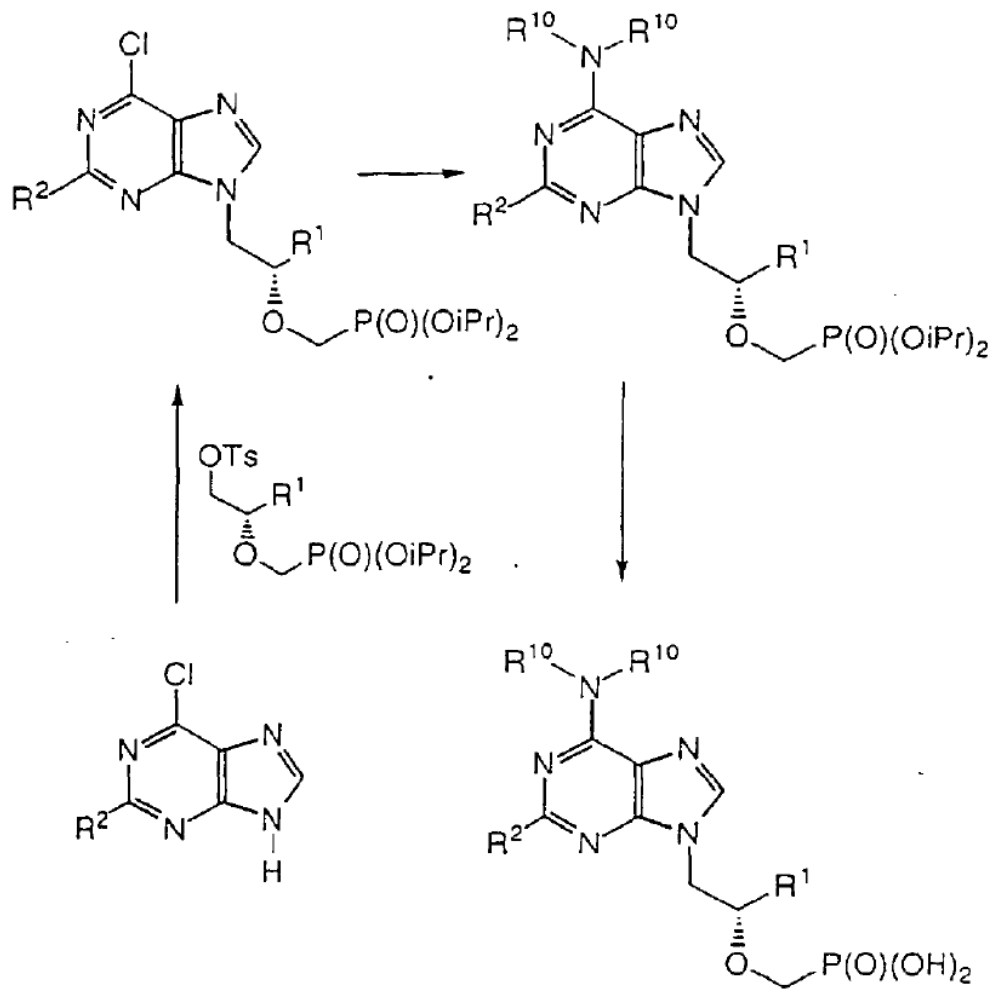
No es esencial emplear el grupo protector de fosfonilo cuando se espera que el sustituyente N<sup>6</sup> pueda ser inestable a la desprotección por TMS, por ejemplo cuando R<sup>10</sup> es un éter de alquilo. En este caso, el ácido libre se usa como el material de partida para la adición de la amina.

40

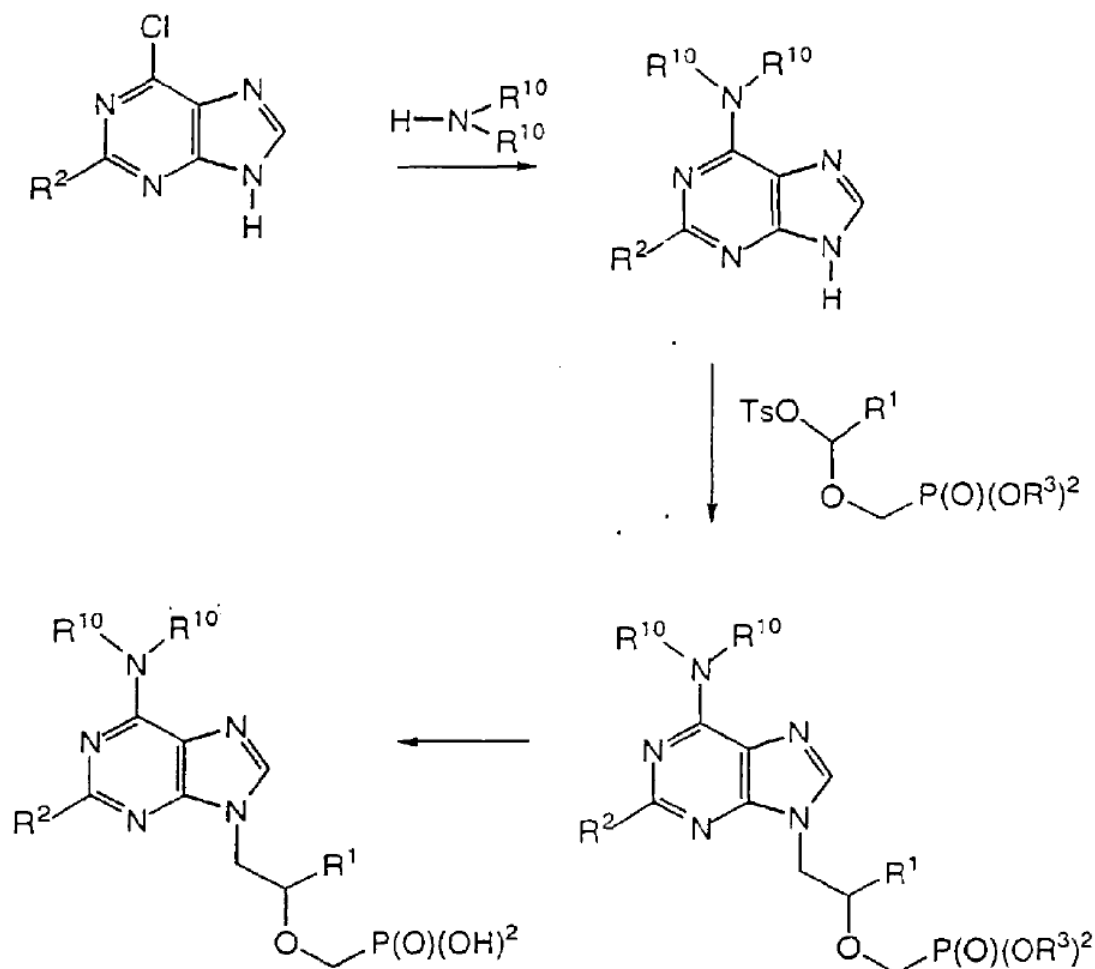
En los siguientes Esquemas, halógeno, OMS, O-nitrobencilsulfonilo, o O-trifilo se usan opcionalmente en lugar de OTs.

45

Esquema 1



Esquema 2



5 Los fosfonoamidatos, fosfonoésteres y ésteres ciclados internamente (donde R = hidroximetilo y un Y se toman juntos) se preparan todos por métodos análogos a los descritos en el documento WO 95/07920 o por otros métodos que serán evidentes para el especialista.

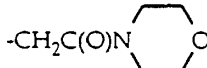
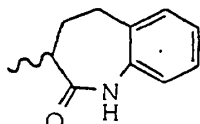
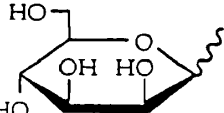
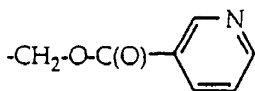
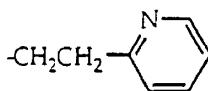
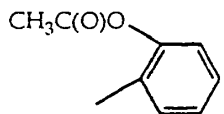
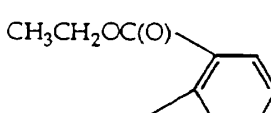
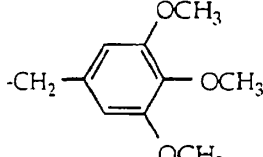
10 Los compuestos de la presente invención en los que Y es un oligonucleótido se preparan a partir de monómeros parentales en los que Y es OH. Los monómeros se convierten en el intermedio reactivo usando química convencional, por ejemplo el método de Uhlmann et al., "Chemical Reviews" 90(4):543 en 553, parte c y Fig. 23 (1990) o Mazur et al., "Tetrahedron Letters" 40(20):3949 en el esquema (1) y página 3955 (1984). Por ejemplo, una cadena oligonucleotídica se sintetiza en una matriz, tal como vidrio con poros controlados en la dirección 3'-5' o 5' a 3', con lo que los extremos 3' o 5', respectivamente, del oligonucleótido, se unen a la matriz y el oligonucleótido está protegido excepto por el hidroxilo 5' o 3' terminal, respectivamente, del último nucleótido. El derivado de o-clorofenilo protegido de la estructura 1 del compuesto se prepara, de forma análoga al material de partida mostrado en la Fig. 23 de Uhlmann et al. Este se une covalentemente a un OH terminal del oligonucleótido usando el método de Uhlmann et al.

20 Como alternativa, el compuesto de la presente invención se convierte en el intermedio que es análogo al compuesto 12 de Mazur et al. Este análogo se añade al oligonucleótido usando esencialmente la química preparativa de dinucleótido mostrada en la página 3955 de Mazur et al. La sal de piridinio del compuesto de la presente invención (sin grupos hidroxilo libres) se condensa con el extremo 5' o 3' libre del oligonucleótido por lo demás protegido, de la misma manera que Mazur et al. condensan el fosfonato 12 con una segunda unidad nucleósido usando DCC en piridina seca en presencia de Dowex 50. Después de la reacción por cualquier método, el oligonucleótido se separa de la matriz (si está presente durante la adición del compuesto de la presente invención) y se desprotege.

25 Como alternativa, los compuestos de la presente invención se convierten químicamente en análogos de nucleótido trifosfato. Esto se consigue usando reacciones conocidas, por ejemplo, reacción del fosfonato activado (por ejemplo, el morfolidato o imidazolidato con tris(tri-n-butilamonio) pirofosfato en DMF.

La tabla 1 muestra los restos éster R<sup>3</sup> éster y amidato Y que pueden unirse mediante oxígeno o directamente, respectivamente, al átomo de fósforo. Los ésteres con las estructuras 1-5, 8-10 y 16, 17, 19-22 se sintetizan haciendo reaccionar un análogo de nucleótido que tiene un hidroxilo libre con el haluro correspondiente (cloruro o cloruro de acilo y similares) y N,N-diciclohexil-N-morfolina carboxamidina (u otra base tal como DBU, trietilamina, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, N,N-dimetilanilina y similares) en DMF (u otro disolvente tal como acetonitrilo o N-metilpirrolidona). Los ésteres de estructuras 5-7, 11, 12, 21, y 23-26 se sintetizan por reacción del alcohol o sal de alcóxido (o las aminas correspondientes en el caso de compuestos tales como 13, 14 y 15) con el monoclórfosfonato o diclorofosfonato u otro fosfonato activado. Estos métodos puede que no sean óptimos para la preparación de todos los ésteres, particularmente aquellos en los que la unión éster es sensible, por ejemplo a hidrólisis. Puede ser deseable preparar éstos a partir de los fosfonatos libres y otros intermedios diéster tales como hidroxialquilo, aminoalquilo, etc.

TABLA 1

1. -CH <sub>2</sub> -C(O)-N(R <sup>15</sup> ) <sub>2</sub> *	10. CH <sub>2</sub> -O-C(O)-C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	
2. -CH <sub>2</sub> -S(O)(R <sup>15</sup> )	11. -CH <sub>2</sub> -CCl <sub>3</sub>	
3. -CH <sub>2</sub> -S(O) <sub>2</sub> (R <sup>15</sup> )	12. -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	
4. -CH <sub>2</sub> -O-C(O)-CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	13. -NH-CH <sub>2</sub> -C(O)O-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
5. 3-colesterilo	14. -N(CH <sub>3</sub> )-CH <sub>2</sub> -C(O)O-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	
6. 3-piridilo	15. -NHR <sup>3</sup>	
7. N-etilmorfolino	16. -CH <sub>2</sub> -O-C(O)-C <sub>10</sub> H <sub>15</sub>	
8. -CH <sub>2</sub> -O-C(O)-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	17. -CH <sub>2</sub> -O-C(O)-CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	
9. -CH <sub>2</sub> -O-C(O)-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	18. -CH <sub>2</sub> -C#H(OC(O)CH <sub>2</sub> R <sup>15</sup> )-CH <sub>2</sub> -(OC(O)CH <sub>2</sub> R <sup>15</sup> )*	
19. 	20. 	21. 
22. 	23. 	24. 
25. 	26. 	27. -(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Phe

\* - cada R<sup>15</sup> es un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> igual o diferente (incluye metilo, etilo, propilo, isopropilo y t-butilo)

# - el centro quiral es (R), (S) o racemato

Otros ésteres que son adecuados para su uso en el presente documento se describen en el documento EP 632.048.

Si cualquiera de los compuestos de la presente invención no pudiera producirse por uno de los métodos anteriores, otros métodos resultarán evidentes para el especialista, haciendo referencia a métodos convencionales (véase, por ejemplo, Liotta et al. "Compendium of Organic Synthesis Methods" (John Wiley & Sons, Nueva York), Vol. 1, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1971; Vol. 2, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1974; Vol. 3, Louis S. Hegedus y Leroy Wade, 1977; Vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., 1980; Vol. 5, Leroy G. Wade, Jr., 1984; y Vol. 6, Michael B. Smith; March, J., "Advanced Organic Chemistry, Tercera Edición", (John Wiley & Sons, Nueva York, 1985); así como "Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry. En 9 Volúmenes", Barry M. Trost, Editor Principal (Pergamon Press, Nueva York, 1993 printing).

### Ejemplos

Los compuestos se sintetizaron como se ha descrito, y se ensayaron para la actividad contra VHS-1, VHS-2, CMV, VVZ, virus vacuna, MSV, VIH-1 y VIH-2 usando métodos convencionales en los que la inhibición del virus inducía citopaticidad en cualquiera de los cultivos celulares E<sub>6</sub>SM o HEL ensayados (véase, por ejemplo, De Clercq et al. "J. Infect. Dis." 141:563 (1981) y "Nature" 323:464 (1986), Snoeck et al. "Antiviral Res." 21:197 (1993), Snoeck et al. "J. Med. Vir." 42:338 (1994) y Baba et al. "Eur. J. Clin. Microbiol." 6:158 (1987)). Los siguientes virus se incluyeron en el estudio: virus de herpes simple tipo 1 (VHS-1), cepa KOS y cepas deficitarias en TK B 2006 y VMW 1837, VHS-2

(cepa G), virus vacuna (W) y virus de la estomatitis vesicular (VEV) en células E<sub>6</sub>SM; citomegalovirus cepa AD-169 y cepa Davis (células HEL), virus varicela-zoster (VVZ) cepa OKA (TK<sup>+</sup>), YS (TK<sup>+</sup>), 07/1 (TK<sup>-</sup>) e YS/R (TK<sup>-</sup>) en células HEL. Los cultivos celulares se inocularon con 100 CCID<sub>50</sub>, con un periodo de adsorción del virus de 1 h.

5 La inhibición de citopaticidad inducida por VIH en células MT-4 o CEM/O se realizó como se describe en Balzarini et al., "Proc. Natl. Acad. Sci. USA" 86:332 (1989). Los cultivos celulares se inocularon con 100 CCID<sub>50</sub> de VIH-1 (VLTH-III) o VIH-2 (cepa LAV-2).

10 La inhibición de la transformación MSV de fibroblastos C<sub>3</sub>H/3T3 murinos se determinó de acuerdo con Balzarini et al., "Proc. Natl. Acad. Sci. USA" 86:332 (1989). Los cultivos celulares se inocularon con 80 unidades formadoras de foco de MSV (preparadas de acuerdo con De Clercq y Merigan, "Proc. Soc. Exp. Biol. Med." 137:590 (1971).

15 Los resultados se exponen en las tablas 1-7. En estas tablas, se entenderá que 6-ciprNH-DAP, 6-cihexNH-DAP, 6-fenetNH-DAP, pirrolidino o pirrol, pip o piperidino, morfolino, benzhidrilamino y furfurilamino significan, respectivamente, 2-amino-6-(N-ciclopropil)purina, 2-amino-6-(N-ciclohexil)purina, 2-amino-6-(N-[2-fenil]etil)purina, 6-(N-pirrol)purina, 6-(N-piperidino)purina, 6-(N-morfolino)purina, difenilmetilaminopurina y 6-((2-furil)metilamino)purina. Las actividades antivirales se expresan como CE<sub>50</sub> en mg/ml; NA = no activo; ND = no determinado.

20 Además, la capacidad de los compuestos seleccionados de suprimir o inhibir la estimulación del sistema inmune se evaluó determinando la actividad metabólica de los linfocitos tratados. La suspensión de células individuales de esplenocitos se preparó haciendo pasar los bazos combinados fragmentados de ratones a través de un tamiz de nylon fino. Los eritrocitos se retiraron mediante Tampón de Lisis Celular de Glóbulos Rojos, Sigma, que contiene cloruro de amonio al 0,83% en Tris-HCl 0,01 M a pH 7,5. Después de repetir el lavado (dos veces en solución salina tamponada con fosfato, una vez en medio RPMI-1640 incompleto), las células se sembraron por triplicado en los pocillos de placas de cultivo celular con fondo en U de 96 pocillos (Costar). El número de células era de 5 x 10<sup>5</sup>/pocillo en 100 ml finales. Se cultivaron durante 72 h (37 °C, CO<sub>2</sub> al 5%, humedad relativa del 100%; incubadora Heraeus) en ausencia de mitógenos, o en presencia de PWM (1 mg/ml), o ConA (4 mg/ml), o LPS (5 mg/ml). Los compuestos de ensayo se añadieron de 10 a 30 min después de la aplicación de los mitógenos (así como las células no estimuladas por mitógeno). Su concentración final variaba de 0,0005 a 500 mM. Seis horas antes de recoger las células, éstas se pulsaron con 0,5 mCi de <sup>3</sup>H-timidina. Las células se recogieron sobre filtros de microfibra de vidrio usando el recolector Dynatech Multimash 2000. La incorporación de timidina (cpm) se determinó por recuento de centelleo líquido.

35 Determinación de la concentración inhibidora al 50% (CI<sub>50</sub>). La relación entre la concentración del fármaco y el % de inhibición de la incorporación de timidina se describe mediante la ecuación de Hill en la forma: % inhibición = [CN/(CI<sub>50</sub> + CN)] x I<sub>máx</sub> (Ec. 1), donde I<sub>máx</sub> es la inhibición máxima de la incorporación de timidina, CI<sub>50</sub> es la concentración que induce una inhibición del 50% del máximo, y N es lo que se denomina factor "de forma". El ajuste de los valores de inhibición a al Ec. 1 y la estimación de sus parámetros a partir de los datos se ejecutó en un ordenador Hewlett-Packard 86B usando un procedimiento de iteración basado en la modificación de Levenberg-Marcquardt del algoritmo de minimización de Gauss-Newton. Estos datos, incluyendo la variación observada en las determinaciones por duplicado o múltiples ("m"), se presenta en las tablas 6-8.

Tabla 1a

Actividad antiviral de 9-(R)-(2-fosfonometoxipropil)adeninas N6-sustituidas (derivadas de PMP)											
6-Sustituyente	VHS-1 (KOS)	VHS-2 (G)	VHS-1 TK <sup>-</sup> B2006	VHS-1 TK <sup>-</sup> VMW1837	CMV AD169	CMV Davis	VVZ TK <sup>+</sup> OKA	VVZ TK <sup>+</sup> YS	VVZ TK <sup>-</sup> 07/1	VVZ TK <sup>-</sup> YS/R	Virus vacuna
<b>adeninas (R)-N6-sustituidas</b>											
Amino	150	70	>200	300	>100	>100	35	57,6	8	28	>200
Dimetilamino	2	2	2	2	0,9	0,9	0,006	0,013	0,02	0,016	20
Etilmetilamino	0,7	2	2	0,7	0,13	0,28	0,007	0,011	0,005	0,005	20
Dietilamino	7	20	20	20	3,3	3,6	0,045	0,126	0,107	0,112	20
Isobutilamino	4	20	20	20	3,6	3,6	0,021	0,079	0,083	0,041	40
Alilamino	2	2	7	2	0,9	0,8	0,016	0,032	0,011	0,015	70
Ciclopropilamino	2	2	2	0,7	0,6	0,35	0,009	0,013	0,004	0,007	20
Pirrolidino	7	20	20	10	7,2	9	0,151	0,082	0,106	0,095	70
2-Dimetilaminoetilamino	2	7	7	0,7	1,1	1	0,038	0,039	0,022	0,03	70



Tabla 1b

<b>Actividad antiviral de 9-(2-fosfonometoxipropil)-2,6-diaminopurinas N6-sustituidas (derivadas de PMP)</b>											
6-Sustituyente	VHS-1 (KOS)	VHS-2 (G)	VHS-1 TK' B2006	VHS-1 TK' VMW1837	CMV AD169	CMV Davis	VVZ TK' OKA	VVZ TK' YS	VVZ TK' 07/1	VVZ TK' YS/R	Virus vacuna
<b>2,6-diaminopurinas (R)-N6-sustituidas</b>											
Amino	300	70	-	150	NA	NA	NA	NA	NA	NA	150
Dimetilamino	20	>100	>100	20	>50	>50	30	30	20	20	>100
1-Butilamino	70	>100	>100	70	>50	>50	30	50	30	35	>100
2-Butilamino	40	>100	>100	20	>50	>50	50	40	30	30	70
2-Metilpropilamino	NA	NA	NA	NA	>20	>20	>20	>20	>20	>20	NA
1-Pentilamino	NA	NA	ND	NA	>50	ND	>50	ND	ND	NO	NA
Ciclopropilamino	150	>400	10	150	>50	>50	15	30	37	45	300
Ciclopentilamino	150	>200	>200	>200	>50	>50	>50	>50	>50	>50	70
Ciclohexilamino	70	>100	20	20	>50	>50	30	12	40	25	>100
Pirrolidino	>200	>200	400	>200	>50	>50	5	40	>50	>50	150
Piperidino	70	>100	>100	70	>50	>50	33	40	50	50	70
Morfolino	70	>100	>100	70	>50	>50	>50	20	40	50	>100
Bencilamino	70	>100	70	40	>50	>50	35	25	20	20	70
Furfurilamino	NA	300	ND	70	>50	ND	ND	ND	ND	ND	NA
2-Dimetilaminoetilamino	7	2	20	7	0,37	0,8	0,026	0,006	0,003	0,009	20
<b>2,6-diaminopurinas (s)-N6-sustituidas</b>											
Amino	150	70	-	150	NA	NA	20	10	>40	25	-
Dimetilamino	0,7	2	2	4	1,2	09	0,01	0,017	0,026	0,023	20
Alilamino	7	20	20	20	6	7	0,026	0,13	0,12	0,1	70
Ciclopropilamino	2	2	2	2	1,3	092	0,007	0,014	0,013	0,011	20
<b>2,6-diaminopurinas (s)-N6-sustituidas</b>											
Pirrolidino	20	20	20	70	5	5	0,05	0,18	0,24	0,11	150

Tabla 2

<b>Actividad antiviral de 9-(2-fosfonometoxietil)-2,6-diaminopurinas N6-sustituidas</b>											
6-Sustituyente	VHS-1 (KOS)	VHS-2 (G)	VHS-1 TK' 82006	VHS-1 TK' VMW1837	CMV AD169	CMV Davis	VVZ TK' OKA	VVZ TK' YS	VVZ TK' 07/1	VVZ TK' YSIR	Virus vacuna
Amino	2	0,2	-	2	10	10	0,02	0,01	0,02	0,03	70
Dimetilamino	0,07	0,7	2	0,07	0,2	0,1	0,04	0,02	0,01	0,01	2
Etilmetilamino	0,7	0,4	2	2	0,3	0,5	0,14	0,06	0,025	0,03	7
Alilamino	0,7	0,7	4	07	0,2	0,3	0,17	0,11	0,1	0,06	7
1-Butilamino	2	40	2	2	6	1,5	1,1	1,3	2	1,3	7
2-Butilamino	7	70	7	7	9	3	1,2	3	2	4,3	10
2-Metilpropilamino	2	7	7	7	0,8	1,2	0,16	0,17	0,32	0,15	20
Ciclopropilamino	0,2	0,7	0,2	0,2	0,2	0,12	0,009	0,03	0,08	0,05	0,7

Ciclopentilamino	2	20	2	10	5	2	1	2,35	3	1,35	20
Ciclohexilamino	2	7	2	0,7	1	2,5	1	1,4	0,2	0,2	20
Pirrolidino	2	10	0,7	7	2	0,9	0,2	0,38	0,85	1	20
Piperidino	0,7	7	10	0,7	0,9	1	1,4	0,9	0,2	0,2	4
Morfolino	7	20	10	7	10	10	1,5	8	4	6	70
Bencilamino	2	40	70	2	5	10	4	2	3	>50	20
Fanotilamino	20	20	NA	20	10	15	7	10	7	3,3	70
Fenilamina	70	70	70	70	7	7	1,2	3	1	2	300
Benzhidrilamino	2	7	20	2	1,2	1	0,06	0,05	0,029	0,032	20
$\alpha$ -Naftilamino	150	150	NA	NA	>50	>50	20	50	25	ND	300
2-Dimetilaminoetilamino	7	2	10	7	0,2	0,3	0,03	0,026	0,02	0,022	20
3-Dimetilaminopropilamino	7	7	20	20	1,3	1	0,1	0,068	0,028	0,03	70

Tabla 3

Actividad antiviral de 9-(2-fosfonometoxietil)adeninas N6-sustituídas											
6-Sustituyente	VHS-1 (KOS)	VHS-2 (G)	VHS-1 TK <sup>-</sup> B2006	VHS-1 TK <sup>-</sup> VMW1837	CMV AD169	CMV Davis	VVZ TK <sup>+</sup> OKA	VVZ TK <sup>+</sup> YS	VVZ TK <sup>-</sup> 07/1	VVZ TK <sup>-</sup> YSIR	Virus vacuna
Amino	20	2	-	7	70	-	6	10	6	10	100
Dimetilamino	7	20	70	7	9	9	1,6	3,2	0,9	4	300
Dietilamino	2	2	7	0,7	0,9	0,8	0,016	0,029	0,013	0,007	20
2-Metilpropilamino	20	70	20	20	25	13	0,65	0,9	0,27	0,2	NA
Alilamino	2	7	7	2	0,5	0,5	0,032	0,02	0,016	0,01	20
Ciclopropilamino	40	150	ND	70	25	23	3,5	5	1,6	4	NA
Ciclohexilamino	20	20	70	20	11	9	1,4	1,5	0,4	0,8	>400
Pirrolidino	20	70	ND	20	12	12	0,29	0,25	0,2	0,24	NA
Piperidino	20	70	ND	20	15	11	0,3	0,5	0,2	0,2	NA
2-Dimetilaminoetilamino	20	70	70	20	13	13	1,5	5	2	0,2	>200

Tabla 4

Actividad anti-retroviral de 9-(2-fosfonometoxietil)purinas (derivadas de PME)					
6-Sustituyente	MSV	VIH-1		VIH-2	
		MT-4	CEM	MT-4	CEM
<b>derivados de adenina N6-sustituídos</b>					
Amino	1,14 ± 0,04	>4			
Dimetilamino			>100		85 ± 21,2
Dietilamino			>4		>4
Alilamino			8 ± 5,7		5 ± 1,4
Ciclohexilamino			>100		>100
2-Dimetilaminoetilamino			>100		75 ± 35,4
<b>derivados de 2,6-diaminopurina N6-sustituídos</b>					
Amino	0,60 ± 0,33	2,67 ± 1,53	ND	ND	ND

ES 2 392 840 T3

Dimetilamino	0,24 ± 0,07	0,4 ± 0,01	0,7 ± 0,1	0,4 ± 0,05	0,8
Etilmetilamino	0,26 ± 0,17	0,19 ± 0,16	0,55 ± 0,35	0,11 ± 0,04	0,2 ± 0
Alilamino	0,14 ± 0,11	>100	>0,032		>0,032
1,Butilamino	4,08 ± 212	2,15 ± 213	2	2,3 ± 2,3	1,4 ± 0,85
2-Butilamino	3,2	1,97 ± 0,08	3	2,0 ± 0,2	3
2-Metilpropilamino	NA	>0,16	0,5	>0,16	0,3
Ciclopropilamino	0,11	0,11 ± 0,05	0,16	0,1 ± 0,03	0,16
Ciclopentilamino	2,62 ± 1,77	>0,8	2	>0,8	1,75 ± 0,35
Ciclohexilamino	0,26 ± 0,6	5,7 ± 4	20	4,8 ± 4	>20
Pirrolidino	0,75	1,88 ± 0,25	2,17	2 ± 0,3	1,65 ± 1,2
Piperidino	0,75 ± 0,6	3,0 ± 1,3	>4	3,0 ± 1,3	>4
Morfolino	3,4 ± 2,3	15 ± 0,2	>20	16 ± 0,3	>20
Bencilamino	1,5 ± 0,94	50 ± 12	>20	49 ± 21	>20
Fenetilamino	21,8 ± 7,5	9,9 ± 0,9	16 ± 5,7	11,9 ± 2,8	12,5 ± 3,5
Fenilamino	4,68 ± 0,79	56,3 ± 14,1	63,3 ± 32,1	35,1 ± 22,3	35 ± 7
α-Naftilamino	47,6 ± 33,1	90,0 ± 17,3	>100	68,5 ± 2,5	80 ± 28
2-Dimetilaminoetilamino	0,20 ± 0,02	3,25 ± 0,75	5,5 ± 2,1	2,39 ± 0,77	2 ± 0,7
3-Dimetilaminopropilamino	0,40 ± 0,07	6,12 ± 3,73	13,0 ± 6,6	7,03 ± 4,9	4 ± 0

Tabla 5

<b>Actividad antiretroviral de 9-(R)-(2-fosfonometoxipropil) purinas N6-sustituidas (derivadas de PMP)</b>					
6-Sustituyente	MSV	VHS-1		VIH-2	
		MT-4	CEM	MT-4	CEM
Amino	0,95 ± 0,23	1,91 ± 0,41		1,69 ± 0,35	
Etilmetilamino			5,5 ± 2,1		4
Alilamino			12 ± 2,8		12
Ciclopropilamino			10 ± 60		9,5 ± 3,5
2-Dimetilaminoetilamino			>4		>4
<b>derivados de 2,6-diaminopurina N6-sustituidos</b>					
Amino	0,073 ± 0,02	0,293 ± 0	-	0,236 ± 0,03	-
Dimetilamino	3,25 ± 1,44	2,3 ± 60,2	10	4,2 ± 2,8	9 ± 1,4
1-Butilamino	3,27 ± 1,3	13,1 ± 4,3	10	9,8 ± 4,9	10
2-Butilamino	3,5 ± 0,3	30 ± 19	>100	25 ± 15	>100
2-Metilpropilamino	22,7 ± 12,7	57,4 ± 17,8	5,5 ± 2,1	55,9 ± 14	5,5 ± 2,1
1-Pentilamino	5,14	37,4 ± 13	20	33,7 ± 5,8	15 ± 7,1
Ciclopropilamino	1,09 ± 0,24	4,15 ± 3	2	3,2 ± 1,6	2,5 ± 0,7
Ciclopentilamino	3,78 ± 0,08	3,4 ± 0,4	4,5 ± 3,5	5,8 ± 2,3	8,5 ± 2,1
Ciclohexilamino	1,4 ± 1,2	8,0 ± 2	20 ± 17	7 ± 2,6	13 ± 6
Pirrolidino	5,09 ± 1,65	36,9 ± 5,7	50 ± 14	47,7 ± 7	50

ES 2 392 840 T3

Piperidino	12,6 ± 10	>100	>100	>100	>100
Morfolino	6,1 ± 2,3	>100	>100	>100	>100
Bencilamino	0,3 ± 0,11	10,3 ± 1,4	11 ± 6	8 ± 2,9	12,5 ± 3,5
Furfurilamino	2 ± 1	10	7,0 ± 4,2	7,74 ± 1,33	6,0 ± 5,7
2-Dimetilaminoetilamino	0,77 ± 0,34	6,23 ± 4,48	7	4,65 ± 2,59	3,3 ± 1,1

Tabla 6

Compuesto	Actividad antiviral (mg/ml)						Inhibición de inmunostimulación	
	VHS-1	VHS-2	CMV AD169	CMV Davis	VVZ+ OKA	VVZ- 07/1	CE <sub>50</sub> (nM)	CE <sub>50</sub> (nM)
PMEDAP	2	0,2	10	10	1	3	0,23 ± 0,02	0,23
PME-6-BuNH-DAP	2	40	6	1,5	1,3	1,3		2,5
PME-6-(2-bu)NH-DAP	7	70	9	3	1,2	2	1,07 ± 0,20	1,07
PME-6-IsobuNH-DAP	2	7	0,8/1,1	1,2/2,4	0,16	0,32	0,24 ± 0,003	0,24
PME-6-alilNH-DAP	0,7	0,7	0,28/0,2	0,3/0,85	0,17	0,1	0,0098 ± 0,0011	0,01
PME-6-ciprNH-DAP	0,2	0,7	0,2	0,12	0,009	0,08	0,048 ± 0,001	0,048
PME-6-cihexNH-DAP	2	7	1	2,5	1	0,2	2,65 ± 0,11	2,65
PME-6-FenetNH-DAP	20	20	10	15	7	7	7,52 ± 0,34	7,52
PME-6-Me <sub>2</sub> NEtNH-DAP	7	2	0,2	0,3	0,03	0,02	0,35 ± 0,02	0,35
PME-6-Me <sub>2</sub> NPrNH-DAP	7	7	1,3	1	0,1	0,028	0,48 ± 0,14	0,48
PME-6-Me <sub>2</sub> N-DAP	0,07	0,7	0,2	0,1	0,04	0,01	0,43 ± 0,04	0,43
PME-6-Et, MeN-DAP	0,7	0,4	0,3	0,5	0,14	0,025	0,17 ± 0,02	0,17
PME-6-pirrol-DAP	2	10	2	0,9	0,2	0,85	0,42 ± 0,06	0,42
PME-6-pipN-DAP	0,7	7	0,9	1	1,4	0,2	0,46 ± 0,03	0,46
PMEA							0,72 ± 0,11	0,72
PME-alilNHPu	2	7	0,5	0,5	0,032	0,016	1,56 ± 0,13	1,56
PME-6-ciprNHPu	40	150	25	23	3,5	1,6		40
PME-Et <sub>2</sub> NPu	2	2	0,9	0,8	0,016	0,013	1,09 ± 0,07	1,09
PME-6-pirrolNHPu	20	70	12	12	0,25	0,24		25
PME-PipNHPu	20	70	15	11	0,3	0,2	23,60 ± 1,55	23,6
BisPOM-PMEA							0,0020 ± 0,0004	0,002

Tabla 7

Compuesto	Actividad antiviral (mg/ml)						Inhibición de inmunostimulación	
	VHS-1	VHS-2	CMV AD169	CMV Davis	VVZ+ OKA	VVZ- 07/1	CE <sub>50</sub> (nM)	CE <sub>50</sub> (nM)
PMEMAP	70	>400	>100	>100	60	27	10,16 ± 0,24	10,16
(R)-PMPDAP	300	70	NA	NA	NA	NA	8,00 ± 0,24	8
(R)-PMP-6-ciprNH-DAP	150	>400	>50	>50	15	37	17,90 ± 1,12	17,9

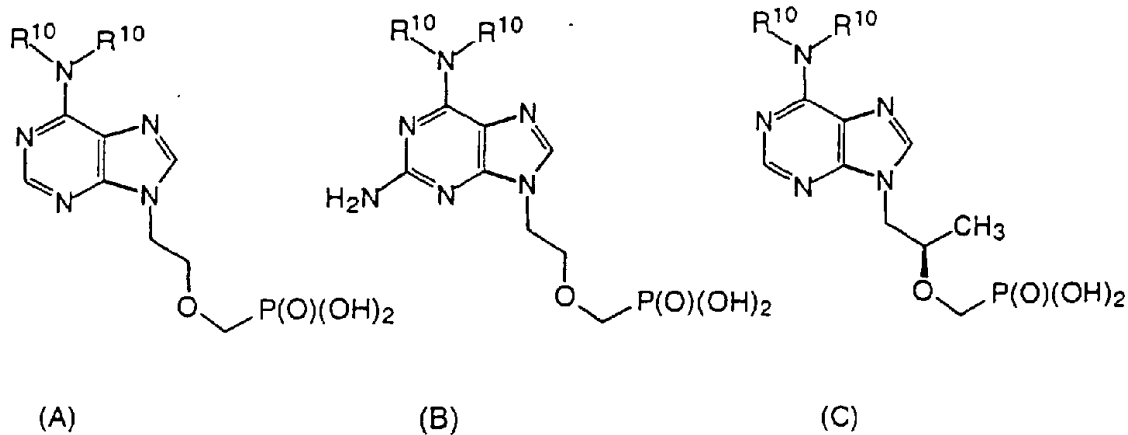
(R)-PMP-6-Me2NEtNHDAP	7	2	0,37	0,8	0,026	0,004	0,38 ± 0,02	0,38
(R)-PMP-6-BuNHDAP	70	> 100	>50	>50	35	20	81,3 ± 3,89	81,3
(R)-PMP-CiprNHPu	2	2	0,6	0,35	0,009	0,004	0,74 ± 0,07	0,74
(R)-PMP-aliiNHPu	2	2	0,9	0,8	0,016	0,011	1,26 ± 0,09	1,26
(R)-PMP-6-iBuNHPu	4	20	3,6	3,6	0,021	0,083		10
(R)-PMP-6-pirrolNpu	7	400	7,2	9	0,151	0,106		8
(R)-PMP-6-Et2N-Pu	7	20	3,3	3,6	0,045	0,107		13
(R)-PMP-6-Me2N-Pu	2	20	0,9	0,9	0,006	0,02		2,2
(R)-PMP-EtMeNpu	0,7	2	0,13	0,28	0,007	0,005	0,51 ± 0,09	0,51
(R)-PMP-Me2EtNpu	2	7	1,1	1	0,038	0,022	1,31 ± 0,19	1,31
(S)-PMPA	NA	NA	>100	>100	>40	>40	496 ± 15,6	496
(S)-PMP-DAP	150	70	NA	NA	20	25		5
(S)-PMP-6-aliiNH-DAP	7	20	6	7	0,026	0,12		7
(S)-PMP-6-ciprNH-DAP	2	2	1,3	0,92	0,007	0,014		1,7
(S)-PMP-6-Me2N-DAP	0,7	2	1,2	0,9	0,01	0,026		2
(S)-PMP-6-pirrolN-DAP	20	20	5	5	0,05	0,24		15

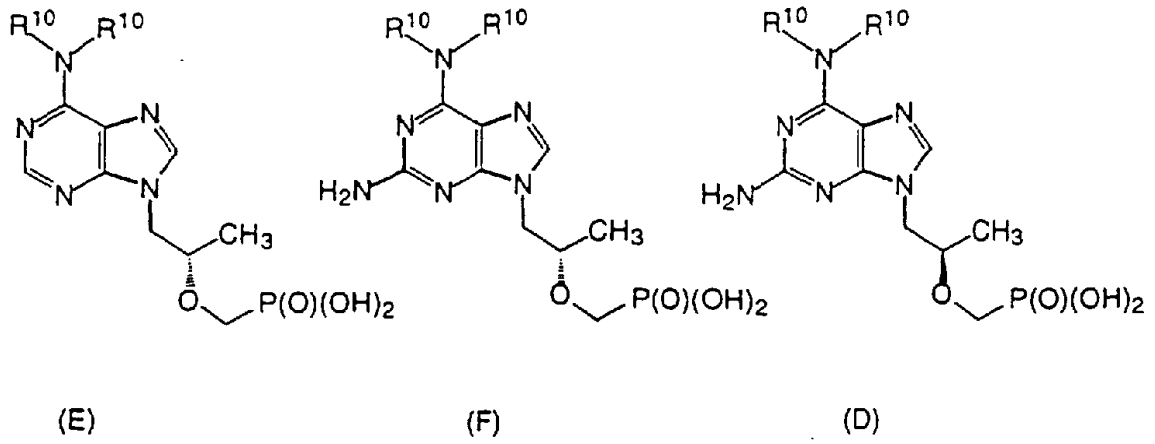
Tabla 8

VALORES MEDIOS ESTADÍSTICOS DE SUPRESIÓN DE LA ACTIVIDAD INMUNOESTIMULADORA EN DIVERSOS GRUPOS ESTRUCTURALES DE ANÁLOGOS DE NUCLEÓTIDO ACÍCLICOS

GRUPO ESTRUCTURAL	n	CE <sub>50</sub> (nM)	A
A	6	15,34 ± 10,1	0,72-40
B	13	0,70 ± 0,56	0,008-2,6
C	8	4,63 ± 3,08	0,5-13
D	4	26,9 ± 21,3	0,38-81
F	5	6,14 ± 3,23	1,75-15

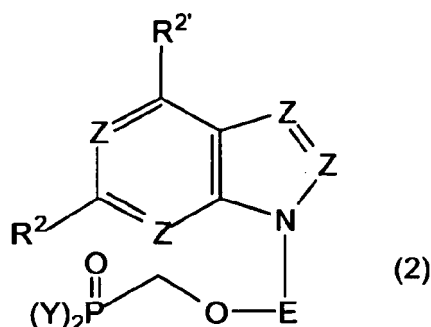
5





## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura (2)



5

en la que:

10 Y es, independientemente, -OH, -OR<sup>3</sup>, -OCH(R<sup>16</sup>)OC(O)R<sup>3</sup>, un monofosfato, un difosfato, un amidato de aminoácido, un amidato de polipéptido, -NHR<sup>3</sup>, o -N(R<sup>3</sup>)<sub>2</sub>;

15 R<sup>3</sup> es, independientemente, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>, arilo, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alcarilo, alquilarilo o alquenilarilo; estando dichos grupos no sustituidos o sustituidos con alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, carboxilalquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> éster, halo, carboxi, hidroxilo, ciano, nitro, N-morfolino, o amino; y/o dichos grupos que tienen -CH<sub>2</sub>- sustituido con NH, S, u O;

15

R<sup>2</sup> y R<sup>2'</sup> son, independientemente, halo, NH<sub>2</sub>, X o H, pero al menos uno de R<sup>2</sup> y R<sup>2'</sup> es X;

R<sup>16</sup> es H o R<sup>3</sup>; y

20 X es -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>(O)<sub>n</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>N(R<sup>10</sup>)<sub>2</sub> en la que m es 0-2, n es 0-1, y R<sup>10</sup> independientemente es:

- H, o

25

- ciclopropilo, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, o alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o

- alquilo C<sub>2</sub>-C<sub>15</sub>, alquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>, alquinilo C<sub>3</sub>-C<sub>15</sub>, alquil C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> amino-alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo C<sub>6</sub>-C<sub>15</sub>, o heterocicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, en los que el metileno en el resto alquilo no adyacente a N<sup>6</sup> se ha reemplazado por -O-,

30 opcionalmente uno de los grupos R<sup>10</sup> anteriores está sustituido con 1 a 3 halo, CN o N<sub>3</sub>; pero al menos un grupo R<sup>10</sup> no es H; y

Z es N o CH, con la condición de que el núcleo heterocíclico varíe de purina en no más de un Z;

35 E es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>F)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>O)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH=CH<sub>2</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(C≡CH)CH<sub>2</sub>-, -CH(CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>-, -CH(R<sup>6</sup>)OCH(R<sup>6</sup>)-, -CH(R<sup>9</sup>)CH<sub>2</sub>O- o -CH(R<sup>8</sup>)O-, en las que el enlace a mano derecha está unido a la posición 9 de la purina, monoazapurina o heterociclo monodesazapurina y en la que Y y el grupo hidroxilo de -CH(CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>-, o un grupo hidroxilo presente en R<sup>6</sup>, R<sup>8</sup>, o R<sup>9</sup> se unen para formar un anillo de 6 miembros;

40 R<sup>6</sup> y R<sup>6</sup> son independientemente H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alcanóilo C<sub>2</sub>-C<sub>7</sub>;

R<sup>8</sup> es H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sup>9</sup> es H, hidroximetilo o aciloximetilo; y

45 las sales terapéuticamente aceptables de los mismos;

con la condición de que, cuando E es -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>- y R<sup>2</sup> es NH<sub>2</sub>, entonces X no es ciclopropilamino.

50 2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que al menos un Y es OR<sup>3</sup> y R<sup>3</sup> es arilo, orto-(alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> arilo), -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>C(O)O (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), o -OCH<sub>2</sub>OC(O) (alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o arilo).

3. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la configuración (R) en el átomo de carbono quiral E.

4. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la configuración (S) en el átomo de carbono quiral E.

5. El compuesto de la reivindicación 1 en el que  $R^{10}$  es alquínilo o alquénilo  $C_3-C_8$  que no está sustituido o está sustituido con 1 a 3 halo, CN o  $N_3$ .
- 5 6. El compuesto de la reivindicación 1 en el que  $R^{10}$  es  $-CH_2CH=CH_2$ ,  $-CH(CH_3)CH=CH_2$ ,  $-CH_2C(CH_3)=CH_2$ , o  $-CH_2CH=CH(CH_3)$ .
7. El compuesto de la reivindicación 1 en el que un grupo  $R^{10}$  no es H.
- 10 8. El compuesto de la reivindicación 1 en el que ambos grupos  $R^{10}$  no son H.
9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en el tratamiento de infecciones virales.
- 15 10. Un compuesto de la reivindicación 9 en el que la infección viral es VHS-1, VHS-2, CMV, VVZ, virus vacuna, o VHH-6.