

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 209**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/6561** (2006.01)

**A61K 31/675** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.02.2009 E 11151008 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014 EP 2308885**

54 Título: **Compuestos novedosos y métodos para terapia**

30 Prioridad:

**20.02.2008 US 30148 P**

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

**18.02.2015**

73 Titular/es:

**GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)**  
**333 Lakeside Drive**  
**Foster City, CA 94404, US**

72 Inventor/es:

**BIRKUS, GABRIEL;**  
**RAY, ADRIAN S.;**  
**TUMAS, DANIEL y**  
**WATKINS, WILLIAM J.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 529 209 T3**

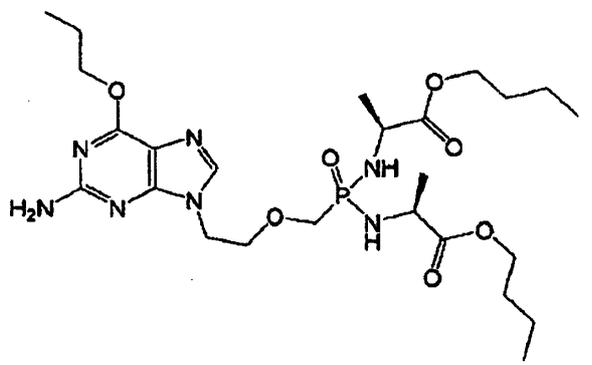
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Compuestos novedosos y métodos para terapia

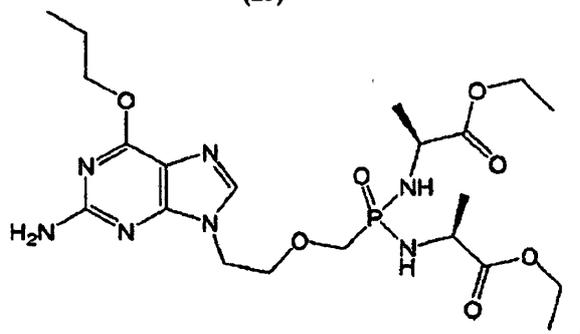
- 5 Se desvelan grupos fosfonato que contienen análogos de nucleótido, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos 4.659.825, 4.808.716, 4.724.233, 5.142.051, 5.302.585, 5.208.221, 5.352.786, 5.356.886, 5.663.159, 5.977.061 y 05459256, en las publicaciones EP número EP 421.819, 434.450, 481.214, 468.119, 269.947, 481.214, 630.381, 369.409, 454.427, 618.214 y 398.231 y en los documentos WO 95/07920, 27002808A1, 09526734A1, 94/03467, 94/03467, 95/07920, 07/002912, 05/066189, 02/08241 y 94/03467, CN 101066981, Daluge et al. (34th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Oct. 4-7, 1994), Cihlar et al., "Antimicrobial Agents and Chemotherapy" 39(1): 117-124 (1995) y Holy et al., "ACS Symp. Ser." 401: 57-71 (1989) y Holy, "Kem. Ind." 38(10): 457-462 (1989), Naessens et al., "Biochem. Pharmacol.", 15 de julio de 1999; 58(2): 311-23, Valerianova et al. "Anticancer Res." 2001 Mayo-Junio; 21(3B): 2057-64, Parker WB, Shaddix SC, Rose LM, Pham PT, Hua M, Vince R Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. Abr. 2000; 19(4): 795-804, Daluge SM, Good SS, Faletto MB, Miller WH, St Clair MH, Boone LR, Tisdale M, Parry NR, Reardon JE, Dornsife RE, Averett DR, Krenitsky TA. Antimicrob Agents Chemother. Mayo 1997; 41(5): 1082-1093, y el documento WO2007/136650.

Esta invención se refiere a compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en:

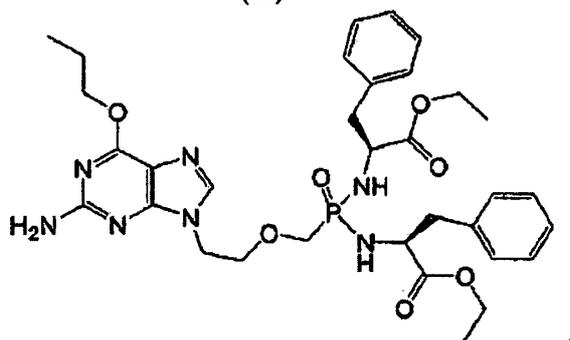


(13)

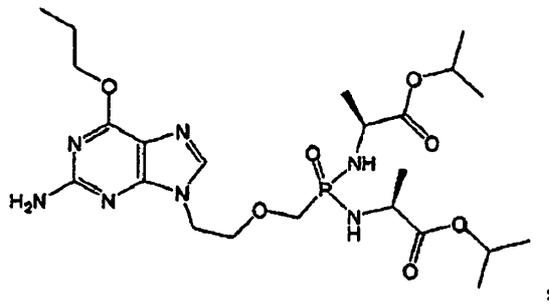
20



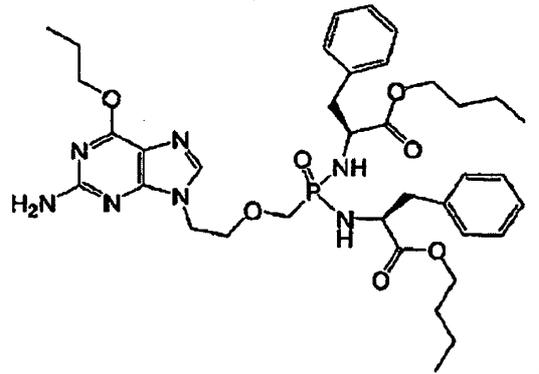
(14)



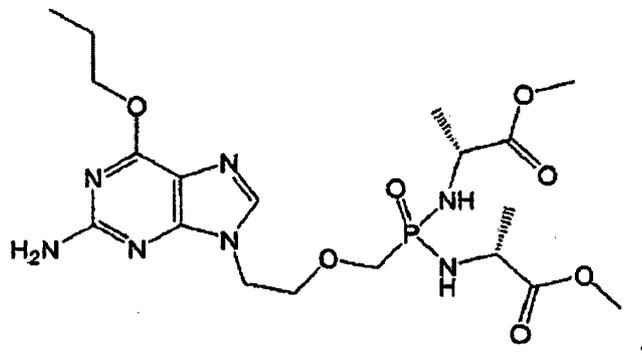
(15)



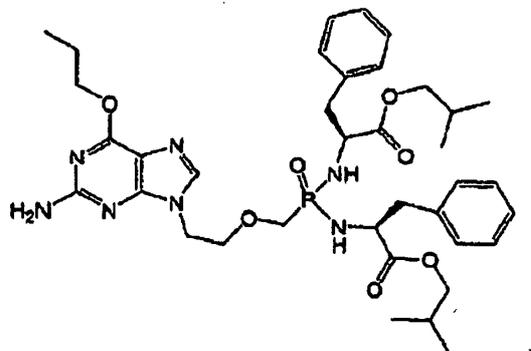
(16)



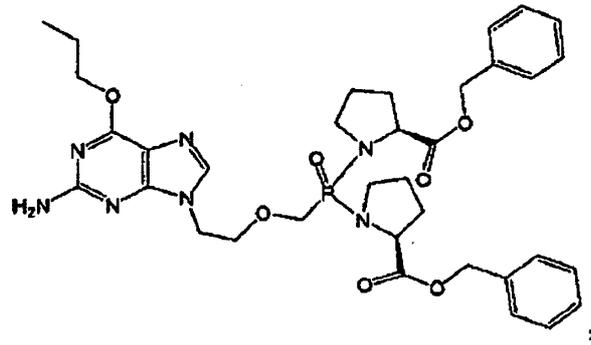
(17)



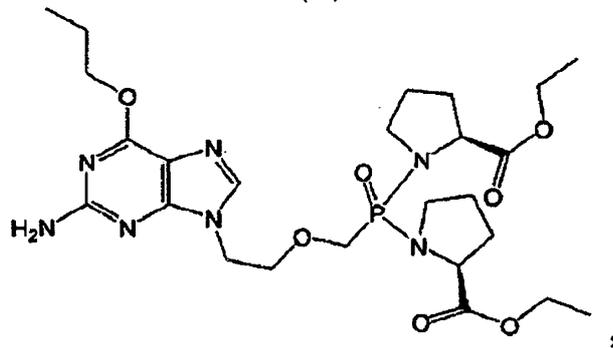
(18)



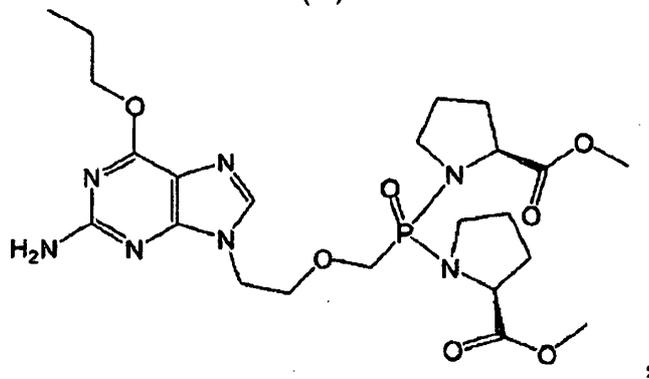
(19)



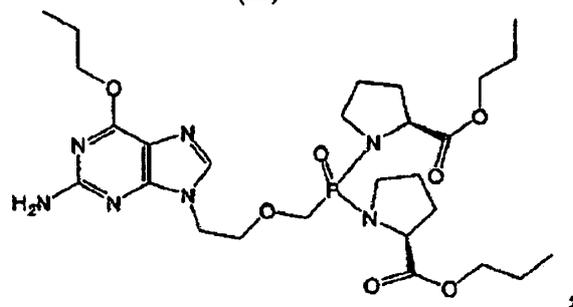
(20)



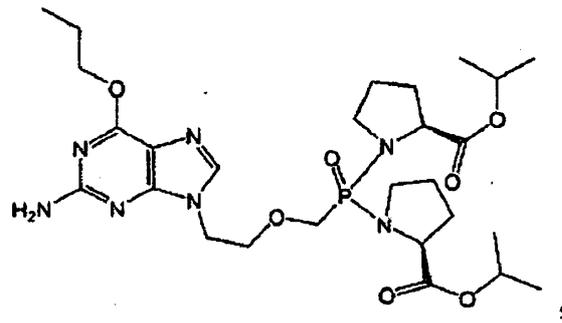
(21)



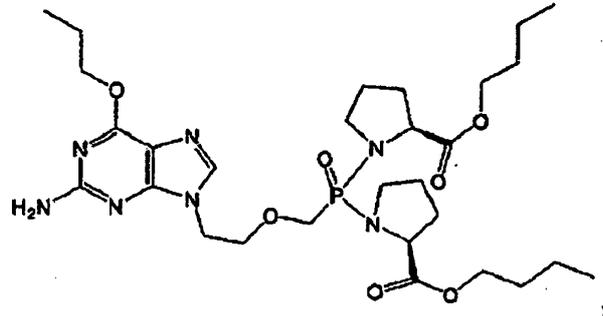
(22)



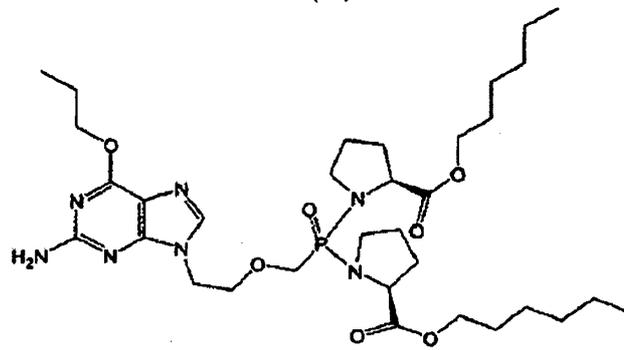
(23)



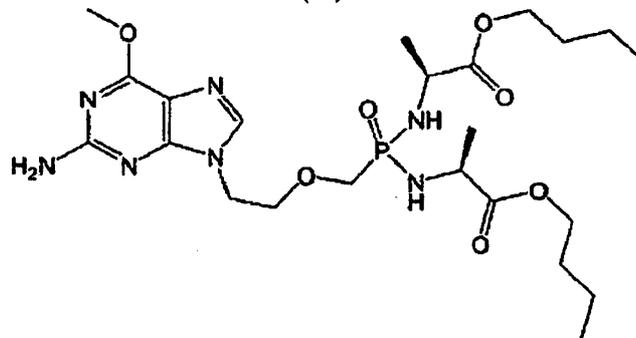
(24)



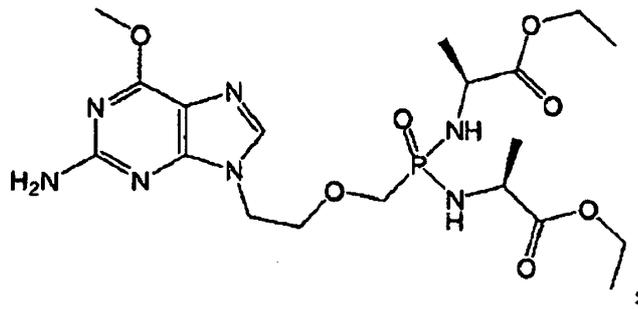
(25)



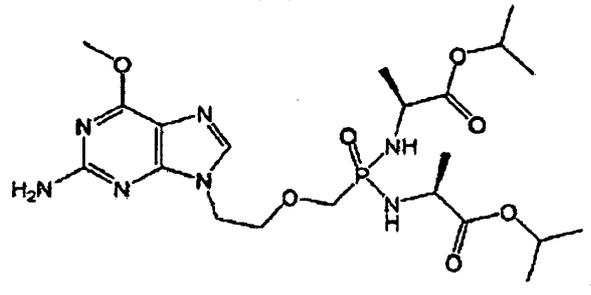
(26)



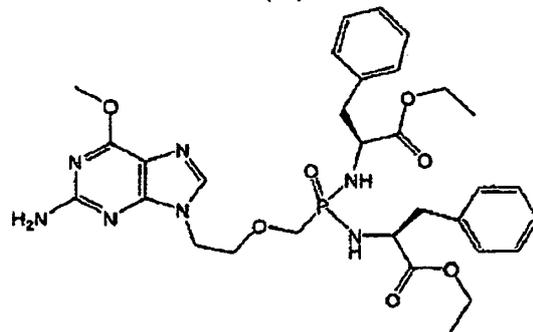
(27)



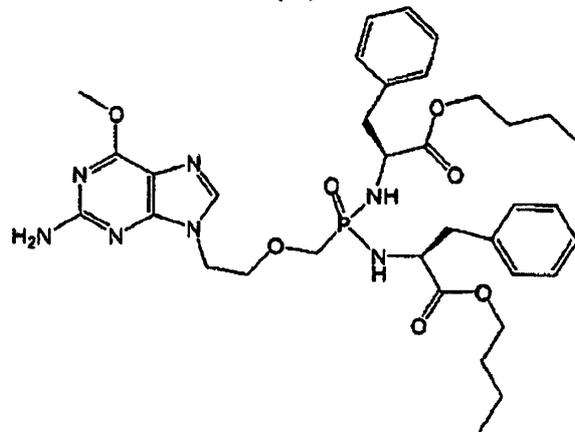
(28)



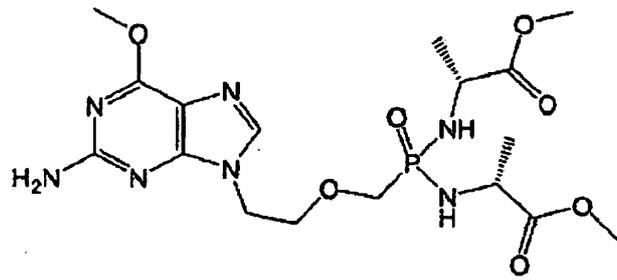
(29)



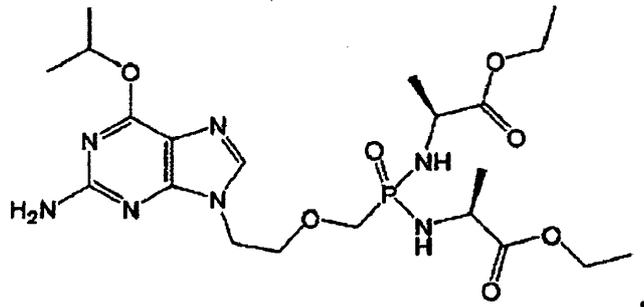
(30)



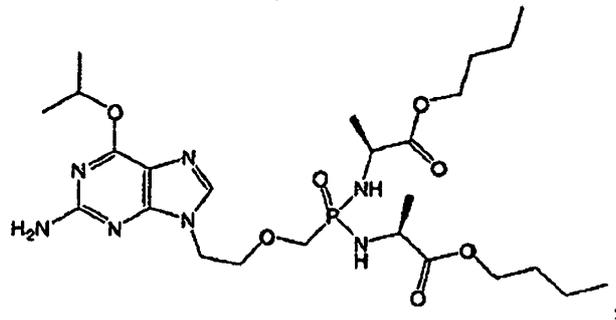
(31)



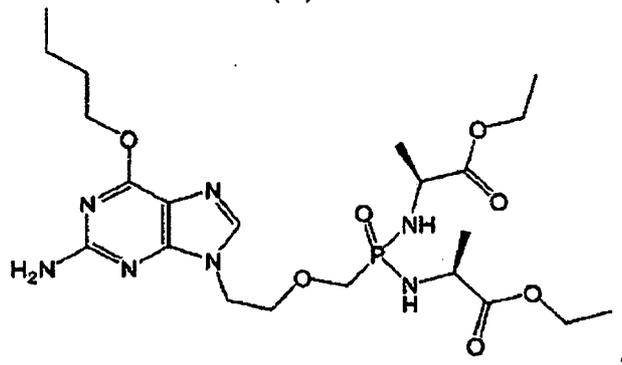
(32)



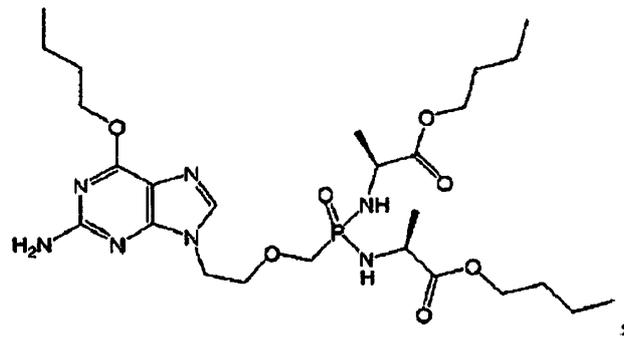
(33)



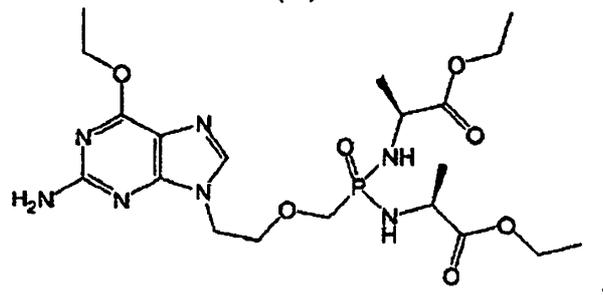
(34)



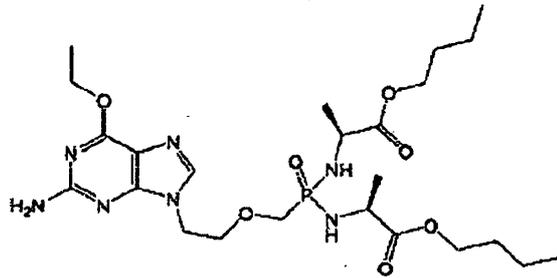
(35)



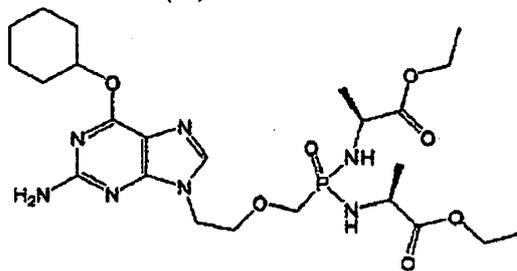
(36)



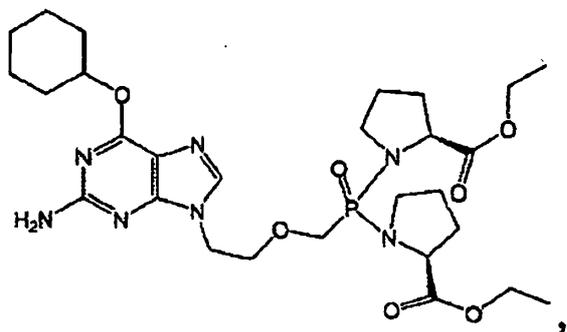
(37)



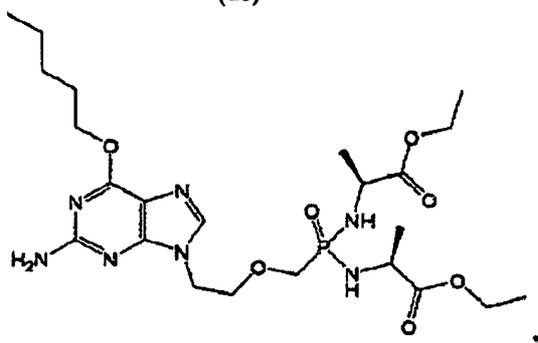
(38)



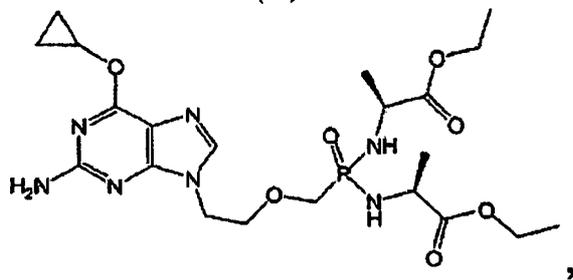
(39)



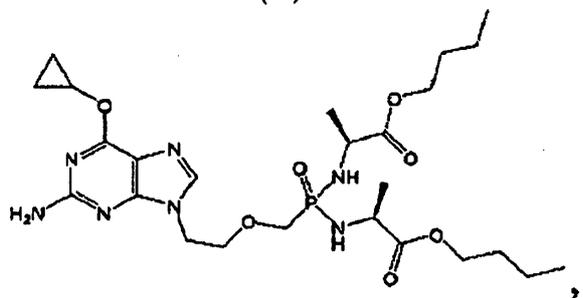
(40)



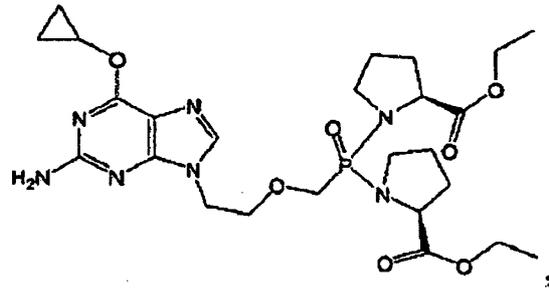
(41)



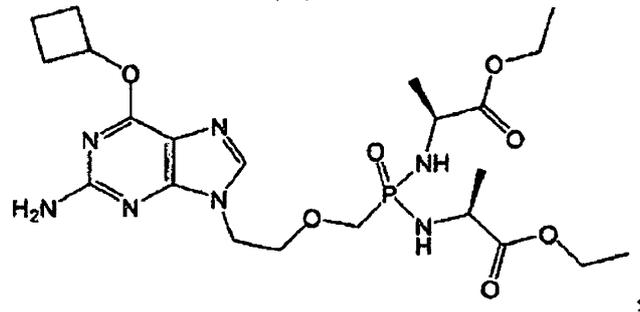
(42)



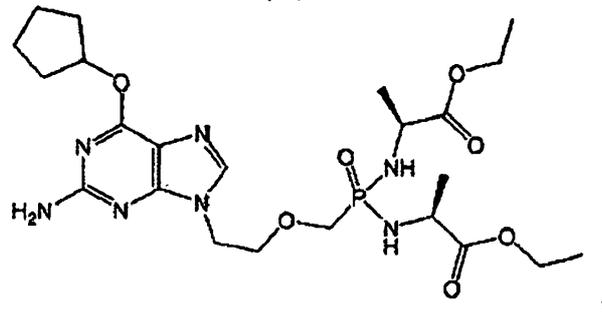
(43)



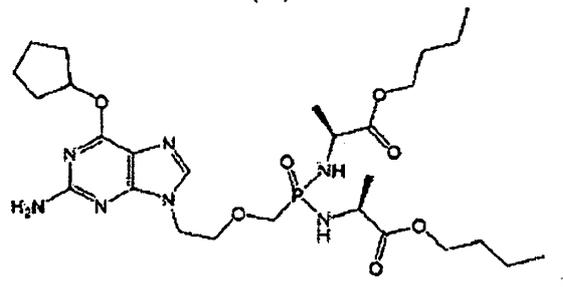
(44)



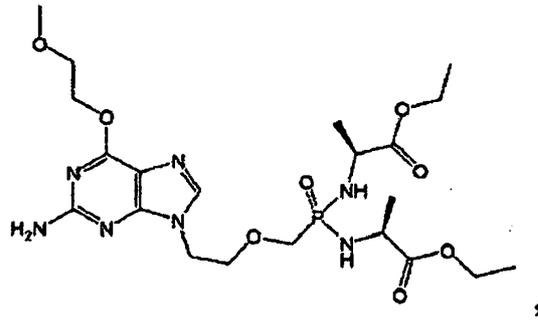
(45)



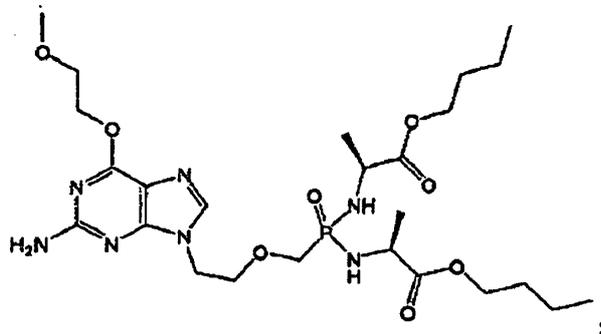
(46)



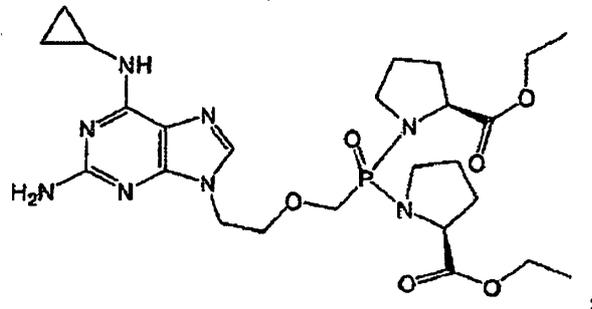
(47)



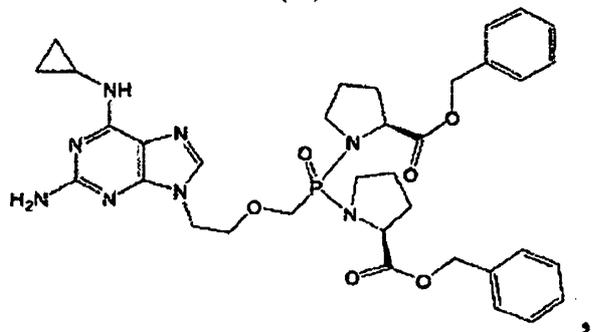
(48)



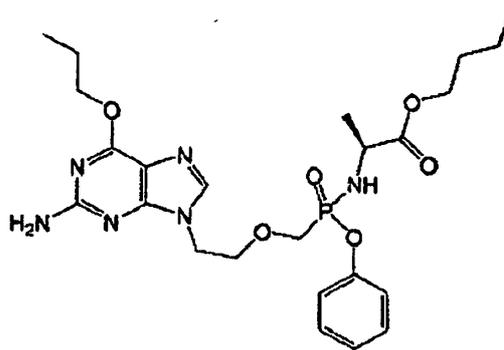
(49)



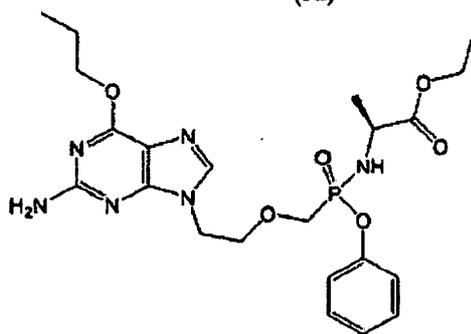
(50)



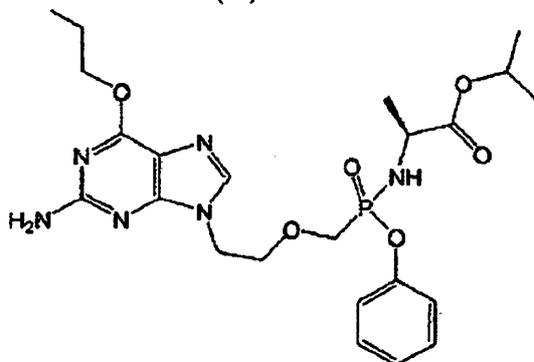
(51)



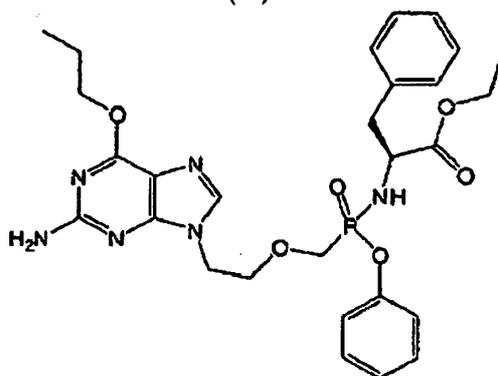
(52)



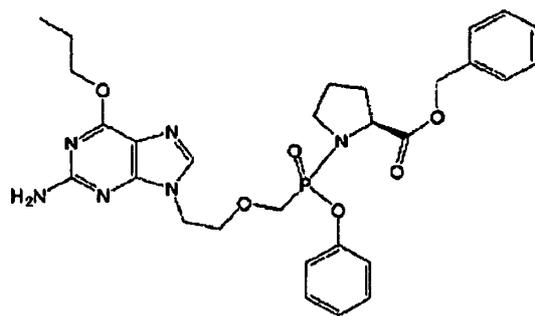
(53)



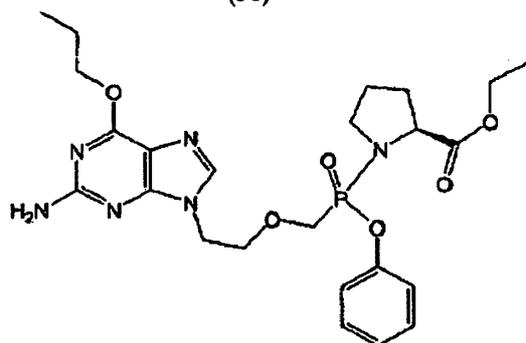
(54)



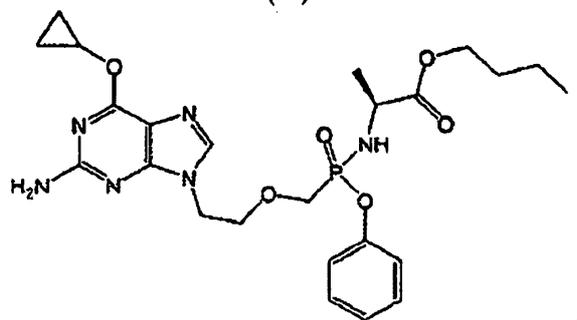
(55)



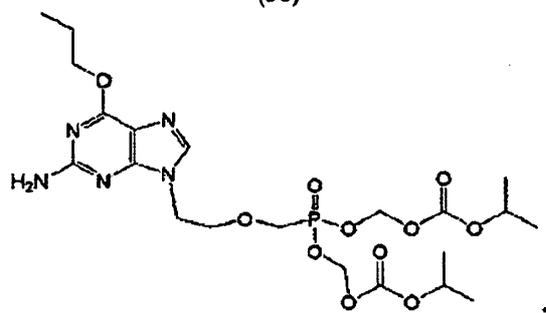
(56)



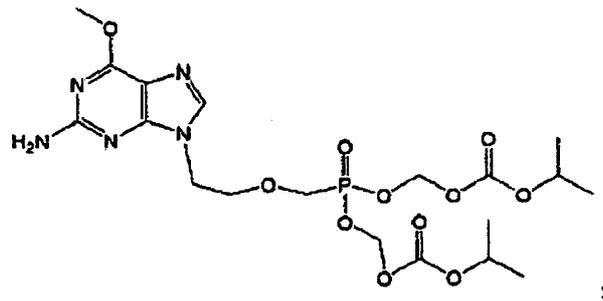
(57)



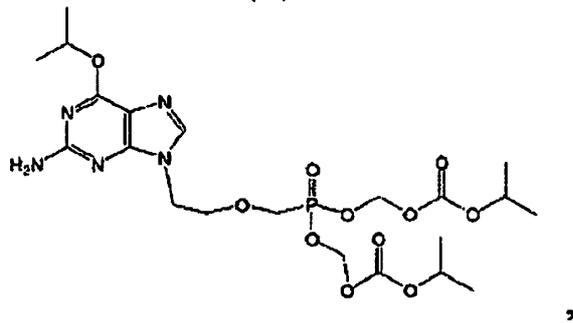
(58)



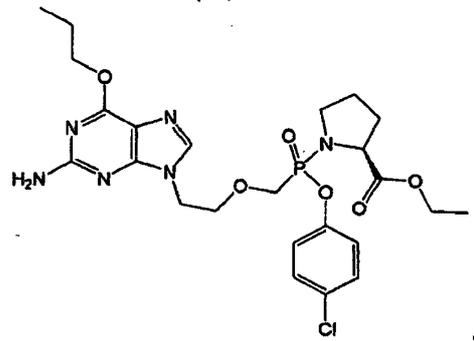
(59)



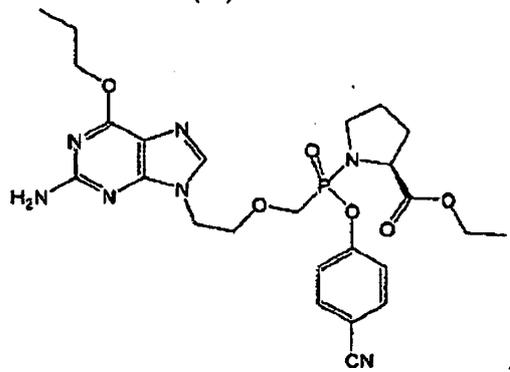
(60)



(61)



(62)



(63)

5

o una sal farmacéuticamente aceptable, o isómero óptico enriquecido de los mismos.

Otras realizaciones de la invención incluyen compuestos de la invención junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, el uso de dicho compuesto en el tratamiento de tumores malignos o para la profilaxis o terapia de infecciones víricas, y la combinación del compuesto (1) con otros agentes antivirales o antitumorales.

5 La presente invención proporciona los compuestos de la invención, composiciones farmacéuticas que emplean dichos compuestos y métodos de uso de dichos compuestos. Con fines de interpretar esta memoria descriptiva, se aplicaran las siguientes definiciones y cuando corresponda, los términos usados en singular también incluirán el plural y viceversa.

10 Como se usa en el presente documento, y a menos que se modifique por el contexto inmediato:

Alquilo se refiere a hidrocarburos saturados ramificados, normales o cíclicos C<sub>1</sub>-C<sub>15</sub>. Preferiblemente, el alquilo comprende de 1 a 8 átomos de carbono, o de 1 a 6 átomos de carbono, o de 1 a 4.

15 Isómero se refiere a compuestos diferentes que tienen la misma fórmula molecular. Además, como se usa en el presente documento, la expresión "un isómero óptico" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención e incluye isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente puede unirse en un centro quiral de un átomo de carbono. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros o racematos del compuesto. Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se usa para designar una mezcla racémica cuando sea apropiado. Los "diastereoisómeros" son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta se especifica de acuerdo con el sistema Cahn-Ingold-Prelog R-S. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede especificarse por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta es desconocida, pueden designarse (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro- o levorrotatoria) en la que giran la luz paralela en la longitud de onda de la línea D de sodio. Algunos de los compuestos descritos en el presente documento contienen uno o más centros asimétricos y, por lo tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas de estereoisómeros que pueden definirse, en cuando a la estereoquímica absoluta, como (R) o (S). La presente invención pretende incluir todos estos isómeros posibles, incluyendo mezclas racémicas, formas opcionalmente puras y mezclas de intermedios. Los isómeros ópticamente activos (R) y (S) pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede ser de configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. Pretenden incluirse todas las formas tautoméricas.

35 Como se usa en el presente documento, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales de ácidos y/o de bases en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupo similares a los mismos (por ejemplo, fenol o ácido hidroxámico). Pueden formarse sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales pueden obtenerse las sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los cuales pueden obtenerse las sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinnámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, y similares. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las cuales pueden obtenerse las sales incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares; se prefieren particularmente las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las cuales pueden obtenerse las sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico, y similares, específicamente, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina y etanolamina. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir de un precursor, un resto básico o ácido, mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato de Na, Ca, Mg o K o similares), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Dichas reacciones se realizan normalmente en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo, cuando sea posible. Pueden encontrarse listas de sales adecuadas adicionales, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 20<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985), que se incorpora en el presente documento por referencia.

65 Un portador farmacéuticamente aceptable incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizantes

de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes endulzantes, agentes aromatizantes, colorantes, materiales similares y sus combinaciones, como los conocería una persona normalmente experta en la materia (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences 18<sup>a</sup> Ed. Mack Printing Company, 1990, pp 1289-1329, incorporado en el presente documento por referencia). Excepto en la medida que cualquier portador convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

Tal como se usa en el presente documento, el término "portador/excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardantes de la absorción, sales, conservantes, fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, agentes endulzantes, agentes aromatizantes, colorantes, materiales similares y sus combinaciones, tal como los conocería una persona normalmente experta en la técnica (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>a</sup> Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329, incorporado en el presente documento por referencia). Excepto en la medida que cualquier portador convencional sea compatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que estimulará la respuesta biológica o médica de un sujeto, o mejorará los síntomas, ralentizará o retrasará la progresión de la enfermedad, o evitará una enfermedad, etc. En una realización, la "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad que inhibe o reduce la proliferación de células cancerosas, o que inhibe o reduce el crecimiento tumoral/canceroso *in vitro* o *in vivo*, o que inhibe o reduce una enfermedad neoplásica en un sujeto tal como un mamífero. En otra realización preferida, se refiere también a la cantidad que reduce el tamaño del tumor/cáncer, inhibe la infiltración de células cancerosas en los órganos periféricos, retrasa o detiene la metástasis tumoral, o alivia al menos en alguna extensión uno o más síntomas asociados con el tumor o el cáncer, etc.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Preferentemente, el animal es un mamífero. Un sujeto se refiere también por ejemplo a primates, (por ejemplo, seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, pájaros, y similares. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

Tal como se usa en el presente documento, el término "un trastorno" o una "enfermedad" se refiere a cualquier desarreglo o anomalía de función, un estado físico o mental mórbido. Véase Dorland's Illustrated Medical Dictionary (W.B. Saunders Co 27<sup>a</sup> ed. 1988).

Tal como se usa en el presente documento, el término "inhibición" o "inhibir" se refiere a la reducción o supresión de una dolencia, síntoma, o enfermedad dados, o una disminución significativa en la actividad del valor inicial de una actividad o proceso biológico. En una realización, esto se refiere a la capacidad de producir la reducción del crecimiento tumoral o canceroso, o la reducción del tamaño del tumor o del cáncer.

Tal como se usa en el presente documento, el término "tratar" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización, para mejorar la enfermedad o trastorno, (es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización "tratar" o "tratamiento" se refiere a mejorar al menos un parámetro físico, lo que puede no ser discernible por el paciente. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, tanto físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente, (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, tanto físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización más, "tratar" o "tratamiento" se refieren a evitar o ralentizar el comienzo o el desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno.

Como se usa en el presente documento, los términos "un", "una", "el", "la" y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) pretenden incluir tanto el singular como el plural a menos que se indique otra cosa en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. La citación de intervalos de valores en el presente documento pretende servir simplemente como un método taquigráfico para hacer referencia de forma individual a cada valor por separado que está dentro del intervalo. A menos que se indique otra cosa en el presente documento, cada valor individual se incorpora en la memoria descriptiva como si se citara de forma individual en el presente documento. Todos los métodos descritos pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique otra cosa en el presente documento o por el contrario se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o un lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tal como") proporcionado en el presente documento, pretende simplemente iluminar mejor la invención y no supone una limitación del alcance de la invención reivindicada de otro modo. Ningún lenguaje de la memoria descriptiva debe interpretarse como indicativo de cualquier elemento no reivindicado esencial para la práctica de la invención.

Cualquier átomo de carbono asimétrico en los compuestos de la presente invención puede estar presente en la configuración (R), (S) o (RS), preferiblemente en la configuración (R) o (S). Si es posible, los sustituyentes en átomos con enlaces insaturados pueden estar presentes en la forma cis (Z) o trans (E). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de uno de los isómeros posibles o mezclas de los mismos, por ejemplo, como isómeros geométricos sustancialmente puros (cis o trans), diastereómeros, isómeros ópticos (antípodos), racematos o mezclas de los mismos.

Cualquier mezcla resultante de isómeros puede separarse basándose en las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros puros geométricos u ópticos, diastereómeros, racematos, por ejemplo, por cromatografía y/o cristalización fraccional.

Cualquier racemato resultante de los productos o intermedios finales puede resolverse en las antípodos ópticas mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activos, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, por lo tanto, el resto de hidroxamida o sulfonamida puede emplearse para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodos ópticas, por ejemplo, mediante cristalización fraccional de un complejo metálico (por ejemplo,  $Zn^{2+}$ ) formado por un co-ligando ópticamente activo, por ejemplo, L- o D-histidina. Los productos racémicos también pueden resolverse por cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando un adsorbente quiral.

Finalmente, los compuestos de la presente invención se obtienen en la forma libre, como una sal de los mismos.

Cuando un grupo básico está presente en los compuestos de la presente invención (tal como en un grupo de sustituyentes), los compuestos pueden convertirse en sales de adición de ácidos de los mismos, preferiblemente sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Estas pueden formarse con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, un ácido fosfórico o hidrohálico. Los ácidos orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ácidos carboxílicos, tales como ácidos alcanocarboxílicos ( $C_1$ - $C_4$ ) que, por ejemplo, están sin sustituir o sustituidos con halógeno, por ejemplo, ácido acético, tales como ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo, ácido oxálico, succínico, maleico o fumárico, tales como ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo, ácido glicólico, láctico, málico, tartárico o cítrico, tales como aminoácidos, por ejemplo, ácido aspártico o glutámico, ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos alquilsulfónicos ( $C_1$ - $C_4$ ), por ejemplo, ácido metanosulfónico, o ácidos arilsulfónicos que están sin sustituir o sustituidos, por ejemplo, con halógeno. Las sales preferidas se forman con ácido clorhídrico, ácido metanosulfónico y ácido maleico.

Cuando un grupo ácido está presente en los compuestos de la presente invención, los compuestos pueden convertirse en sales con bases farmacéuticamente aceptables. Dichas sales incluyen sales de metales alcalinos, como sales sódicas, de litio y potásicas; sales de metales alcalinotérreos, tales como sales cálcicas y magnésicas; sales de amonio con bases orgánicas, por ejemplo, sales trimetilamina, sales dietilamina, sales *tris*(hidroximetil)metilamina, sales dicitlohexilamina y sales N-metil-D-glucamina; sales con aminoácidos, tales como arginina, lisina y similares. Las sales pueden formarse usando métodos convencionales, ventajosamente en presencia de un disolvente etéreo o alcohólico, tal como alcohol inferior. A partir de las soluciones de las últimas, las sales pueden precipitarse con éteres dietílicos, por ejemplo, éter dietílico. Las sales resultantes pueden convertirse en los compuestos libres por tratamiento con ácidos. También pueden usarse estas u otras sales para la purificación de los compuestos obtenidos.

Cuando está presente tanto un grupo básico y un grupo de ácido en la misma molécula, los compuestos de la presente invención también pueden formar sales internas.

Además, los compuestos de la presente invención, que incluyen sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o incluyen otros disolventes usados para su cristalización.

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

Y normalmente será un grupo de estructura II. Entonces, el otro Y es opcionalmente  $OR^3$ . También es opcionalmente otro aminoácido no protilo o éster de aminoácido o amida de aminoácido. Cuando Y es un aminoácido (incluyendo la estructura II, que es un residuo de prolina) el grupo carboxilo aminoácido generalmente se esterifica. También es opcionalmente una amida (donde  $OR^4$  es amino o amino sustituido con  $R^{10}$ ). El éster de aminoácido o el grupo el éster del grupo Y normalmente es  $R^3$ . Los ésteres aminoácidos son normalmente alquilo  $C_1$ - $C_6$ , mientras que los grupos Y como ésteres son normalmente fenilo.

Los compuestos de la presente invención son útiles para inhibir el crecimiento de células tumorales/cancerosas o la proliferación celular en células tumorales/cancerosas, ralentizando la progresión del ciclo celular en las células tumorales/cancerosas. Además, los compuestos de la presente invención inducen la apoptosis. Se ha utilizado la

inducción de la apoptosis como una solución importante de quimioterapia en el tratamiento del cáncer/tumor. De acuerdo con ello, los compuestos de la presente invención tienen propiedades farmacéuticas valiosas, y pueden ser útiles como agentes antiproliferación y antitumorales/antineoplásicos.

5 Por tanto, en un aspecto, los compuestos de la presente invención se pueden usar para inhibir la proliferación celular *in vitro* e *in vivo*. En una realización, los compuestos se pueden usar para inhibir la proliferación celular en una célula tumoral/cancerosa poniendo en contacto la célula tumoral/cancerosa con una cantidad eficaz de dichos compuestos. En una realización, los compuestos de la presente invención se pueden usar para tratar las enfermedades o dolencias relacionadas con la proliferación celular. Dichas enfermedades pueden incluir, pero no se limitan a, cáncer, enfermedad autoinmune, trastornos fúngicos, artritis, rechazo al injerto, enfermedad inflamatoria del intestino, proliferación inducida tras procedimientos médicos, incluyendo, pero sin limitarse a, cirugía, angioplastia, y similares.

15 En otro aspecto, los compuestos de la presente invención se pueden usar para inhibir el crecimiento tumoral/canceroso *in vitro* e *in vivo*. En una realización, los compuestos se pueden usar para inhibir el crecimiento de células tumorales/cancerosas poniendo en contacto la célula tumoral/cancerosa con una cantidad eficaz de dichos compuestos. En una realización, la invención proporciona los compuestos de la invención para su uso en un método para inhibir el crecimiento tumoral o canceroso. Los tumores o cánceres que son tratables de acuerdo con los métodos incluyen, por ejemplo, neoplasias hematológicas tales como leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia granulocítica crónica, leucemia granulocítica aguda, leucemia mielógena aguda, leucemia mielógena crónica, leucemia de células pilosas y similares, tumores o cánceres localizados en la mama, pulmón, tiroides, ganglios linfáticos, sistema genitourinario, riñón, uretra, vejiga, ovario, testículos, próstata, sistema musculoesquelético, hueso, músculo esquelético, médula ósea, tracto gastrointestinal, estómago, esófago, intestino delgado, colon, recto, páncreas, hígado, músculo liso, sistema nervioso central o periférico, cerebro, médula espinal, nervios, cabeza, cuello, oído, ojo, nasofaringe, orofaringe, glándula salival, sistema cardiovascular, cavidad oral, lengua, laringe, hipofaringe, tejidos blandos, piel, cuello de útero, retina, y/o corazón de un mamífero.

25 En una realización, la invención proporciona un método de uso de los compuestos de la invención para su uso en un método para tratar una enfermedad neoplásica, o un tumor/cáncer. Tal como se usa en el presente documento, el término "enfermedad neoplásica" se refiere a cualquier crecimiento anómalo de células o tejidos que es tanto benigno (no canceroso) como maligno (canceroso). Las enfermedades neoplásicas que son tratables de acuerdo con los métodos de la invención incluyen, por ejemplo, neoplasmas de leucemia mielógena aguda, leucemia linfocítica crónica, leucemia mielógena crónica, linfoma cutáneo de linfocitos T, leucemia de células pilosas y linfoma no Hodgkin.

35 Los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de cánceres o tumores incluyendo displasias tales como displasia uterina). Estas incluyen neoplasias hematológicas, carcinomas orales (por ejemplo, de labios, lengua o faringe), órganos digestivos (por ejemplo, esófago, estómago, intestino delgado, colon, intestino grueso, o recto), hígado y pasos biliares, páncreas, sistema respiratorio tal como laringe o pulmón (microcítico y no microcítico), hueso, tejido conectivo, piel (por ejemplo, melanoma), mama, órganos reproductores (útero, cuello de útero, testículos, ovario, o próstata), tracto urinario (por ejemplo, vejiga o riñón), cerebro y glándulas endocrinas tales como el tiroides. En resumen, los compuestos de la presente invención se emplean para tratar cualquier neoplasma, incluyendo no solo las neoplasias hematológicas si no también los tumores sólidos de todos los tipos.

45 Las neoplasias hematológicas están ampliamente definidas como trastornos proliferativos de células de la sangre y/o sus progenitores, en los cuales estas células proliferan de una manera descontrolada. Anatómicamente, las neoplasias hematológicas se dividen en dos grupos principales: linfomas – masas malignas de células linfoideas, principalmente pero no de forma exclusiva en ganglios linfáticos, y leucemias – neoplasmas derivados normalmente de células linfoideas o mieloides y que afectan principalmente a la médula ósea y a la sangre periférica. Los linfomas se pueden subdividir en enfermedad de Hodgkin y linfoma no Hodgkin (NHL). El último grupo comprende algunas entidades distintas, que se pueden distinguir clínicamente (por ejemplo, linfoma agresivo, linfoma indolente), histológicamente (por ejemplo, linfoma folicular, linfoma de células del manto) o basándose en el origen de las células malignas (por ejemplo, linfocitos B, linfocitos T). Las leucemias y las neoplasias relacionadas incluyen la leucemia mielógena aguda, (LMA), leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA) y leucemia linfocítica crónica (LLC). Otras neoplasias hematológicas incluyen las discrasias de células plasmáticas que incluyen mieloma múltiple, y los síndromes mielodisplásicos.

Adicionalmente, la presente invención proporciona:

- 60 - un compuesto de la presente invención para uso como un medicamento;
- un compuesto de la presente invención para uso en la inhibición de la proliferación celular en células tumorales/cancerosas, o ralentizando la disminución de la progresión del ciclo celular en células tumorales/cancerosas;

65

- un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de las enfermedades o dolencias relacionadas con la proliferación celular;
- un compuesto de la presente invención para uso en la inhibición del crecimiento tumoral/canceroso *in vitro* e *in vivo*;
- un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de una enfermedad neoplásica.
- un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de un tumor o cáncer.
- Un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de neoplasias hematológicas.

Los compuestos de la presente invención son también adecuados para su uso en el tratamiento o la profilaxis de las infecciones víricas, incluyendo los virus de ADN y los virus de ARN, en particular VHS y VIH. Los virus que se van a tratar dependerán de la actividad antivírica del fármaco parenteral subyacente. Por ejemplo, los compuestos de la serie PME son útiles frente al ADN y los retrovirus, mientras que los compuestos PMP son eficaces frente a los retrovirus.

Las infecciones víricas ilustrativas incluyen infecciones producidas por virus de ADN o ARN que incluyen los herpesvirus (CMV, VHS 1, VHS2, VEB, virus de la varicela zoster [VZV], herpesvirus de bóvido de tipo 1, VHH-6, papilomavirus (VPH de los tipos 1-55 que incluyen el VPH carcinogénico), Flavivirus (que incluyen el virus de la fiebre amarilla, el virus de la fiebre porcina africana y virus de la encefalitis japonesa), togavirus (incluyendo el virus de la encefalomiélitis equina de Venezuela), los virus de la gripe (tipos A-C), retrovirus (VIH-1, VIH-2, HTLV-I, HTLV-11, VIS, FeLV, FIV, MoMSV), adenovirus (tipos 1-8), poxvirus (virus vaccinia), enterovirus (polivirus tipos 1-3, coxsackie (virus hantaan), Poliomavirus, papovirus, rinovirus, virus de la paragraipe tipos 1-4, virus de la rabia, y virus sincitial respiratorio (VSR).

Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de infecciones víricas.

Los compuestos terapéuticamente útiles de la presente invención son útiles en las formas de liberación oral o sostenida. En estos usos, un éster u otro grupo se elimina in vivo, por ejemplo, se hidroliza u oxida, de tal manera que da como resultado, por ejemplo, un grupo amino libre o un grupo hidroxilo. Los ésteres o amidatos protectores o precursores adecuados se seleccionan basándose en la especificidad del sustrato de esterasas y/o peptidasas que se espera que se encuentren en las células en la que se desea la hidrólisis del precursor. En la extensión en la que la especificidad de estas enzimas es desconocida, se seleccionará una pluralidad de análogos de nucleótidos de la presente invención hasta que se encuentre la especificidad del sustrato deseado. Esto será evidente a partir de la aparición del fosfonato libre de actividad antitumoral o antivírica. Se seleccionarán generalmente compuestos que no están hidrolizados (i) o se hidrolizan de forma comparativa lentamente en el intestino superior, (ii) intestino y células permeables e (iii) hidrolizadas en el citoplasma celular y/o la circulación sistémica. Se usan cribados con células de tejidos concretos para identificar precursores que se liberan en órganos susceptibles a una infección vírica 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, se tratan opcionalmente con un precursor que se hidroliza a sustancialmente la misma velocidad y a sustancialmente el mismo grado en todos los tejidos. Los ensayos conocidos en la materia son adecuados para estos fines, incluyendo la estabilidad de la luz intestinal, la permeación celular, la estabilidad del homogenado hepático y los ensayos de estabilidad en plasma. Estos ensayos se usan para determinar las características de biodisponibilidad de los precursores. Sin embargo, incluso si los derivados no se convierten in vivo, siguen siendo útiles como intermedios químicos.

Los compuestos en el presente documento y sus sales fisiológicamente aceptables (denominados en su conjunto a partir de ahora en el presente documento como principios activos) se formulan para la administración mediante cualquier ruta adecuada a la dolencia que se va a tratar. Los compuestos y formulaciones serán preferentemente estériles.

Los principios activos se introducen en formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, para uso veterinario y para uso humano, comprenden al menos un principio activo, tal como se ha definido anteriormente, junto con uno o más portadores aceptables y opcionalmente otros principios terapéuticos. El(los) portador(es) debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con el resto de componentes de la formulación y no perjudiciales para el receptor.

Las formulaciones se presentan convenientemente en una forma farmacéutica y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. En general, las formulaciones se preparan poniéndolas de forma uniforme e íntima en asociación el principio activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos, y a continuación, si es necesario, conformando el producto.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos conteniendo cada uno una cantidad predeterminada

del principio activo; como un polvo o gránulos; como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo puede presentarse también como un bolo, eluctuario o pasta.

5 Para las infecciones externas del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las formulaciones se aplican preferentemente como una pomada o crema tópica que contiene el(los) principio(s) activo(s) en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 a 20 %, en p/p (incluyendo el(los) principio(s) activo(s) en un intervalo entre 0,1 % y 20 % en incrementos de 0,1 % en p/p tales como de 0,6 % en p/p, 0,7 % en p/p, etc), normalmente 0,2 a 15 % en p/p y lo más normalmente 0,5 a 10 % en p/p. Cuando se formulan en una pomada, los principios activos se pueden emplear tanto como una base de pomada parafínica o miscible en agua. De forma alternativa, los principios activos se pueden emplear en una crema con una base de crema de aceite en agua.

15 Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos un 30 % en 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 sus mezclas. Las formulaciones tópicas pueden incluir de forma deseable un compuesto que potencia la absorción o la penetración del principio activo a través de la piel u otras zonas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetil sulfóxido y los análogos relacionados.

20 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 aceite o con una grasa y un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. Se prefiere también incluir un aceite y una grasa. Los estabilizantes de la emulsión adecuados para el uso en la formulación de la presente invención incluyen Tween<sup>®</sup> 60, Span<sup>®</sup> 80, alcohol cetosteárico, alcohol bencílico, alcohol mirístico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato de sodio. Los aceites o grasas adecuadas incluyen ésteres de alquilo mono o dibásicos de cadena lineal o ramificada tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo o palmitato de 2-etilhexilo. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, se pueden usar lípidos de elevado punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

35 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica al ojo incluyen gotas oculares donde el principio activo se disuelve o suspende en un portador adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el principio activo. El principio activo está normalmente presente en dichas formulaciones en una concentración del 0,01 al 20 % en peso

40 Las formulaciones adecuadas para la administración nasal donde el portador es un sólido incluyen un polvo de revestimiento que tiene por ejemplo un tamaño de partículas en el intervalo de 20 a 500 micrómetros (incluyendo tamaños de partículas en un intervalo entre 20 y 500 micrómetros en incrementos de 5 micrómetros tales como 30 micrómetros, 35 micrómetros, etc.), que se administran mediante inhalación rápida a través del pasaje nasal a partir de un recipiente del polvo. Las formulaciones adecuadas donde el portador es un líquido, para la administración como por ejemplo un pulverizador nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Se pueden preparar formulaciones adecuadas para la administración en aerosol de acuerdo con los métodos convencionales y se pueden administrar con otros agentes terapéuticos tales como pentamidina para el tratamiento de la neumonía pneumocistis

50 Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal se pueden presentar como formulaciones para pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen además el principio activo tal como portadores que son conocidos en la materia por ser adecuados.

55 Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que vuelven la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones acuosas y no acuosas estériles que pueden incluir agentes suspensores y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en estado criocongelado (liofilizado) que requiere solo la adición del portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Pueden prepararse soluciones y suspensiones para inyección improvisadas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo anteriormente descrito. Las formulaciones para dosificación unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, tal como se ha enumerado anteriormente en el presente documento, o una fracción adecuada de la misma, de un principio activo.

65 La presente invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un principio activo como se ha definido anteriormente junto con un portador veterinario del mismo. Los portadores veterinarios son materiales para administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que pueden ser de otra forma inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el principio activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o mediante cualquier otra ruta deseada.

Los compuestos en el presente documento se usan opcionalmente en formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como principio activo uno o más compuestos activos en los que la liberación del principio activo se controla y regula para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar la farmacocinética o el perfil de toxicidad de un compuesto dado. En general, los compuestos se administran a partir de sistemas de liberación controlada tales como el implante intravítreo del documento WO 92/14450 o la Patente de los Estados Unidos 5.098.443, o las matrices de Patente de los Estados Unidos 4.740.365 o la Patente de los Estados Unidos 5.141.752. Son conocidos otros muchos y son adecuados para el uso en el presente documento.

Adicionalmente, la presente invención proporciona:

- una composición de la presente invención para su uso como un medicamento;
- una composición de la presente invención para su uso en la inhibición de la proliferación celular en células tumorales/cancerosas, o en la ralentización de la progresión del ciclo celular en células tumorales/cancerosas;
- una composición de la presente invención para su uso en el tratamiento de las enfermedades o afecciones relacionadas con la proliferación celular;
- una composición de la presente invención para su uso en la inhibición del crecimiento tumoral/canceroso *in vitro* e *in vivo*;
- una composición de la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad neoplásica.
- una composición de la presente invención para su uso en el tratamiento de un tumor o cáncer.
- una composición de la presente invención para su uso en el tratamiento de una infección vírica.

Las rutas adecuadas para la administración incluyen la oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo la ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo la subcutánea, intramuscular, intravítrea, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La ruta de administración preferida dependerá de la dolencia del paciente, la toxicidad del compuesto y el sitio de infección, entre otras consideraciones conocidas por el especialista clínico.

Para cada una de las indicaciones terapéuticas anteriormente indicadas, la cantidad requerida de un principio activo (tal como se ha definido anteriormente) dependerá de numerosos factores que incluyen si el uso es antitumoral o antivírico, la gravedad de la dolencia que se va a tratar, el agente infeccioso, si el uso es profiláctico o para tratar una infección aguda, el sitio de infección o tumor (por ejemplo, la retinitis por CMV se trata sistémicamente o mediante inyección intravítrea, o en el tratamiento del VHH-6 en pacientes con esclerosis múltiple, opcionalmente mediante administración intratecal) y en última instancia otros factores según el criterio del médico o veterinario a cargo del tratamiento. En general, sin embargo, una dosis adecuada según el criterio del especialista clínico estará en el intervalo de los análogos de metoxifosfonatos (véase más arriba), teniendo en cuenta las diferencias de potencia, generalmente 0,1 a 250 mg por kilogramo de peso corporal del receptor por dosis (incluyendo principio(s) activo(s) en un intervalo entre 0,1 mg y 250 mg/kg/dosis en incrementos de 0,5 mg/kg/dosis tales como 2,5 mg/kg/dosis, 3,0 mg/kg/dosis, 3,5 mg/kg/dosis, etc), normalmente en el intervalo de 0,5 a 50 mg por kilogramo de peso corporal por dosis y los más normal en el intervalo de 1 a 15 mg por kilogramo de peso corporal por dosis.

La dosis deseada se administra a intervalos adecuados en formas farmacéuticas unitarias, normalmente con una dosis de inducción relativamente mayor y dosis de mantenimiento menores, menos frecuentes. En el caso de infecciones víricas, los compuestos se usan también profilácticamente, por ejemplo, mediante la administración en aproximadamente de 1 a 7 días antes de la infección vírica. Los tumores de VPH o crecimientos y lesiones de herpes se tratan a menudo por vía tópica, tanto mediante inyección local como mediante geles tópicos, pomadas o similares.

Los compuestos de la invención se emplean opcionalmente en combinación con uno, dos o más agentes terapéuticos para el tratamiento o la profilaxis de las infecciones o tumores indicados anteriormente. Los ejemplos de dichos agentes terapéuticos adicionales incluyen agentes que son eficaces para el tratamiento o la profilaxis de infecciones víricas o para el tratamiento de tumores y dolencias relacionadas.

Otros agentes terapéuticos incluyen 3'-azido-3'-desoxitimidina (zidovudina, AZT), 2'-desoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidroadenosina (D4A), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidrotimidina (D4T), carbovir (carbocíclico 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidroguanosine), 3'-azido-2',3'-didesoxiuridina, 5-fluorotimidina, (E)-5-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina (BVDU), 2-cloro-2'-desoxiadenosina, 2-desoxicofornicina, 5-fluorouracilo, 5-fluorouridina, 5-fluoro-2'-desoxiuridina, 5-trifluorometil-2'-desoxiuridina, ácido 6-azauridina, 5-fluoroorótico, metotrexato, triacetiluridina, 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-1-beta-D-arabinosil)-5-yodocitidina (FIAC), tetrahidroimidazo(4,5,1-jk)-(1,4)-benzodiazepin-2(1H)-tione (TIBO), 2'-nor-GMP 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 (ddl), nucleósidos acíclicos tales como aciclovir, valaciclovir, penciclovir, famciclovir,

ganciclovir, nucleótidos acíclicos tales como HPMPC, PMEA, PMEG, PMPA, PMPDAP, FPMPA, HPMPA y HPMPDAP, (2R, 5R)-9-[tetrahydro-5-(fosfonometoxi)-2-furanyl]adenina, (2R, 5R)-1-[tetrahydro-5-(fosfonometoxi)-2-furanil]timina, otros antiviricos que incluyen ribavirina (adenina arabinósido), 2-tio-6-azauridina, tubercidina, ácido aurintricarboxílico, 3-deazaneoplanocina, neoplanocina, rimantidina, adamantina, y foscarnet (fosfonoformiato trisódico), citoquinas incluyendo TNF y TGF-beta, interferones incluyendo IFN-alfa, IFN-beta e IFN-gamma, interleucinas incluyendo interleucina 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, factores estimuladores de colonias de macrófagos/granulocitos incluyendo GM-CSF, G-CSF, M-CSF, antagonistas de las citoquinas incluyendo anticuerpos dirigidos contra TNF, anticuerpos dirigidos contra las interleucinas, receptores de interleucinas solubles, inhibidores de la proteína quinasa C y, particularmente en el tratamiento del VIH, tratamiento simultáneo con IFN-alfa, IL-2 o IL-12.

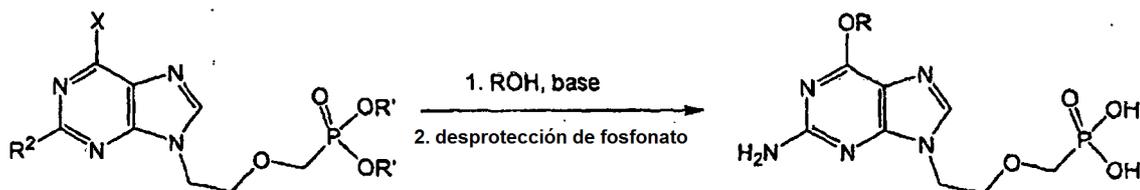
Adicionalmente, otros agentes terapéuticos son agentes antitumorales/agentes cancerosos que se seleccionan entre antineoplastos que incluyen, por ejemplo, auxiliares (por ejemplo, levamisol, nitrato de galio, granisetron, cloruro de sargramostim estroncio-89, filgrastim, pilocarpina, dexrazoxano, y ondansetron); inhibidores de andrógenos (por ejemplo, flutamida y acetato de leuprólido); derivados de antibióticos (por ejemplo, doxorubicina, sulfato de bleomicina, daunorrubicina, dactinomicina, y idarrubicina); antiestrógenos (por ejemplo, citrato de tamoxifeno, sus análogos, y antiestrógenos no esteroideos tales como toremifeno, droloxifeno y roloxifeno); antimetabolitos (por ejemplo, fosfato de fludarabina, interferón alfa-2b recombinante, metotrexato de sodio, plicamicina, mercaptopurina, y tioguanina); agentes citotóxicos (por ejemplo, doxorubicina, carmustina [BCNU], lomustina [CCNU], citarabina USP, ciclofosfamida, estramucina fosfato de sodio, alretamina, hidroxiaurea, ifosfamida, procarbazona, mitomicina, busulfan, ciclofosfamida, mitoxantrona, carboplatino, cisplatino, interferón alfa-2a recombinante; paclitaxel, tenipósido, y streptozocina); hormonas (por ejemplo, acetato de medroxiprogesterona, estradiol, acetato de megestrol, acetato de ocreótido, difosfato de dietilestilbestrol, testolactona, y acetato de goserelina); inmunomoduladores (por ejemplo, aldesleuquina); derivados de mostaza de nitrógeno (por ejemplo, melfalan, clorambucilo, mecloretamina, y tiotepa) y esteroides (betametasona fosfato de sodio y acetato de betametasona) y similares.

Otros agentes terapéuticos incluyen además los siguientes agentes antineoplásicos: abarelix (Plenaxis depot®); aldesleuquina (Prokine®); Aldesleuquina (Proleukin®); Alemtuzumab (Campath®); alitreinoína (Panretin®); alopurinol (Zyloprim®); alretamina (Hexalen®); amifostina (Ethyol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido de arsénico (Trisenox®); asparaginasa (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacuzimab (Avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targretin®); gel de bexaroteno (Targretin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfan intravenoso (Busulfex®); busulfan oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatino (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); carmustina con Polifeprosan 20 Implant (Gliadel Wafer®); celecoxib (Celebrex®); cetuximab (Erbix®); clorambucilo (Leukeran®); cisplatino (Platinol®); cladribine (Leustatin®); 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytosan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytosan Injection®); ciclofosfamida (Cytosan Table®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposomal (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetina alfa (Aranesp®); daunorrubicina liposomal (DanuoXome®); daunorrubicina, daunomicina (Daunorubicin®); daunorrubicina, daunomicina (Cerubidine®); Denileuquina difitox (Ontak®); dexrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina liposomal (Doxil®); propionato de dromostanolona (dromostanolone®); propionato de dromostanolone (masteron injection®); Elliott's B Solution (Elliott's B Solution®); epirubicina (Ellence®); Epoetin alfa (epogen®); erlotinib (Tarceva®); estramustina (Emcyl®); fosfato de etopósido (Etopophos®); etopósido, VP-16 (Vepesid®); ex emestano (Aromasin®); Filgrastim (Neupogen®); floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracilo, 5-FU (Acrucil®); folvestrant (Faslodex®); gefitinib (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®); acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxiaurea (Hydrea®); lbrutumomab Tiuxetan (Zevalin®); idarrubicina (Idamycin®); ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinib (Gleevec®); interferón alfa 2a (Roferon A®); Interferón alfa-2b (Intron A®); irinotecan (Camptosar®); lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorina (Wellcovorin®, Leucovorin®); Acetato de leuprólido (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina- CCNU (CeeBU®); mecloretamina, mostaza de nitrógeno (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalan, L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); mesna (Mesnex®); mesna (Mesnex tabs®); metotrexato (Methotrexate®); metoxsalen (Uvadex®); mitomicina C (Mutamycin®); mitotano (Lysodren®); mitoxantrona (Novantrone®); fenpropionato de nandrolona (Durabolin-50®); nelarabina (Arranon®); Nofetumomab (Verluma®); Oprelvekin (Neumega®); oxaliplatino (Eloxatin®); pamidronato de paclitaxel (Paxene®); paclitaxel (Taxol®); partículas unidas a la proteína paclitaxel (Abraxane®); palifermina (Kepivance®); pamidronato (Aredia®); pegademasa (Adagen (Pegademase Bovine)®); pegaspargasa (Oncaspar®); Pegfilgrastim (Neulasta®); pemetrexed disodio (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobroman (Vercyte®); plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfímero de sodium (Photofrin®); procarbazona (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); Rasburicasa (Elitek®); Rituximab (Rituxan®); sargramostim (Leukine®); Sargramostim (Prokine®); sorafenib (Nexavar®); estreptozocina (Zanosar®); maleato de sunitinib (Sutent®); talco (Sclerosol®); tamoxifeno (Nolvadex®); temozolomida (Temodar®); tenipósido, VM-26 (Vumon®); testolactona (Teslac®); tioguanina, 6-TG (Thioguanine®); tiotepa (Thioplex®); topotecan (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); Tositumomab (Bexxar®); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); Trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); Mostaza de uracilo (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); y zoledronato (Zometa®).

Además, las combinaciones que se han descrito anteriormente se pueden administrar a un sujeto mediante administración simultánea, separada o secuencial (uso). La administración simultánea (uso) puede tener lugar en la forma de una combinación fija con dos o más principios activos, o administrando simultáneamente dos o más compuestos que se formulan de forma independiente. La administración secuencial (uso) significa preferentemente la administración de uno (o más) compuestos o principios activos de una combinación en un punto temporal, otros compuestos o principios activos en un punto temporal diferente, esto es, de una manera crónicamente escalonada, preferentemente de tal manera que la combinación muestre más eficacia que los compuestos únicos administrados de forma independiente (mostrando especialmente sinergia). La administración separada (uso) significa preferentemente la administración de los compuestos o principios activos de la combinación independientemente entre sí en diferentes puntos temporales, significando preferentemente que dos compuestos se administran de tal manera que no solapan los niveles medibles en sangre de ambos compuestos que están presentes de una manera superpuesta (en el mismo momento).

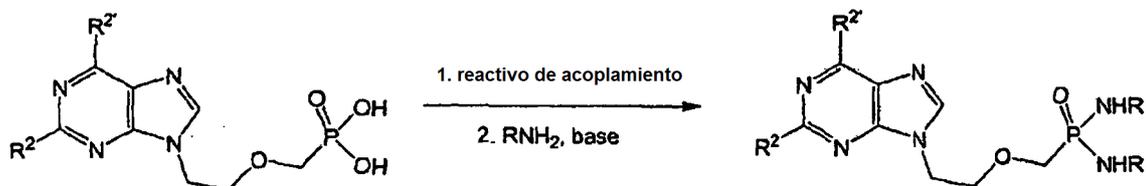
En la medida en que el compuesto de esta invención no pueda producirse/sintetizarse por los métodos análogos a los expuestos en los ejemplos que se indican a continuación, serán evidentes para el experto otros métodos. Véase, por ejemplo, Liotta et al. "Compendium of Organic Synthesis Methods" (John 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, Third Edition", (John Wiley & Sons, Nueva York, 1985); así como "Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry. In 9 Volumes", Barry M. Trost, Editor jefe (Pergamon Press, Nueva York, impreso en 1993).

La síntesis de los derivados de 6-alcopurina de esta invención se consigue de forma conveniente mediante el desplazamiento de un grupo saliente en la posición 6 con el ácido fosfónico protegido de forma adecuada.



Por lo tanto, el calentamiento de un éster dialquílico del ácido [2-(2-Amino-6-halo-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico, tal como el descrito en la solicitud de patente WO2005/066189, junto con un alcohol adecuado en presencia de una base usada normalmente para generar el alcóxido, tal como hidruro sódico, hexametildisilazida sódica, carbonato de cesio o t-butoxido potásico, opcionalmente en un disolvente, tal como tetrahidrofurano, dimetoxietano o dimetilformamida, proporciona el interior 6-alcopurina deseado. Esta transformación puede facilitarse por irradiación de microondas. La retirada de los grupos protectores del ácido fosfónico se consigue de forma cómoda, en este caso, por desalquilación con un reactivo, tal como bromotrimetil silano o yodotrimetilsilano, opcionalmente en presencia de un ácido y un eliminador de cationes, tal como un derivado de lutidina y/o un disolvente aprótico, a temperaturas normalmente, pero no necesariamente, por debajo de la temperatura ambiente. Será evidente para el experto que otros grupos protectores de ácido fosfónico, tales como (pero sin limitación) ésteres bencilicos o p-metoxibencil ésteres también pueden ser de utilidad para este fin, eliminándose mediante métodos típicos, tales como hidrogenación o tratamiento con agentes de oxidación o ácidos fuertes.

Las diamidas fosfónicas de esta invención se generan normalmente mediante la activación de los ácidos fosfónicos correspondientes con un reactivo de acoplamiento seguido de condensación con el nucleófilo de amina deseado.



Los reactivos de acoplamiento adecuados incluyen los que se usan a menudo en la formación de enlaces peptídicos, tales como diciclohexilcarbodiimida o PyBOP, así como disulfuro de 2,2'-dipiridilo junto con trifenilfosfina, en presencia de una base orgánica, tal como una trialkilamina, piridina o lutidina, y opcionalmente en un disolvente inerte, tal como DMF. La reacción puede facilitarse por calentamiento en una atmósfera inerte.

Estos métodos también son útiles para la síntesis de monoamidas de monoaril éster del ácido fosfónico de esta invención. Estas se obtienen cómodamente en condiciones similares, pero con la adición del alcohol deseado para formar el enlace éster. Como alternativa, son accesibles a partir del diéster del ácido fosfónico requerido, tras la

saponificación en el monoéster por tratamiento con un reactivo, tal como un hidróxido de metal alcalino en un disolvente etéreo, tal como THF; el monoéster se somete a las condiciones de acoplamiento que se han descrito anteriormente para formar la fosfonamida deseada.

- 5 Los diésteres del ácido fosfónico de esta invención pueden sintetizarse por la alquilación de los ácidos fosfónicos correspondientes.

### Ejemplos

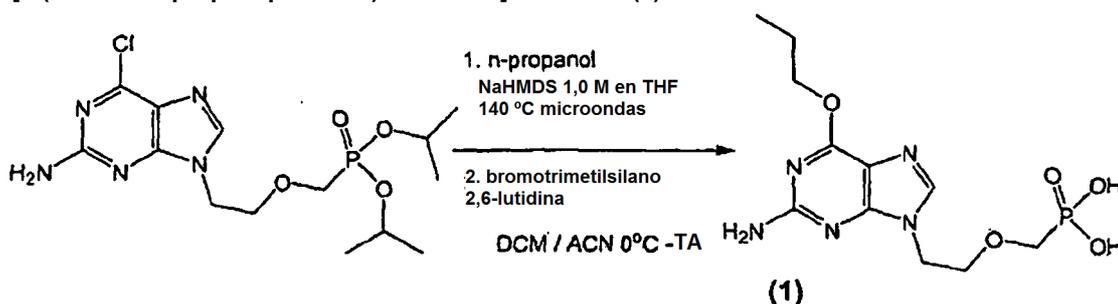
10 Se realizó cromatografía sobre gel de sílice utilizando sistemas de cromatografía Teledyne ISCO y columnas de 12 g, con diclorometano y metanol al 50 % en diclorometano como los disolventes A y B respectivamente. El gradiente de elución típico fue del 0 % al 30 % de B sobre 55 volúmenes de columna, pero se varió ligeramente para optimizar cada separación individual.

15 El análisis de cromatografía por HPLC analítica se realizó usando una columna Phenomenex Gemini 5  $\mu\text{M}$  C<sub>18</sub> 4,6 x 50 mm, con acetonitrilo al 1 %/ácido fórmico al 0,05 % en agua como disolvente A y agua al 1 %/ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo como disolvente B. El gradiente de elución fue del 5 % al 100 % de B en 2,5 minutos, con 1 minuto más al 100 % de B durante un tiempo de realización total de 3,5 minutos. Los datos de MS se recogieron usando ionización por electronebulización (ESI) en un detector ThermoFinnigan.

20 La cromatografía por HPLC preparativa se realizó usando una columna Phenomenex Synergi 4  $\mu\text{M}$  Hydro Combi-HTS 30 x 150 mm, con agua como disolvente A y acetonitrilo como disolvente B. El gradiente de elución típico fue del 2 % al 80 % de B durante 20 minutos, pero se varió ligeramente para optimizar cada separación individual.

### 25 Ejemplo 1

#### Ácido [2-(2-amino-6-propoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (1)



30 Se preparó (1) CAS N<sup>o</sup> 183194-25-4, ácido [[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-fosfónico, bis(1-metiletil)éster, como se describe en la patente WO2005/066189.

Una alícuota de n-propanol (7 ml, 93 mmol) se purgó con N<sub>2</sub> y después se enfrió en un baño de hielo/agua a 0 °C. Se añadió gota a gota hexametildisilazida sódica (en forma de una solución 1,0 M en THF, 8 ml, 8 mmol, 5 equiv.) y después la solución se agitó durante 30 minutos. Después, esta solución se añadió a un vial de microondas de 20 ml que contenía ácido fosfónico, P-[[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-, bis(1-metiletil)éster I (625 mg, 1,6 mmol, 1 equiv.), y la mezcla se calentó por microondas a 140 °C durante 20 minutos. Después, la mezcla se vertió en un matraz, se evaporó para dar un sólido, y se dejó a alto vacío durante una noche. Después, al matraz se le añadieron diclorometano y acetonitrilo (8 ml de cada uno), y la mezcla de reacción se enfrió de nuevo en un baño de agua enfriada con hielo a 0 °C. Al matraz se le añadió 2,6-lutidina (3,7 ml, 32 mmol, 20 equiv.), y después se añadió gota a gota bromotrimetilsilano (3,1 ml, 24 mmol, 15 equiv.). El baño de hielo se retiró después de que se completara la adición, y la reacción se agitó durante una noche. Después, la reacción se interrumpió mediante la adición lenta de metanol (30 ml) con 1 hora de agitación. La solución se evaporó para dar un sólido y se disolvió de nuevo en agua (8 ml). (1) se aisló de esta solución mediante HPLC de fase inversa en forma de un sólido de color blanco (318 mg, 0,96 mmol, 60 %).

45 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

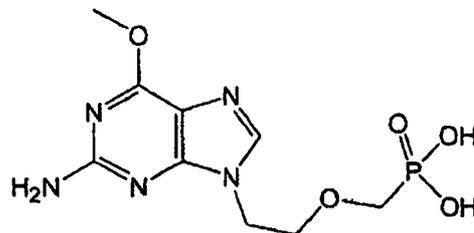
<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  16,47.

LC/MS: t.r. = 1,48 min (3,5 min de realización), masa = 332 (M+1).

50

## Ejemplos 2 y 3

(2) - (3) se prepararon mediante el mismo método que (1) usando el alcohol de partida apropiado.

5 **Ácido [2-(2-amino-6-metoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (2)**

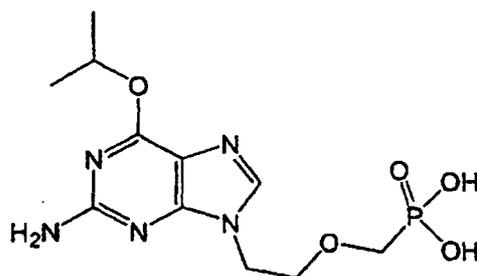
(2)

El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (2) en forma de un sólido de color blanco (376 mg, 1,24 mmol, 77 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,05 (s, 1H), 4,32 (t,  $J$  = 5,05 Hz, 2H), 4,06 (s, 3H), 3,90 (t,  $J$  = 5,05 Hz, 2H), 3,64 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  15,43.

LC/MS: t.r. = 1,21 min (3,5 min de realización), masa = 304 (M+1).

10 **Ácido [2-(2-Amino-6-isopropoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (3)**

(3)

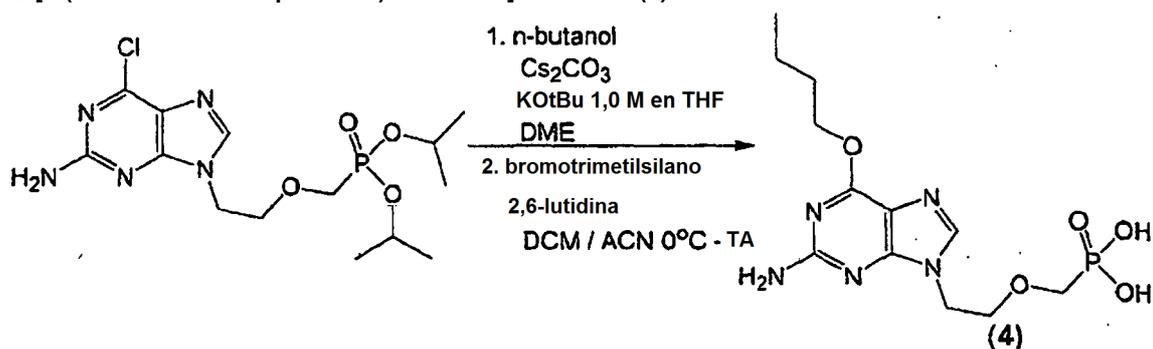
15 El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (3) en forma de un sólido de color blanco (202 mg, 0,61 mmol, 38 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

20  $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  16,47.

LC/MS = 332 (M++1).

## Ejemplo 4

25 **Ácido [2-(2-amino-6-butoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (4)**

Se pesaron ácido fosfónico, P-[[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-, bis(1-metiletil)éster (727 mg, 1,86 mmol, 1 equiv.) y carbonato de cesio (1,21 g, 3,72 mmol, 2 equiv.) en un matraz pequeño y se purgaron con  $\text{N}_2$ .

Después, se añadieron 1,2-dimetoxietano (8 ml) y n-propanol (0,68 ml, 7,44 mmol, 4 equiv.), y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Después, se añadió gota a gota terc-butóxido potásico (en forma de una solución 1,0 M en tetrahidrofurano, 2,05 ml, 2,05 mmol, 1,1 equiv.).

5 La reacción se agitó 2,5 horas a temperatura ambiente y después se concentró para dar un sólido. Tras la suspensión en diclorometano, los sólidos se retiraron por filtración. La concentración del filtrado produjo un aceite de color amarillo a partir del cual se aisló el producto por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 12 % en diclorometano) en forma de un aceite transparente (616 mg, 1,435 mmol, 77 %). Después, éste se disolvió en diclorometano (8 ml) en una atmósfera de N<sub>2</sub>, y el matraz de reacción se enfrió en un baño de agua enfriada con hielo a 0 °C. Se añadió 2,6-lutidina (3,7 ml, 32 mmol, 20 equiv.), y después se añadió gota a gota bromotrimetilsilano (3,1 ml, 24 mmol, 15 equiv.). El baño de hielo se retiró después de que se completara la adición, y la reacción se agitó durante una noche. Después, la reacción se interrumpió mediante la adición lenta de metanol (30 ml) con 1 hora de agitación. Después, la solución se evaporó y el residuo se disolvió de nuevo en agua (8 ml). El compuesto (4) se aisló de esta solución mediante HPLC de fase inversa en forma de un sólido de color blanco (399 mg, 1,16 mmol, 62 %).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 8,35 (s, 1H), 4,55 (t, J = 6,0 Hz, 2H), 4,40 (s a, 2H), 3,93 (s a, 2H), 3,73 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 1,83 (m, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,01 (t, J = 7,35 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 17,19.

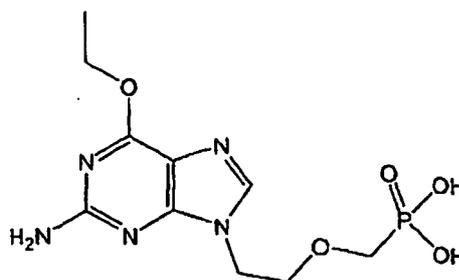
LC/MS: t.r. = 1,67 min (3,5 min de realización), masa = 346 (M+1).

20

### Ejemplos 5-12

(5) - (12) se prepararon mediante el mismo método que (4), usando el alcohol de partida apropiado.

#### 25 Ácido [2-(2-amino-6-etoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (5)



(5)

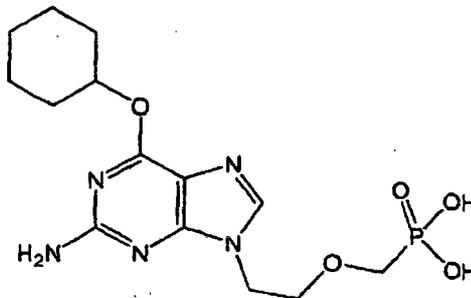
El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (5) en forma de un sólido de color blanco (306 mg, 0,965 mmol, 78 %).

30 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,98 (s, 1H), 4,54 (c, J = 7,1 Hz, 2H), 4,30 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,88 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,59 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,43 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 14,69.

LC/MS: t.r. = 0,82 min (3,5 min de realización), masa = 318 (M+1).

#### 35 Ácido [2-(2-amino-6-ciclohexiloxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (6)



(6)

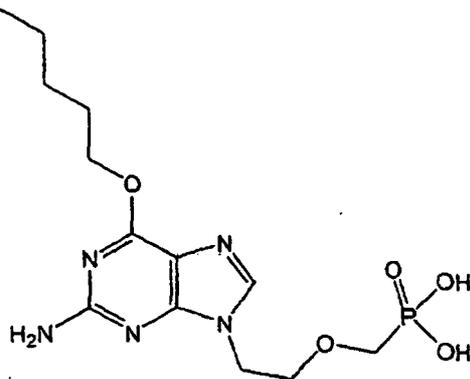
El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (6) en forma de un sólido de color castaño (306 mg, 0,965 mmol, 78 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,67 (s, 1H), 5,38 (m, 1 Hz), 4,45 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 3,96 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,76 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 2,06 (m a, 2H), 1,84 (m a, 2H), 1,65 (m, 3H) 1,45 (m, 3H).

5  $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  17,94.

LC/MS: t.r. = 1,52 min (3,5 min de realización), masa = 372 (M+1).

**Ácido [2-(2-amino-6-pentiloxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (7)**



(7)

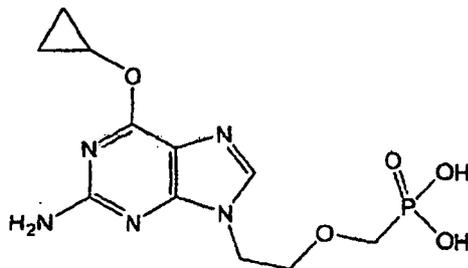
10 El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (7) en forma de un sólido de color blanco (164 mg, 0,457 mmol, 47 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,17 (s, 1H), 4,51 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,69 (d, J = 9,1 Hz, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,45 (m, 4H), 0,953 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  16,36.

15 LC/MS: t.r. = 1,57 min (3,5 min de realización), masa = 360 (M+1).

**Ácido [2-(2-amino-6-ciclopropoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (8)**



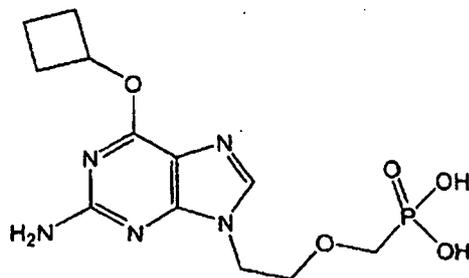
(8)

20 El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (8) en forma de un sólido de color blanco (315 mg, 0,957 mmol, 47 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,02 (s, 1H), 4,56 (m, 1H), 4,31 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,89 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 3,62 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 0,84 (s, 4H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  15,32.

25 LC/MS: t.r. = 1,02 min (3,5 min de realización), masa = 330 (M+1).

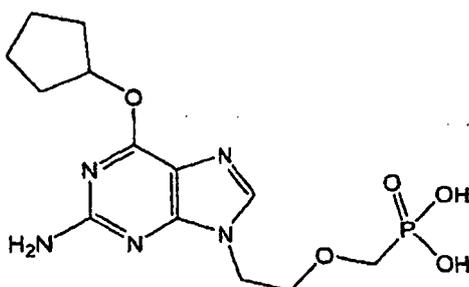
**Ácido [2-(2-amino-6-ciclobutoxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (9)****(9)**

El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó el compuesto del Ejemplo 9 en forma de un sólido de color blanco (253 mg, 0,738 mmol, 69 %).

5  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,14 (s, 1H), 5,42 (m, 1H), 4,34 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,90 (t,  $J$  = 5,0 Hz, 2H), 3,68 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H), 2,52 (m, 2H), 2,23 (m, 2H), 1,80 (m, 2H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  16,22.

LC/MS: t.r. = 1,29 min (3,5 min de realización), masa = 344 (M+1).

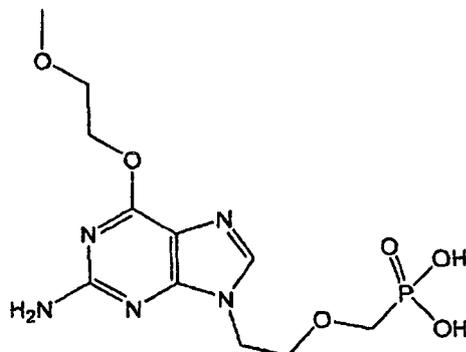
**10 Ácido [2-(2-amino-6-ciclopentiloxi-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (10)****(10)**

El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó (10) en forma de un sólido de color beige (319 mg, 0,738 mmol, 69 %).

15  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,11 (s, 1H), 5,68 (m, 1 H), 4,34 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,90 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,67 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 2H), 1,85 (m a, 8H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  15,85

LC/MS: t.r. = 1,66 min (3,5 min de realización), masa = 358 (M+1)

**Ácido {2-[2-amino-6-(2-metoxi-etoxi)-purin-9-il]-etoximetil}-fosfónico (11)****(11)**

20

El análisis por HPLC de fase inversa proporcionó el compuesto del Ejemplo 11 en forma de un sólido de color blanco (450 mg, 1,3 mmol, 62 %).

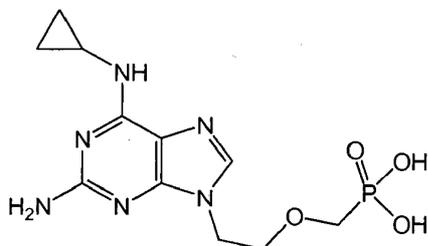
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,11 (s, 1H), 4,63 (t,  $J$  = 4,6 Hz, 2H), 4,33 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t,  $J$  = 5,0 Hz, 2H), 3,79 (t,  $J$  = 4,8 Hz, 2H), 3,68 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H), 3,41 (s, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  16,01.

LC/MS: t.r. = 1,03 min (3,5 min de realización), masa = 348 (M+1).

5

### Ácido [2-(2-amino-6-ciclopropilamino-purin-9-il)-etoximetil]-fosfónico (12)

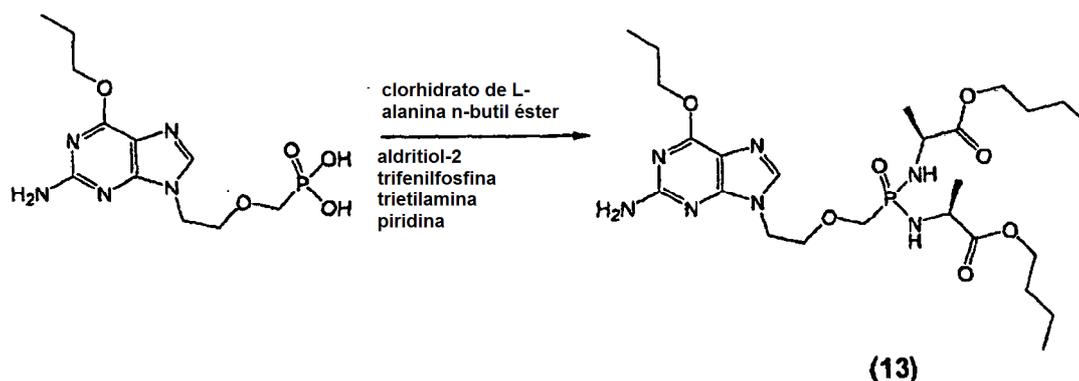


(12)

Se preparó el diácido (12), CAS N° 182798-83-0, como se describe en la patente WO2005/066189.

10

### Ejemplo 13



15 Se pesaron (1) (52 mg, 0,159 mmol, 1 equiv.) y clorhidrato de L-alanina n-butil éster (200 mg, 1,10 mmol, 7 equiv.) en un matraz pequeño y se purgaron con  $\text{N}_2$ . Se añadió piridina (1 ml), y la mezcla se calentó a 60 °C con agitación. Se añadió una solución de alditriol-2 (243 mg, 1,10 mmol, 7 equiv.), trifetilfosfina (289 mg, 1,10 mmol, 7 equiv.) y trietilamina (265  $\mu\text{l}$ , 1,90 mmol, 12 equiv.) en 1 ml de piridina. La reacción se agitó a 60 °C en una atmósfera de  $\text{N}_2$  durante una noche. Después, la reacción se concentró para dar un sólido y se dejó a alto vacío durante 1 hora para retirar la piridina residual. La cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) proporcionó el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo (25 mg, 0,042 mmol, 27 %).

20  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,93 (s, 1H), 4,44 (t,  $J$  = 6,6 Hz, 2H), 4,30 (m, 2H), 4,10 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,76 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 2H), 1,85 (m, 2H), 1,61 (m, 4H), 1,40, (m, 10H), 1,07 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H), 0,92 (m, 6H).

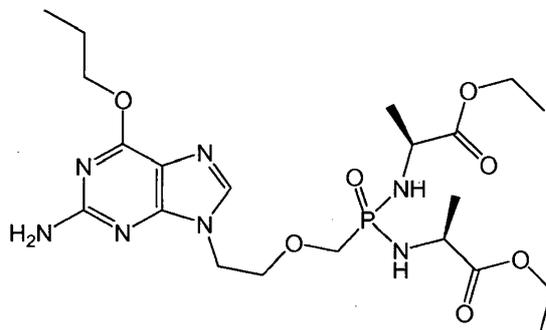
$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,49.

25 LC/MS: t.r. = 2,39 min (3,5 min de realización), masa = 586 (M+1).

Los compuestos (14) a (25) se prepararon a partir de (1) mediante el mismo método que (13) excepto por las diferencias en el reactivo aminoacídico. "Mismo método", como se usa en el presente documento, se refiere al mismo procedimiento general, con los ajustes apropiados para el reactivo o los reactivos.

30

## Ejemplo 14



(14)

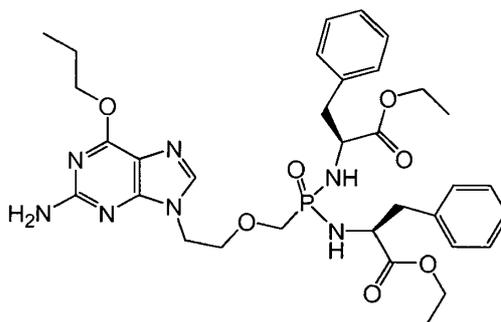
El compuesto (14) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (18 mg, 0,034 mmol, 21%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (m, 2H), 4,12 (m, 4H), 3,91 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,86 (m, 2H), 1,51 (m, 2H), 1,30 (m, 10H), 1,07 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,56.

LC/MS: t.r. = 2,00 min (3,5 min de realización), masa = 530 (M+1).

## Ejemplo 15



(15)

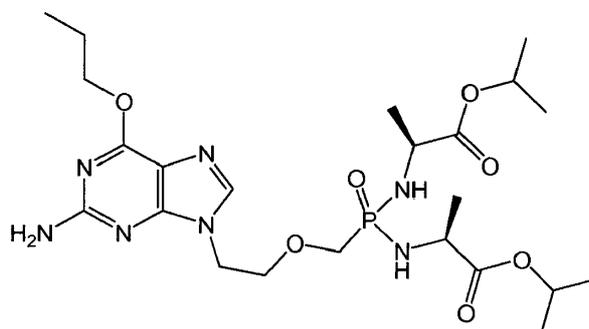
El compuesto (15) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo (15 mg, 0,022 mmol, 7%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,03.

LC/MS: t.r. = 2,51 min (3,5 min de realización), masa = 682 (M+1).

## Ejemplo 16



(16)

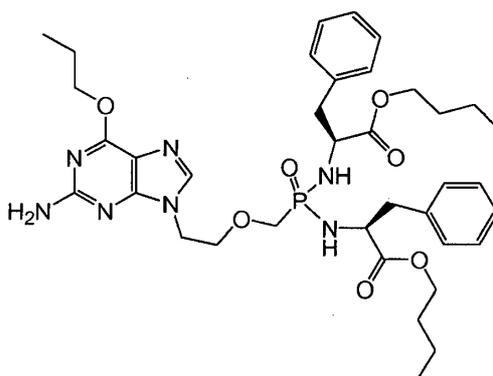
El compuesto (16) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color castaño (20 mg, 0,036 mmol, 22%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,01 (s, 1 H), 5,11 (m a, 2H), 4,42 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,34 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 3,89 (m, 4H), 3,76 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 1,85 (m, 2H), 1,25 (m a, 18H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,495.

LC/MS: t.r. = 2,19 min (3,5 min de realización), masa = 558 (M+1).

## Ejemplo 17



(17)

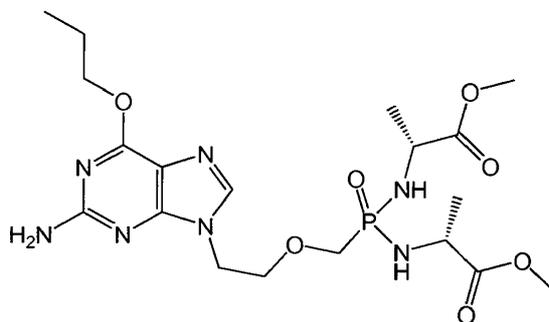
El compuesto (17) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (25 mg, 0,034 mmol, 20%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  22,99.

LC/MS: t.r. = 2,86 min (3,5 min de realización), masa = 738 (M+1).

## Ejemplo 18



(18)

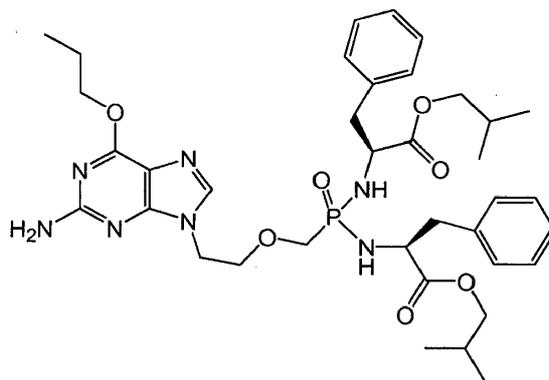
El compuesto (18) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (10 mg, 0,020 mmol, 10%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,51.

LC/MS: t.r. = 1,81 min (3,5 min de realización), masa = 502 (M+1).

## Ejemplo 19



(19)

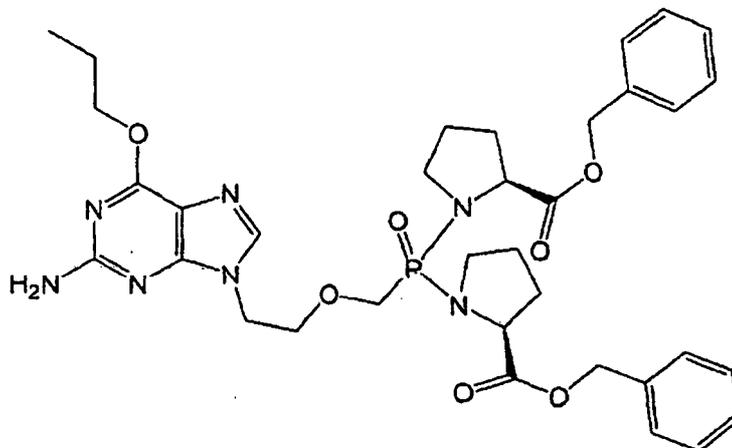
El compuesto (19) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (20 mg, 0,027 mmol, 15%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1 H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  22,93.

LC/MS: t.r. = 2,78 min (3,5 min de realización), masa = 738 (M+1).

## Ejemplo 20



(20)

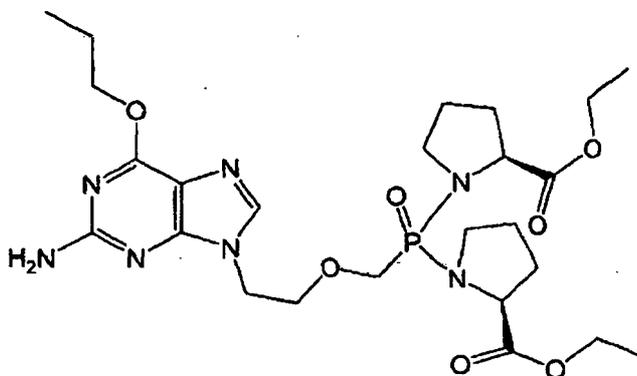
El compuesto (20) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (80 mg, 0,113 mmol, 54 %).

5  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,82 (s, 1H), 7,33 (m, 10H), 5,09 (m, 4H), 4,42 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,21 (m, 4H), 3,6-3,9 (m a, 4H), 2,9-3,2 (m a, 4H), 2,05 (m, 2H), 1,6-1,9 (m a, 8H), 1,05 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,26.

LC/MS: t.r. = 2,34 min (3,5 min de realización), masa = 706 (M+1).

## 10 Ejemplo 21



(21)

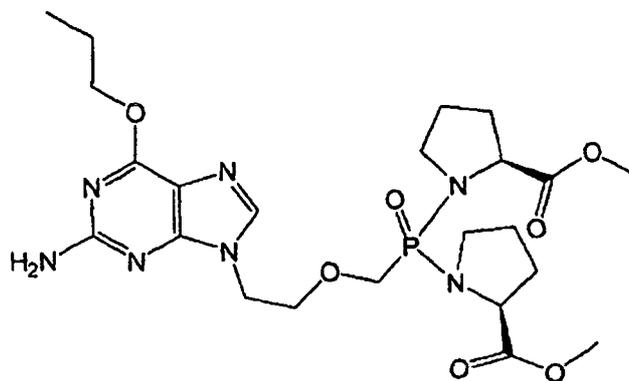
El compuesto (21) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido vítreo incoloro (43 mg, 0,074 mmol, 36 %).

15  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,89 (s, 1H), 4,45 (t,  $J$  = 6,6 Hz, 2H), 4,31 (m, 2H), 3,9-4,2 (m a, 8H), 3,82 (m, 2H), 3,0-3,3 (m a, 4H), 2,11 (m a, 2H), 1,7-1,95 (m a, 8H), 1,25 (m, 6H), 1,06 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,27.

LC/MS: t.r. = 1,90 min (3,5 min de realización), masa = 582 (M+1).

## Ejemplo 22



(22)

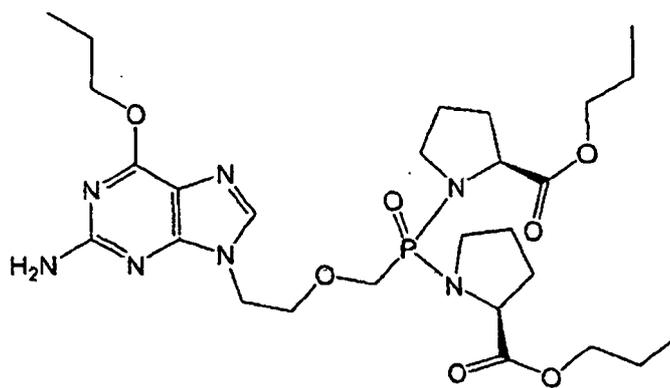
El compuesto (22) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (68 mg, 0,123 mmol, 59 %).

5  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,88 (s, 1H), 4,45 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 4,32 (m, 2H), 4,21 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 3,99 (m, 1H) 3,76 (m a, 3H), 3,66 (m, 6H), 3,08-3,24 (m a, 4H), 2,09, (m, 2H), 1,85 (m a, 8H), 1,06 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,34.

LC/MS: t.r. = 1,97 min (3,5 min de realización), masa = 554 (M+1).

## 10 Ejemplo 23



(23)

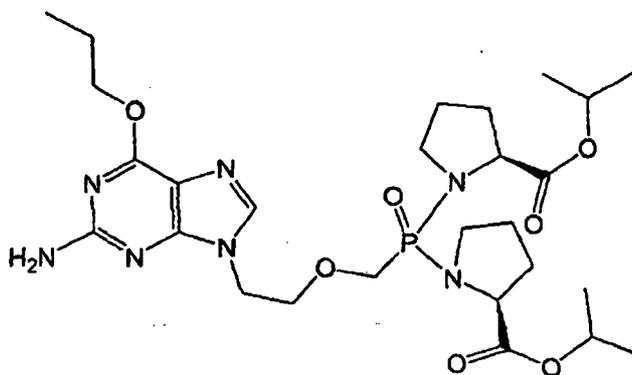
El compuesto (23) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color castaño (52 mg, 0,085 mmol, 41 %).

15  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,88 (s, 1H), 4,45 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,26 (m, 3H), 4,10 (m, 6H), 3,88 (m, 3H), 3,19 (m, 4H), 2,11 (m, 2H), 1,85 (m a, 8H), 1,68 (m, 4H), 1,065 (t, J = 7,4 Hz, 3H), 0,93 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,28.

LC/MS: t.r. = 2,43 min (3,5 min de realización), masa = 610 (M+1).

## Ejemplo 24



(24)

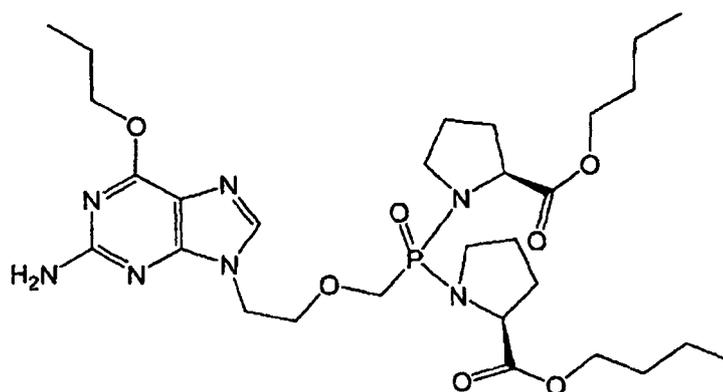
El compuesto (24) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (47 mg, 0,077 mmol, 37 %).

5  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,89 (s, 1H), 4,93 (m, 2H), 4,45 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,33 (m a, 2H), 4,17 (m a, 1H), 4,02 (m, 2H), 3,87 (m, 3H), 3,25 (m a, 4H), 2,11 (m, 2H), 1,84 (m, 8H), 1,21 (m, 12H), 1,06 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,19.

LC/MS: t.r. = 3,56 min (6 min de realización), masa = 610 (M+1).

## 10 Ejemplo 25



(25)

El compuesto (25) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color castaño claro (75 mg, 0,118 mmol, 57 %).

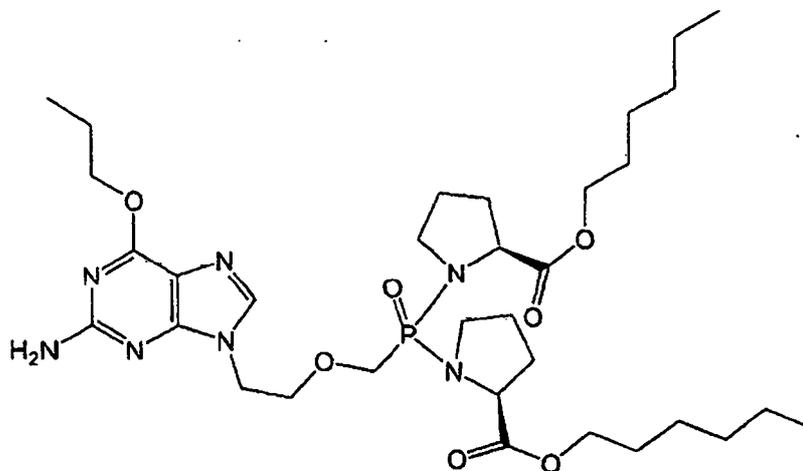
15  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,88 (s, 1H), 4,45 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (m, 2H), 4,21 (m, 1H), 4,08 (m, 6H), 3,87 (m, 3H), 3,19 (m, 4H), 2,07 (m, 2H), 1,81 (m a, 9H), 1,61 (m, 2H), 1,38 (m, 5H), 1,06 (t,  $J$  = 7,35 Hz, 3H), 0,95 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,31.

LC/MS: t.r. = 4,03 min (6 min de realización), masa = 638 (M+1).

20

## Ejemplo 26



(26)

El compuesto (26) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un aceite de color amarillo (8 mg, 0,012 mmol, 9 %).

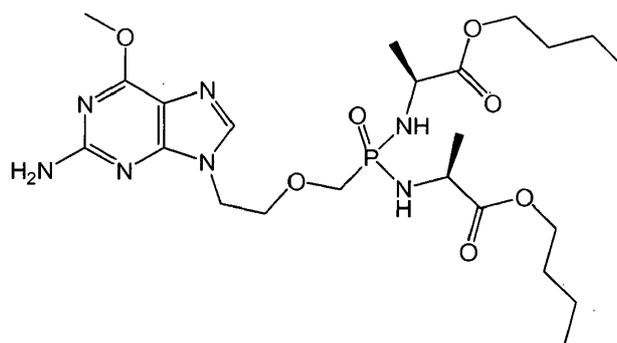
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,88 (s, 1H), 4,45 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (m, 2H), 4,21 (m, 1H), 4,04 (m, 6H), 3,90 (m, 3H), 3,19 (m, 4H), 2,11 (m, 2H), 1,81 (m a, 8H), 1,61 (m a, 4H), 1,38 (m, 12H), 1,07 (t,  $J$  = 7,35 Hz, 3H), 0,91 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,35.

LC/MS: t.r. = 4,71 min (6 min de realización), masa = 694 (M+1).

Los compuestos 27 a 32 se prepararon a partir de (2) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 27



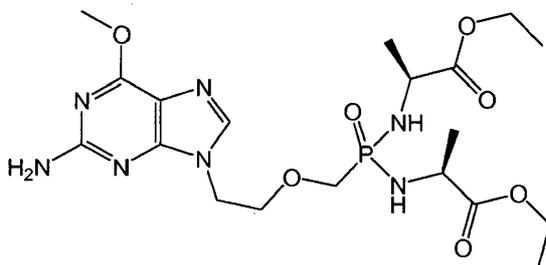
(27)

El compuesto (27) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (10 mg, 0,018 mmol, 14%).

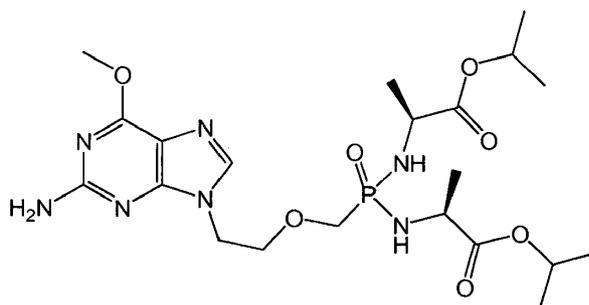
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,93 (s, 1H), 4,32 (m, 2H), 4,10 (m, 4H), 4,05 (s, 3H), 3,82 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 2H), 1,61 (m, 4H), 1,40 (m, 4H), 1,33 (m, 6H), 0,95 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,49.

LC/MS: t.r. = 2,23 min (3,5 min de realización), masa = 558 (M+1).

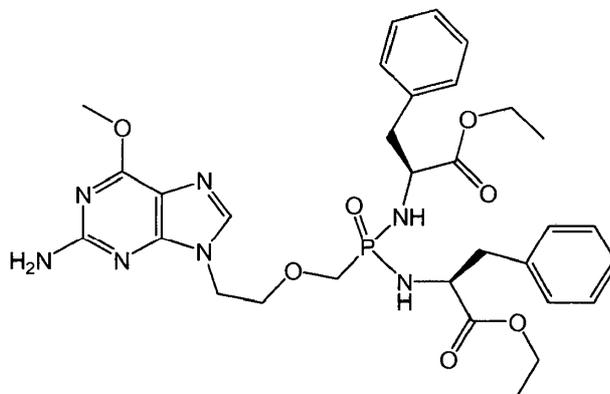
**Ejemplo 28****(28)**

- 5 El compuesto **(28)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (15 mg, 0,030 mmol, 17%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,93 (s, 1 H), 4,32 (m, 2H), 4,12 (m, 4H), 4,05 (s, 3H), 3,90 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H), 1,30 (m a, 12H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,51.
- 10 LC/MS: t.r. = 1,74 min (3,5 min de realización), masa = 502 (M+1).

**Ejemplo 29****(29)**

- 15 El compuesto **(29)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color castaño (20 mg, 0,038 mmol, 22%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,94 (s, 1H), 4,98 (m, 2H), 4,32 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 4,05 (s, 3H), 3,90 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H), 1,31 (m, 6H), 1,23 (m, 12H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,48.
- 20 LC/MS: t.r. = 1,92 min (3,5 min de realización), masa = 530 (M+1).

## Ejemplo 30



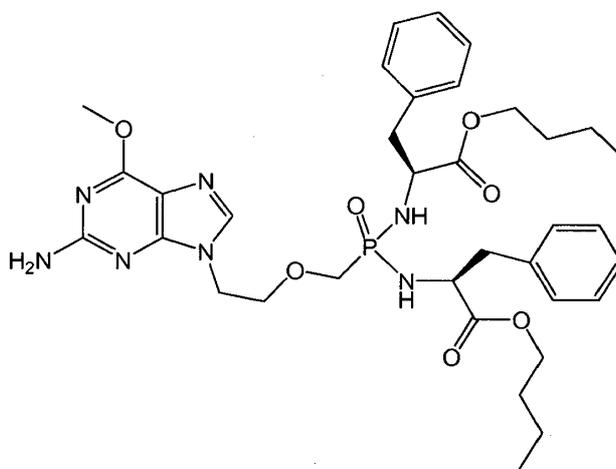
(30)

5 El compuesto (30) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (20 mg, 0,031 mmol, 17%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1 H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).  $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,01.

LC/MS: t.r. = 2,29 min (3,5 min de realización), masa = 654 (M+1).

## 10 Ejemplo 31



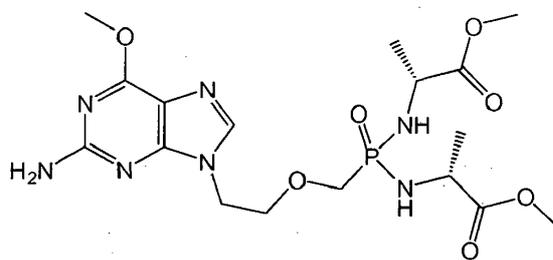
(31)

15 El compuesto (31) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (22 mg, 0,031 mmol, 17%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).  $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  22,99.

LC/MS: t.r. = 2,65 min (3,5 min de realización), masa = 710 (M+1).

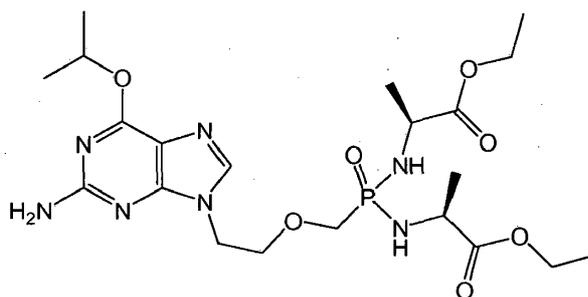
## Ejemplo 32



(32)

- 5 El compuesto **(32)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (15 mg, 0,032 mmol, 17%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,50.
- 10 LC/MS: t.r. = 1,63 min (3,5 min de realización), masa = 474 (M+1). Los compuestos 33 y 34 se prepararon a partir de **(3)** mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

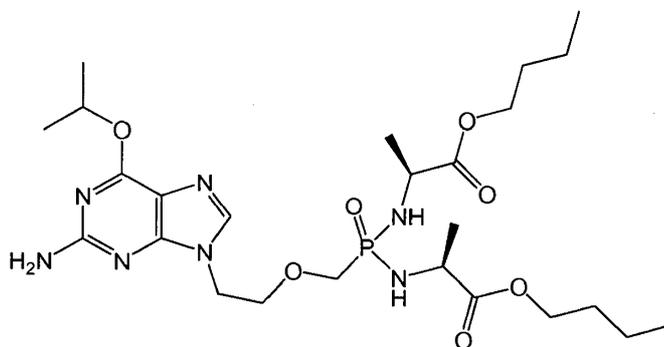
## Ejemplo 33



(33)

- 15 El compuesto **(33)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (47 mg, 0,089 mmol, 53%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,91 (s, 1H), 5,55 (m, 1H), 4,31 (m, 2H), 4,14 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,40 (m, 6H), 1,25 (m, 12H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,56.
- 20 LC/MS: t.r. = 1,74 min (3,5 min de realización), masa = 530 (M+1).

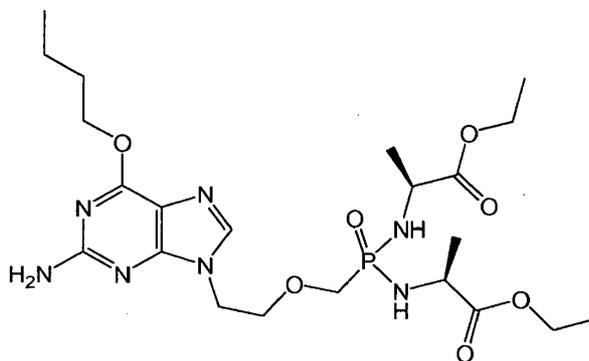
## Ejemplo 34



(34)

- 5 El compuesto **(34)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (42 mg, 0,073 mmol, 44%).
- $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,91 (s, 1H), 5,56 (m, 1H), 4,31 (m, 2H), 4,10 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (m, 2H), 1,62 (m, 4H), 1,41 (m, 10H), 1,33 (m, 6H), 0,95 (m, 6H).
- $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,51.
- 10 LC/MS: t.r. = 2,17 min (3,5 min de realización), masa = 586 (M+1). Los compuestos 35 y 36 se prepararon a partir de **(4)** mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

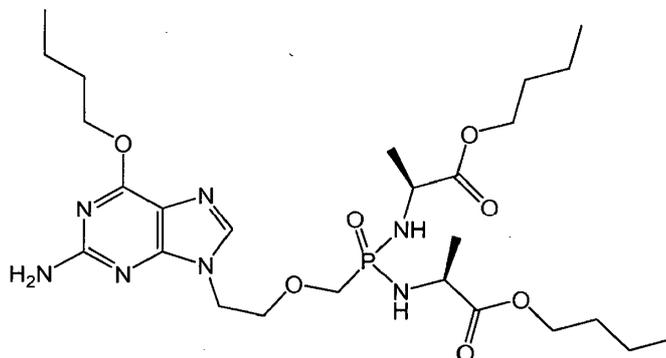
## Ejemplo 35



(35)

- 15 El compuesto **(35)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo de color castaño (55 mg, 0,101 mmol, 56%).
- $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,49 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 4,18 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 1,80 (m, 2H), 1,54 (m, 2H), 1,32 (m, 6H), 1,24 (m, 6H), 1,00 (t, J = 7,4 Hz, 3H).
- $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,52.
- 20 LC/MS: t.r. = 1,88 min (3,5 min de realización), masa = 544 (M+1).

## Ejemplo 36



(36)

El compuesto (36) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (64 mg, 0,107 mmol, 45%).

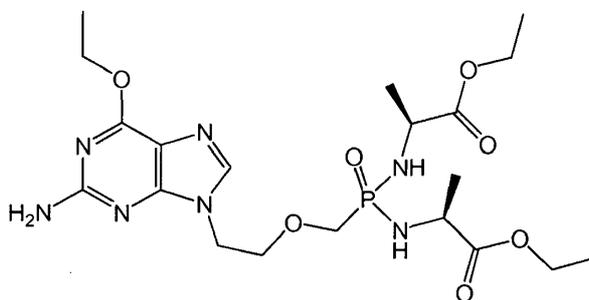
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,49 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,31 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 4,09 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,82 (m, 2H), 1,60 (m, 6H), 1,39 (m, 4H), 1,32 (m, 6H), 0,94 (m, 9H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,50.

LC/MS: t.r. = 2,29 min (3,5 min de realización), masa = 600 (M+1).

Los compuestos 37 y 38 se prepararon a partir de (5) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 37



(37)

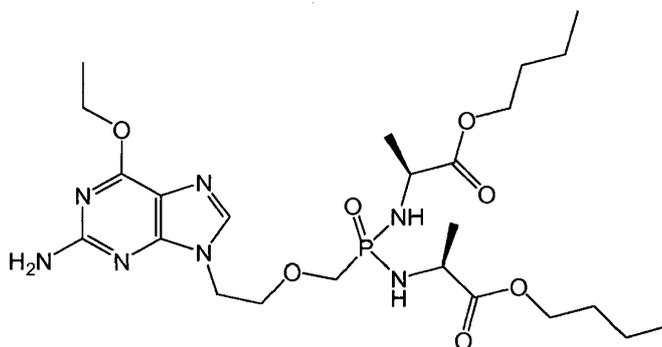
El compuesto (37) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo pálido (59 mg, 0,115 mmol, 49%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,98 (s, 1H), 4,51 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 4,14 (m, 4H), 3,90 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 1,41 (m, 3H), 1,26 (m, 6H), 1,23 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,51.

LC/MS: t.r. = 1,65 min (3,5 min de realización), masa = 516 (M+1).

## Ejemplo 38



(38)

5 El compuesto **(38)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo de color beige (60 mg, 0,105 mmol, 44%).

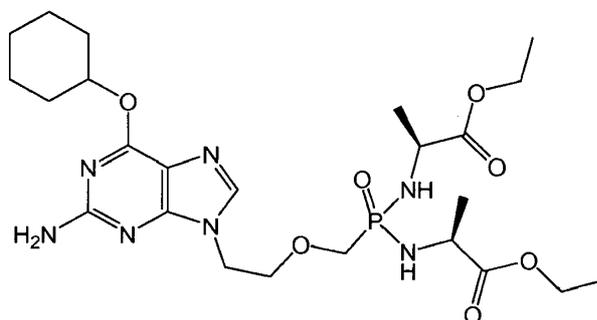
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,54 (m, 2H), 4,31 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 4,09 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H), 1,60 (m, 4H), 1,44 (m, 6H), 1,33 (m, 8H), 0,94 (m, 5H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,50.

LC/MS: t.r. = 2,10 min (3,5 min de realización), masa = 572 (M+1).

10 Los compuestos 39 y 40 se prepararon a partir de **(6)** mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 39



(39)

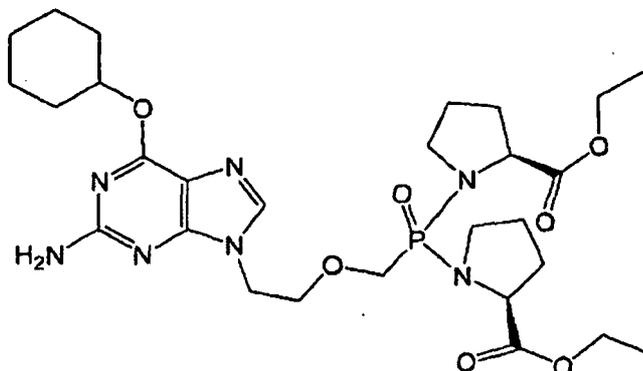
15 El compuesto **(39)** se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (49 mg, 0,086 mmol, 47%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,90 (s, 1H), 5,31 (m, 1H), 4,31 (m, 2H), 4,12 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,74 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 2H), 2,04 (m a, 2H), 1,85 (m a, 2H), 1,62 (m, 3H), 1,41 (m, 3H), 1,32 (m, 6H), 1,25 (m, 6H).

20  $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,53.

LC/MS: t.r. = 1,97 min (3,5 min de realización), masa = 570 (M+1).

## Ejemplo 40



El compuesto (40) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (70 mg, 0,113 mmol, 63 %).

5  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,42 (s, 1 H), 5,37 (m, 1 H), 4,40 (m, 2H), 4,12 (m, 6H), 3,91 (m, 4H), 3,23 (m, 2H), 3,12 (m, 2H), 2,11 (m, 4H), 1,83 (m, 8H), 1,65 (m, 3H), 1,34 (m, 3H), 1,24 (m, 6H)

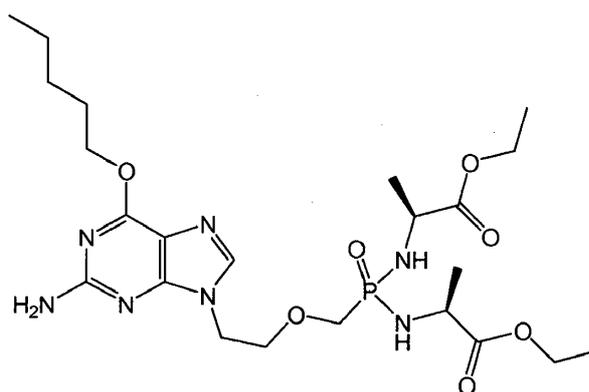
$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,38.

LC/MS: t.r. = 2,07 min (3,5 min de realización), masa = 622 (M+1).

Ejemplo 41 se preparó a partir de (7) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

10

## Ejemplo 41



(41)

El compuesto (41) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo de color amarillo pálido (54 mg, 0,097 mmol, 53%).

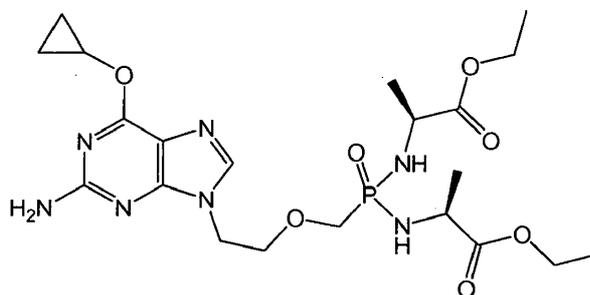
15  $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 4,13 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,6 Hz, 2H), 1,84 (m, 2H), 1,44 (m, 4H), 1,32 (m, 6H), 1,27 (m, 6H), 0,95 (t, J = 7,0 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,52.

LC/MS: t.r. = 2,01 min (3,5 min de realización), masa = 558 (M+1).

20 Los compuestos 42 a 44 se prepararon a partir de (8) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 42



(42)

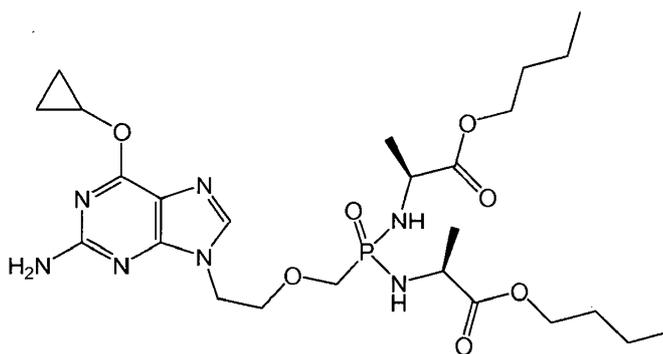
El compuesto (42) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (57 mg, 0,108 mmol, 52%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,54 (m, 1H), 4,32 (t,  $J$  = 4,8 Hz, 2H), 4,14 (m, 4H), 3,90 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 9,2 Hz, 2H), 1,32 (m, 6H), 1,25 (m, 6H), 0,83 (m, 4H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,51.

LC/MS: t.r. = 1,94 min (3,5 min de realización), masa = 528 (M+1).

## Ejemplo 43



(43)

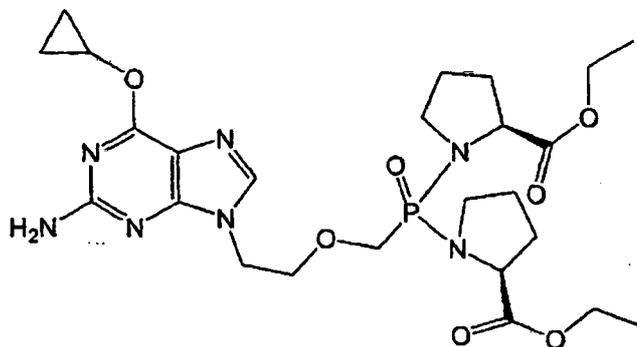
El compuesto (43) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo de color beige (89 mg, 0,152 mmol, 73%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,93 (s, 1H), 4,54 (m, 1H), 4,32 (t,  $J$  = 5,0 Hz, 2H), 4,10 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H), 1,60 (m, 4H), 1,39 (m, 4H), 1,33 (m, 6H), 0,95 (m, 6H), 0,83 (m, 4H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,49.

LC/MS: t.r. = 2,36 min (3,5 min de realización), masa = 584 (M+1).

## Ejemplo 44



(44)

El compuesto (44) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo pálido (61 mg, 0,105 mmol, 51 %).

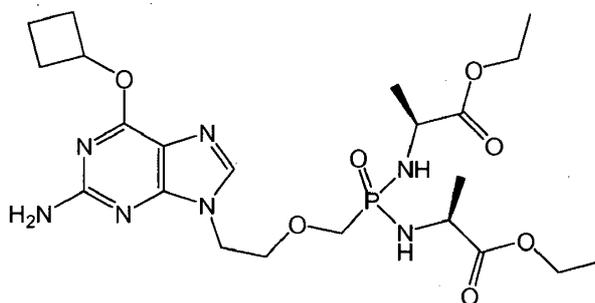
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,60 (s, 1H), 4,62 (m, 1 H), 4,43 (m, 2H), 4,11 (m a, 6H), 3,91 (m, 4H), 3,21 (m, 3H), 2,10 (m, 3H), 1,80 (m, 6H), 1,23 (m, 6H), 0,87 (s, 4H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,38, 24,49.

LC/MS: t.r. = 2,10 min (3,5 min de realización), masa = 572 (M+1).

El Ejemplo 45 se preparó a partir de (9) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 45



(45)

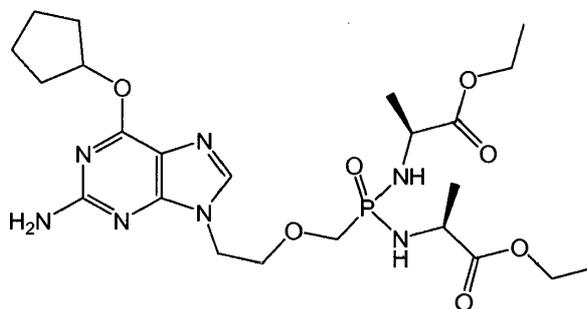
El compuesto (45) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo de color amarillo pálido (41 mg, 0,097 mmol, 53%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 5,41 (m, 1H), 4,31 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 4,12 (m, 4H), 3,88 (m, 4H), 3,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 2,50 (m, 2H), 2,23 (m, 2H), 1,88 (m, 1H), 1,72 (m, 1H), 1,31 (m, 6H), 1,23 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,52.

LC/MS: t.r. = 1,82 min (3,5 min de realización), masa = 542 (M+1). Los compuestos 46 y 47 se prepararon a partir de (10) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 46

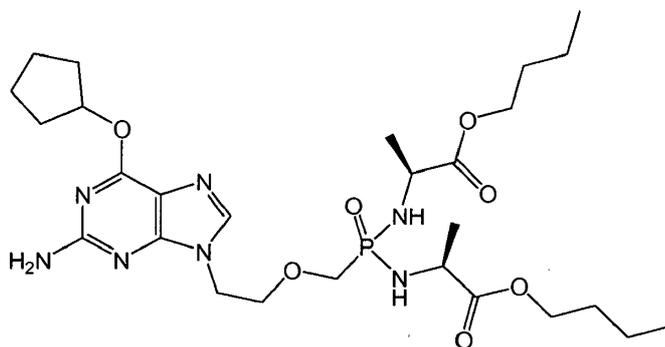


(46)

- 5 El compuesto (46) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo pálido (56 mg, 0,101 mmol, 56%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,90 (s, 1H), 5,66 (m, 1H), 4,31 (t,  $J$  = 4,8 Hz, 2H), 4,12 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 9,1 Hz, 2H), 2,01 (m, 2H), 1,87 (m, 4H), 1,68 (m, 2H), 1,32 (m, 6H), 1,23 (m, 6H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,53.

10 LC/MS: t.r. = 1,88 min (3,5 min de realización), masa = 556 (M+1).

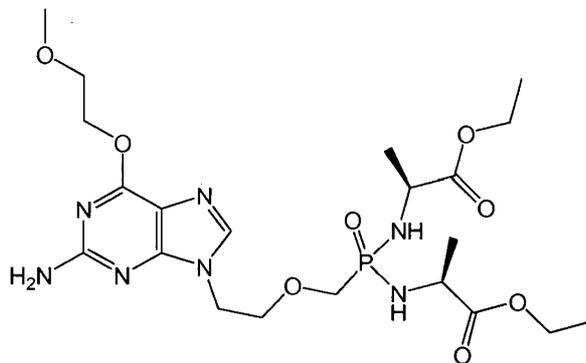
## Ejemplo 47



(47)

- 15 El compuesto (47) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo (105 mg, 0,171 mmol, 72%).  
 $^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,91 (s, 1H), 5,67 (s a, 1H), 4,31 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 4,08 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,75 (d,  $J$  = 8,3 Hz, 2H), 3,22 (m, 4H), 2,01 (m, 2H), 1,88 (m, 3H), 1,62 (m, 3H), 1,39 (m, 4H), 1,32 (m, 6H), 0,96 (m, 6H).  
 $^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,50.
- 20 LC/MS: t.r. = 2,28 min (3,5 min de realización), masa = 612 (M+1).  
 Los compuestos 48 y 49 se prepararon a partir de (11) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 48



(48)

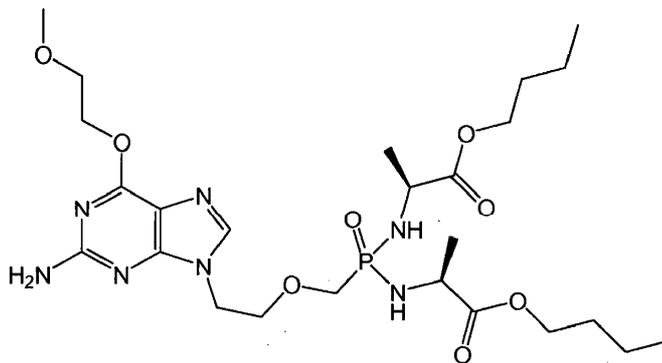
El compuesto (48) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido vítreo incoloro (103 mg, 0,189 mmol, 69%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,92 (s, 1H), 4,62 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 4,14 (m, 4H), 3,90 (m, 4H), 3,81 (m, 2H), 3,75 (d, J = 9,2 Hz, 2H), 3,41 (s, 3H), 1,32 (m, 6H), 1,24 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,52.

LC/MS: t.r. = 1,67 min (3,5 min de realización), masa = 546 (M+1).

## Ejemplo 49



(49)

El compuesto (49) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo (85 mg, 0,141 mmol, 52%).

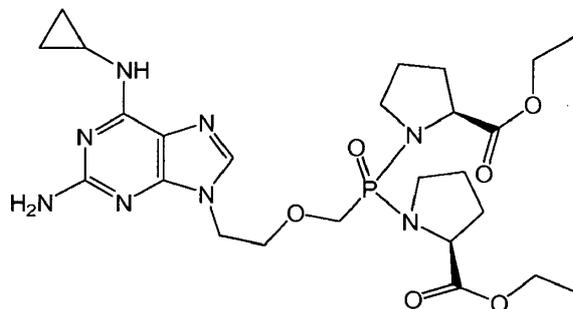
$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,93 (s, 1H), 4,61 (t, J = 4,7 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 4,8 Hz, 2H), 4,09 (m, 4H), 3,89 (m, 4H), 3,80 (m, 2H), 3,75 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 3,41 (s, 3H), 1,60 (m, 4H), 1,33 (m, 10H), 0,94 (m, 6H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,50.

LC/MS: t.r. = 2,09 min (3,5 min de realización), masa = 602 (M+1).

Los compuestos 50 y 51 se prepararon a partir de (12) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 13.

## Ejemplo 50



(50)

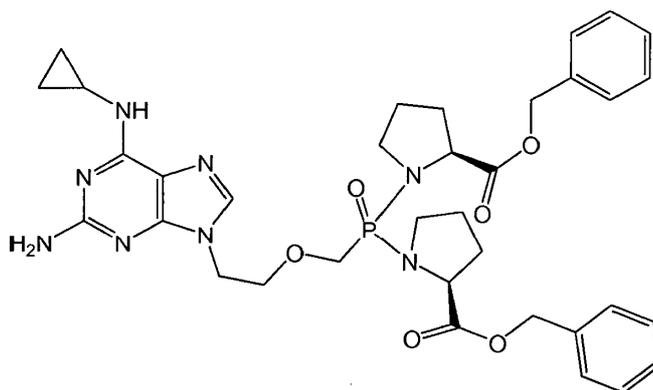
El compuesto (50) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (22 mg, 0,038 mmol, 18%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,77 (s, 1H), 4,27 (m, 2H), 4,13 (m a, 6H), 3,85 (m, 4H), 3,18 (m, 4H), 2,92 (m, 1H), 2,10 (m, 2H), 1,45-1,90 (m a, 6H), 1,23 (m, 6H), 0,85 (m, 2H), 0,60 (m, 2H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,38.

LC/MS: t.r. = 2,09 min (3,5 min de realización), masa = 579(M+1).

## Ejemplo 51



(51)

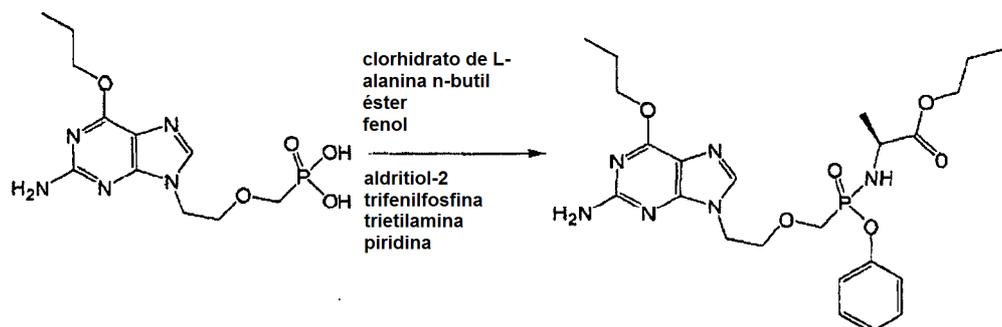
El compuesto (51) se aisló por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo pálido (40 mg, 0,057 mmol, 27%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,70 (s, 1H), 7,34 (m, 10H), 5,09 (m, 4H), 4,16 (m, 4H), 3,6-3,9 (m a, 4H), 3,12 (m, 4H), 2,92 (m, 1H), 2,05 (m, 2H), 1,89 (m, 2H), 1,73 (m, 4H), 0,84 (m, 2H), 0,59 (m, 2H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  23,36.

LC/MS: t.r. = 2,04 min (3,5 min de realización), masa = 703 (M+1).

## Ejemplo 52



(52)

Se pesaron ácido [[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-fosfónico, bis(1-metiletil)éster (78 mg, 0,239 mmol, 1 equiv.), fenol (112 mg, 1,193 mmol, 5 equiv.), y clorhidrato de L-alanina n-butil éster (78 mg, 0,43 mmol, 1,8 equiv.) en un matraz pequeño y se purgaron con N<sub>2</sub>. Se añadió piridina (1 ml) y la reacción se calentó a 60 °C con agitación. Se añadió una solución de alditriol-2 (368 mg, 1,67 mmol, 7 equiv.), triphenilfosfina (438 mg, 1,67 mmol, 7 equiv.) y trietilamina (400 µl, 2,86 mmol, 12 equiv.) en 1,5 ml de piridina. La reacción se agitó a 60 °C en una atmósfera de N<sub>2</sub> durante una noche. Después, la reacción se concentró para dar un sólido y se puso a alto vacío durante 1 hora para retirar piridina residual. La cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15 % en diclorometano) proporcionó el producto deseado en forma de un sólido de color amarillo pálido (70 mg, 0,131 mmol, 55 %).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,90 (d, J = 6,7 Hz, 1 H), 7,29 (m, 2H), 7,16 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,44 (m, 2H), 4,32 (m, 2H), 4,04 (m, 3H), 3,94 (m, 4H), 1,86 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,35 (m a, 4H), 1,23 (m, 2H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 0,92 (m, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,885, 24,02 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,18 min (3,5 min de realización), masa = 535 (M+1).

Los diastereómeros se separaron por HPLC preparativa quiral, usando una columna Chiral-Pak AS y 50:50 de fase móvil de metanol:etanol.

El isómero B (**52b**) (el primer isómero en eluir de la columna) se aisló después de la retirada del disolvente en forma de un sólido de color blanco (70 mg).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,88 (s, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,32 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 4,05 (m, 3H), 3,90 (m, 4H), 1,86 (m, 2H), 1,58 (m, 2H), 1,35 (m, 4H), 1,23 (d, J = 7,3 Hz, 3H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 0,91 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 24,02.

LC/MS: t.r. = 2,18 min (3,5 min de realización), masa = 535 (M+1).

El isómero A (**52a**) (el segundo isómero en eluir de la columna) se aisló después de la retirada del disolvente en forma de un sólido de color blanco (65 mg).

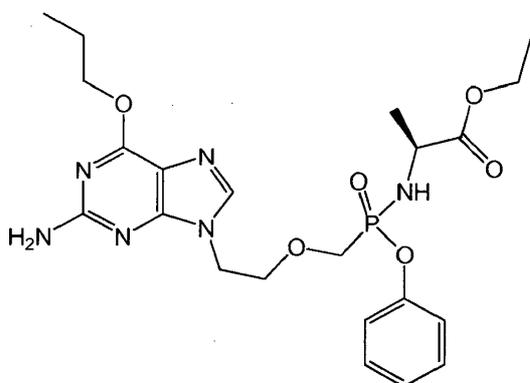
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,90 (s, 1H), 7,29 (m, 2H), 7,16 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,33 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 4,05 (m, 3H), 3,94 (m, 4H), 1,86 (m, 2H), 1,60 (m, 2H), 1,35 (m, 2H), 1,23 (d, J = 7,3 Hz, 3H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H), 0,91 (t, J = 7,3 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,88.

LC/MS: t.r. = 2,18 min (3,5 min de realización), masa = 535 (M+1).

Los compuestos 53 a 57 se prepararon a partir del Ejemplo 1 mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 52.

## Ejemplo 53



(53)

5 El compuesto (53) se sintetizó de manera análoga al Ejemplo 52 y se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanquecino (15 mg, 0,030 mmol, 10%).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,89 (d, J = 6,1 Hz, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,45 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 4,08 (m, 2H), 3,95 (m, 5H), 1,87 (m, 2H), 1,23 (m, 6H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,895, 24,04 (diastereómeros).

10 LC/MS: t.r. = 2,14 min (3,5 min de realización), masa = 507 (M+1).

Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral preparativa, usando una columna Chiral-Pak OJ y 70:30 de fase móvil de heptano:isopropanol.

Isómero B (53b)

15 La HPLC quiral preparativa proporcionó el Isómero B (el primer isómero en eluir de la columna) en forma de un sólido de color blanco, 71 mg.

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,88 (s, 1H), 7,26 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,04 (m, 2H), 4,45 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,31 (t, J = 5,1 Hz, 2H), 4,09 (m, 2H), 3,90 (m, 5H), 1,86 (m, 2H), 1,21 (m, 6H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

20 <sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,89.

LC/MS: t.a. = 2,14 min (3,5 min de realización), masa = 507 (M+1).

Isómero A (53a)

25 La HPLC quiral preparativa proporcionó el Isómero A (el segundo isómero en eluir de la columna) en forma de un sólido de color blanco, 51 mg.

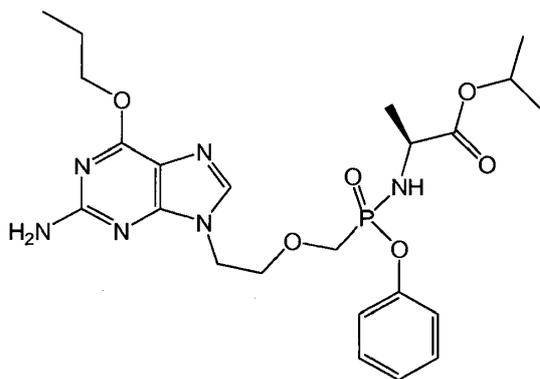
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,91 (s, 1H), 7,28 (m, 2H), 7,16 (m, 1H), 7,06 (m, 2H), 4,44 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,33 (t, J = 5,0 Hz, 2H), 4,07 (m, 2H), 3,94 (m, 5H), 1,86 (m, 2H), 1,21 (m, 6H), 1,06 (t, J = 7,4 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 24,04.

LC/MS: t.a. = 2,14 min (3,5 min de realización), masa = 507 (M+1).

30

## Ejemplo 54



(54)

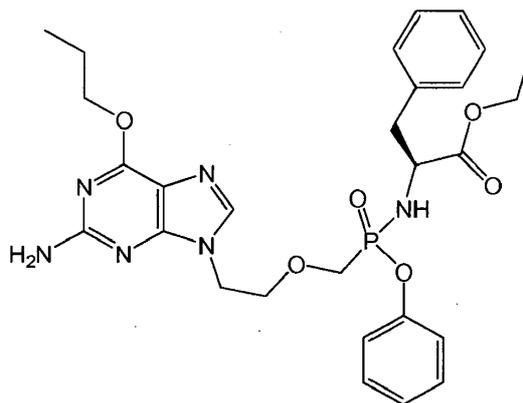
El compuesto **(54)** se sintetizó de manera análoga al Ejemplo 52 y se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color castaño (15 mg, 0,029 mmol, 10%).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,89 (d, J = 5,9 Hz, 1H), 7,27 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,90 (m, 1H), 4,43 (m, 2H), 4,31 (m, 2H), 3,95 (m, 5H), 1,87 (m, 2H), 1,22 (m, 9H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,96, 24,05 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,24 min (3,5 min de realización), masa = 521 (M+1).

### Ejemplo 55



**(55)**

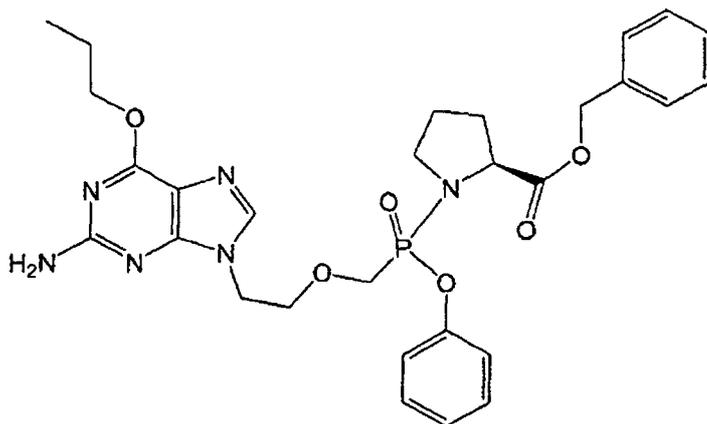
El compuesto **(55)** se sintetizó de manera análoga al Ejemplo 52 y se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color amarillo (25 mg, 0,043 mmol, 14%).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 23,21, 23,71 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,40 min (3,5 min de realización), masa = 583 (M+1).

### Ejemplo 56



**(56)**

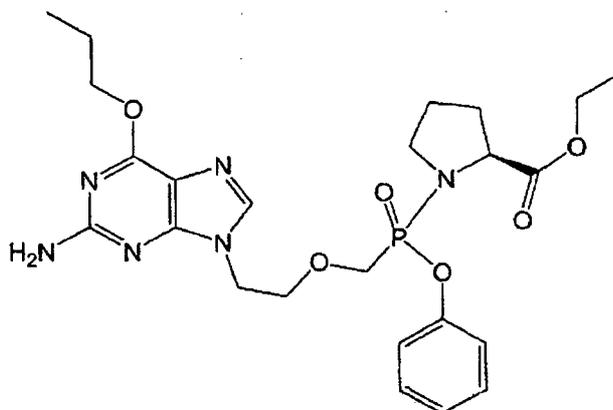
El compuesto **(56)** se sintetizó de manera análoga al Ejemplo 52 y se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido vítreo incoloro (11 mg, 0,0185 mmol, 4 %).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,88 (s= 1H), 7,33 (m a, 7H), 7,16 (m, 1H), 7,03 (m, 2H), 5,10 (m, 2H), 4,43 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 4,32 (m, 3H), 4,05 (m, 1H), 3,85 (m, 4H), 3,07 (m, 2H), 2,03 (m, 1H), 1,5 (m, 4H), 1,05 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 21,84, 22,72 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,23 min (3,5 min de realización), masa = 595 (M+1).

## Ejemplo 57



(57)

El compuesto (57) se sintetizó de forma análoga al Ejemplo 52 y se aisló mediante cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15 % en diclorometano) en forma de un sólido vítreo incoloro (10 mg, 0,019 mmol, 6 %).

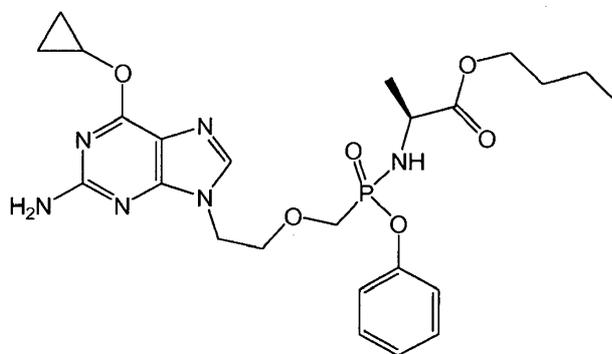
<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,89 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,31 (m, 2H), 7,17 (m, 1H), 7,04 (m, 2H), 4,44 (m, 2H), 4,33 (m, 3H), 4,12 (m, 3H), 3,97 (m, 4H), 3,10 (m, 2H), 2,00 (m, 1 H), 1,85 (m, 6H), 1,23 (m, 3H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 21,83, 22,79 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,00 min (3,5 min de realización), masa = 533 (M+1).

El Ejemplo 58 se preparó a partir de (8) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 52.

## Ejemplo 58



(58)

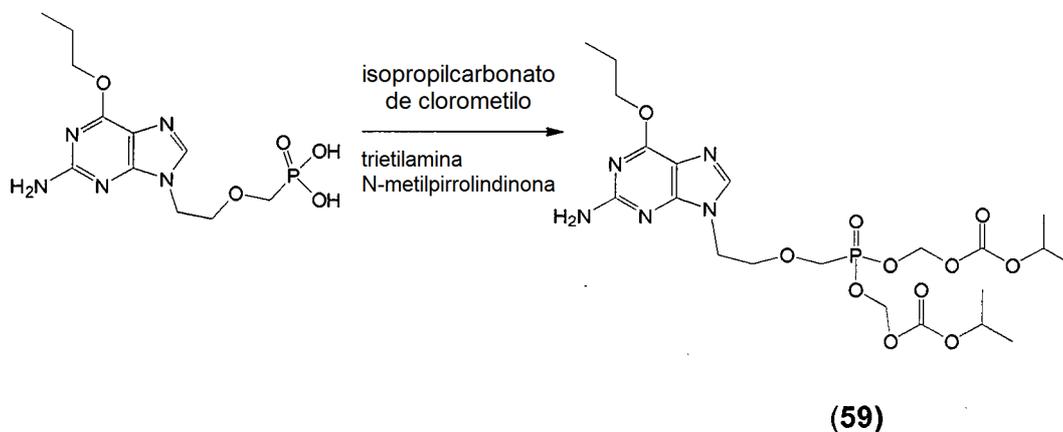
El compuesto (58) se sintetizó de manera análoga al Ejemplo 52 y se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un sólido de color blanco (62 mg, 0,116 mmol, 56%).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 7,89 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 7,29 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 2H), 4,55 (m, 1H), 4,33 (m, 2H), 4,08 (m, 2H), 3,96 (m, 5H), 1,58 (m, 2H), 1,37 (m, 2H), 1,23 (d, J = 7,1 Hz, 3H), 0,93 (m, 3H), 0,83 (m, 4H).

<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 22,87, 24,004 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,30 min (3,5 min de realización), masa = 533 (M+1).

## Ejemplo 59



5 Se pesaron ácido [[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-fosfónico, bis(1-metiletil)éster (140 mg, 0,423 mmol, 1 equiv.) en un matraz pequeño y se purgaron con N<sub>2</sub>. Se añadieron N-metilpirrolidinona (1 ml) y trietilamina (295 µl, 2,115 mmol, 5 equiv.) y la reacción se calentó a 60 °C con agitación. Una vez que se formó una solución transparente, se añadió isopropil carbonato de clorometilo (324 mg, 2,115 mmol, 5 equiv.). La reacción se agitó a 60 °C en una atmósfera de N<sub>2</sub> durante tres horas y después se repartió entre acetato de etilo y agua. La capa acuosa se lavó tres veces con acetato de etilo, y las capas orgánicas combinadas se lavaron una vez con salmuera y se concentraron para dar un aceite que se puso a alto vacío durante 1 hora. La cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) proporcionó el producto deseado **(59)** en forma de un aceite de color amarillo pálido (12 mg, 0,021 mmol, 5%).

<sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

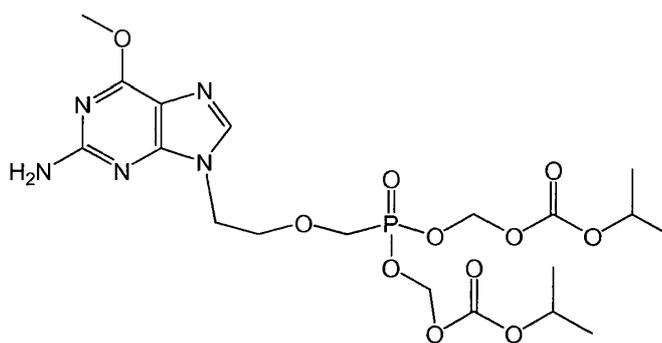
15 <sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 21,29.

LC/MS: t.a. = 2,34 min (3,5 min de realización), masa = 564 (M+1).

El Ejemplo 60 se preparó a partir de (2) mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 59.

## Ejemplo 60

20

**(60)**

El Ejemplo **60** se aisló por cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un aceite viscoso incoloro (10 mg, 0,019 mmol, 10%).

25 <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t, J = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

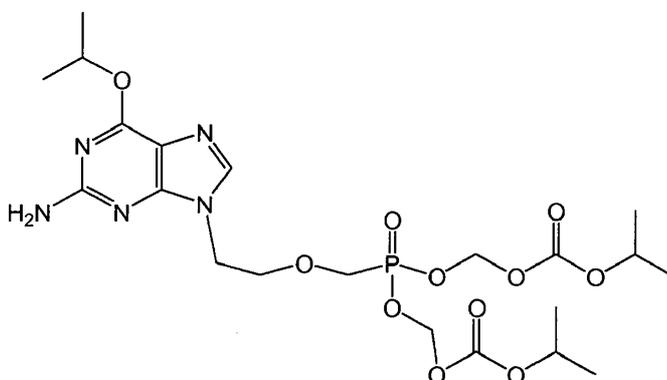
<sup>31</sup>P RMN (75 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 21,28.

LC/MS: t.r. = 2,07 min (3,5 min de realización), masa = 536 (M+1).

El Ejemplo 61 se preparó a partir del compuesto del Ejemplo 3 mediante el mismo procedimiento que se ha descrito en el Ejemplo 59.

30

## Ejemplo 61



(61)

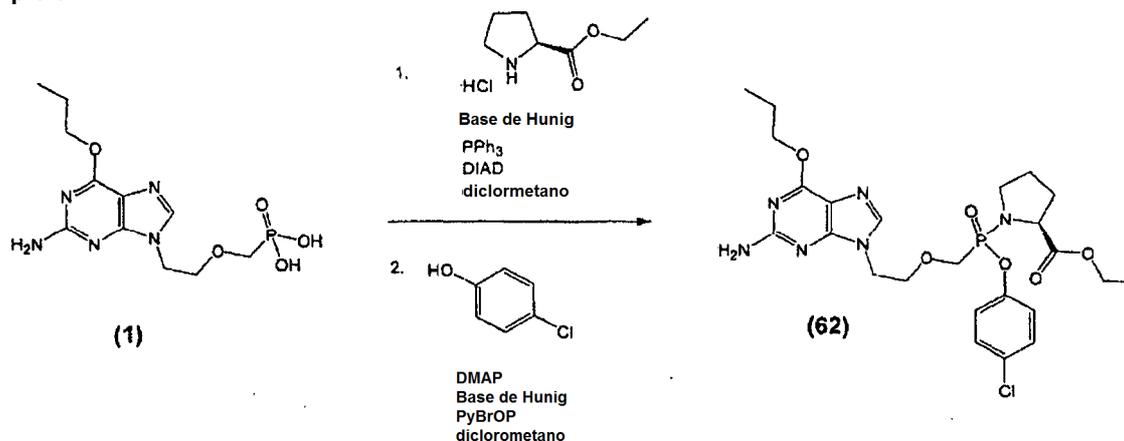
Se aisló (61) por cromatografía en columna ( $\text{SiO}_2$ , MeOH al 0-15% en diclorometano) en forma de un aceite viscoso incoloro (10 mg, 0,019 mmol, 10%).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 8,20 (s, 1H), 4,48 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2H), 4,36 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,91 (t,  $J$  = 4,9 Hz, 2H), 3,70 (d,  $J$  = 8,9 Hz, 2H), 1,87 (m, 2H), 1,07 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  21,28.

LC/MS: t.r. = 2,07 min (3,5 min de realización), masa = 536 (M+1).

## Ejemplo 62

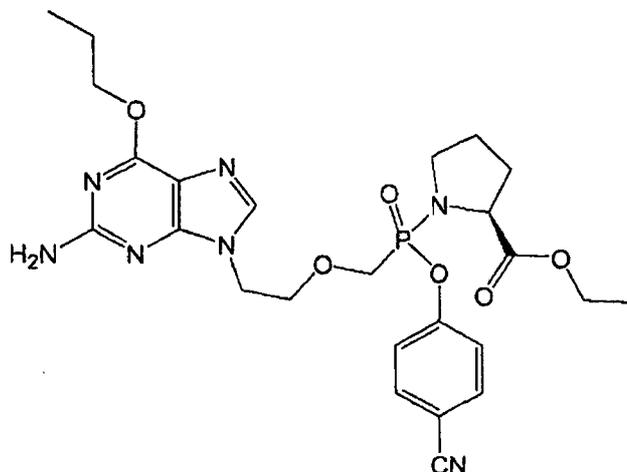


Se pesó trifetilfosfina (60 mg, 0,23 mmol, 1,25 equiv.) en un matraz pequeño, se purgó con  $\text{N}_2$  y después se disolvió en 2 ml diclorometano. A continuación se añadió azodicarboxilato diisopropilo (DIAD, 46 mg, 0,23 mmol, 1,25 equiv.) y después se añadió clorhidrato de L-prolina etil éster (165 mg, 0,92 mmol, 5 equiv.). Se añadió N,N-diisopropiletilamina (200  $\mu\text{l}$ , ~1,1 mmol, ~6 equiv.) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Se pesó ácido [[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-fosfónico, bis(1-metiletil)éster (61 mg, 0,184 mmol, 1 equiv.) en un matraz pequeño y se purgó con  $\text{N}_2$ . Después, la mezcla de reactivos se añadió rápidamente al matraz que contenía ácido [[2-(2-amino-6-cloro-9H-purin-9-il)etoxi]metil]-fosfónico, bis(1-metiletil)éster y la reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de  $\text{N}_2$  durante 2 horas. Después, la reacción se concentró para dar un aceite, se disolvió de nuevo en metanol, y el intermedio se aisló de esta solución mediante HPLC de fase inversa en forma de un sólido de color blanco (30 mg, 0,066 mmol, 36 %). Se pesaron P-clorofenol (17 mg, 0,132 mmol, 2 equiv.), DMAP (4 mg, 0,033 mmol, 0,5 equiv.) y PyBroP (62 mg, 0,132 mmol, 2 equiv.) en el matraz que contenía el intermedio. Este matraz se purgó con  $\text{N}_2$  y después se añadieron 1 ml de diclorometano y N,N-diisopropiletilamina (69  $\mu\text{l}$ , 0,396 mmol, 6 equiv.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, la reacción se concentró para dar un aceite y se disolvió de nuevo en metanol. El compuesto 62 se aisló de esta solución mediante HPLC de fase inversa en forma de un sólido de color blanco (8 mg, 0,014 mmol, 8 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,89 (d,  $J$  = 9 Hz, 1H), 7,30 (m, 2H), 7,11 (m, 2H), 4,44 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 4,13 (m, 3H), 3,96 (m, 3H), 3,17 (m, 2H), 2,01 (m, 1H), 1,86 (m, 6H), 1,23 (m, 3H), 1,06 (t,  $J$  = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  22,33, 23,31 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,98 min (6 min de realización), masa = 568 (M+1).

**Ejemplo 63****(63)**

El compuesto (63) se preparó mediante el mismo método que se ha descrito en el Ejemplo 62, con la excepción de que se sustituyó p-clorofenol por p-cianofenol. El compuesto (63) se aisló mediante HPLC de fase inversa en forma de un sólido de color blanco (31 mg, 0,056 mmol, 18 %).

$^1\text{H}$  RMN (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  = 7,90 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,70 (d, J = 9 Hz, 2H).

7,31 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 4,44 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 4,12 (m, 4H), 4,00 (m, 2H), 3,20 (m, 2H), 2,02 (m, 1H), 1,85 (m, 6H), 1,23 (m, 3H), 1,06 (t, J = 7,5 Hz, 3H).

$^{31}\text{P}$  RMN (75 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  22,66, 23,72 (diastereómeros).

LC/MS: t.r. = 2,98 min (6 min de realización), masa = 558 (M+1).

**Ejemplo 64**Ensayo citostático de cultivo celular ( $\text{GI}_{50}$ )

El ensayo se basa en la cuantificación del recuento celular mediante la detección colorimétrica de las proteínas asociadas a células. El ensayo se basa en la capacidad de la sulforodamina B (SRB) para unirse a componentes de proteínas de las células que se han fijado en placas de cultivos de tejidos mediante ácido tricloroacético (TCA). SRB es un colorante de aminoxanteno de color rosa brillante con dos grupos sulfónicos que se unen a restos de aminoácidos básicos en condiciones levemente ácidas, y se disocian en condiciones básicas. Dado que la unión de SRB es estequiométrica, la cantidad de colorante extraído de las células teñidas es directamente proporcional a la masa de células.

Líneas celulares: Se obtuvieron todas las líneas celulares de la ATCC (Manassas, VA). El medio de cultivo que contenía Glutamax, y la tripsina, se adquirieron de Invitrogen (Carlsbad, CA). Doxorrubicina, Clofarabina, TCA y SRB eran de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO). Gemcitabina se obtuvo de Moravek Biochemicals (Brea, CA).

## Protocolo del ensayo:

1. Mantener las líneas celulares en el medio relacionado en la Tabla 1. Tripsinizar las células subconfluentes, hacer el recuento de las mismas, y ajustar las concentraciones de células de acuerdo con los recuentos relacionados en la Tabla 1.

2. Distribuir las células en las placas de 96 pocillos en 150  $\mu\text{l}$  de medio. Incubar las placas durante la noche en una incubadora humidificada con  $\text{CO}_2$  a 37  $^\circ\text{C}$ .

3. Fijar una placa de cada línea celular con TCA. Descartar el medio de cultivo de las placas haciéndolas oscilar de forma rápida suavemente y añadir 100  $\mu\text{l}$  fríos de TCA al 10 % (vol/vol). Incubar las placas en un refrigerador a 4 grados durante 1 hora. Descartar el TCA de las placas haciéndolas oscilar de forma rápida suavemente. Enjuagar las placas cuatro veces en una bañera de lavado que contiene agua corriente. Almacenar las placas a temperatura ambiente. Estas placas representan los recuentos celulares en el día cero.

4. Preparar un conjunto de soluciones de medio que contienen diversas concentraciones de los compuestos ensayados preparando diluciones en serie 5 veces en placas de 96 pocillos. Añadir 50  $\mu\text{l}$  de los compuestos diluidos por pocillo, Incluir controles con células no tratadas y células tratadas con doxorrubicina, clorafabina y

gemcitabina.

5. Incubar las placas durante 5 días a 37 °C.

5 6. Fijar las placas con TCA. Descartar el medio de cultivo de las placas haciéndolas oscilar de forma rápida suavemente. Enjuagar las placas cuatro veces en una bañera de lavado que contiene agua corriente.

7. Eliminar el exceso de agua golpeando las placas boca abajo, suavemente sobre un papel secante. Permitir que las placas se sequen al aire a temperatura ambiente.

10 8. Añadir 100 ul de solución de SRB al 0,057 % en ácido acético al 1 % (vol/vol) a cada pocillo de las placas fijadas con TCA en los días cero y cinco. Mantener a temperatura ambiente durante 30 minutos.

15 9. Hacer oscilar las placas de forma rápida suavemente para descartar el SRB. Enjuagar las placas cuatro veces con ácido acético al 1 % (vol/vol).

10. Almacenar las placas en una incubadora a 37 grados para facilitar un secado más rápido.

20 11. Una vez que las placas están completamente secas, añadir 200 ul de solución base de Tris 10 mM (pH 10,5) a cada pocillo. Mantener a temperatura ambiente durante 30 minutos para solubilizar el SRB.

12. Medir la DO a 500 nm en un lector de microplacas.

25 13. Calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento celular usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de crecimiento de células del control} = 100 \times (\text{DO}_{\text{muestra}} - \text{DO}_{\text{día 0 promedio}}) / (\text{DO}_{\text{control neg}} - \text{DO}_{\text{día 0 promedio}})$$

30 Para la determinación de GI<sub>50</sub> se puede derivar una representación gráfica de una curva de dosis-respuesta entre la concentración del compuesto y el porcentaje de inhibición del crecimiento. Se pueden derivar los valores de GI<sub>50</sub> ajustando las curvas de dosis respuesta utilizando la ecuación sigmoideal de dosis respuesta.

LÍNEA CELULAR	Medio	Densidad de Siembra	Agente de Disociación
HCT 116	RPMI, 10 % FBS, 1 x Pen/Strep	800 células/pocillo	Tripsina
HCT 15	RPMI, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	1600 células/pocillo	Tripsina
BT549	RPMI, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	4000 células/pocillo	Tryple Express (Invitrogen)
HS 578	RPMI, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	4000 células/pocillo	Tryple Express (Invitrogen)
PC3	F12K, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	2500 células/pocillo	Tripsina
DU145	MEM, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	800 células/pocillo	Tripsina
H23	RPMI, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	6000 células/pocillo	Tripsina
A549	RPM1, FBS al 10 %, 1 x Pen/Strep	1500 células/pocillo	Tripsina

La siguiente tabla muestra que los compuestos de la presente invención inhiben el crecimiento de las células cancerosas.

Compuesto	GI <sub>50</sub> (µM)							
	HCT-116	HCT-15	BT-549	Hs-578	PC3	Du-145	NCI-H23	A549
Ejemplo 1	1,10	0,886	0,900	3,81	1,10	0,076	0,287	1,24
Ejemplo 2	5,9	4,65	4,87	2,01	3,70	0,475	0,589	2,42
Ejemplo 3	2,44	2,53	2,48	2,45	1,38	0,177	0,551	2,98
Ejemplo 4	3,13	2,98	3,76	3,32	1,44	0,235	0,633	4,54
Ejemplo 5	3,59	2,44	2,00	2,59	2,48	0,223	0,639	2,84
Ejemplo 6	>10	13	17	11	3,01	0,439	6,0	>10
Ejemplo 7	2,45	2,61	2,57	1,57	0,595	0,101	0,596	3,36
Ejemplo 8	5,4	4,14	2,71	3,34	2,83	0,536	0,675	2,82
Ejemplo 9	1,72	1,22	1,55	1,55	0,955	0,077	0,359	1,83
Ejemplo 10	1,79	2,38	2,99	2,26	1,01	0,054	0,603	3,06
Ejemplo 11	11	>10	>10	5,1	3,76	0,805	1,98	11
Ejemplo 12	38	38	70	18	6,1	1,23	2,19	35
Ejemplo 13	0,013	1,09	0,061	0,105	0,011	0,002	0,004	0,052
Ejemplo 14	0,488	>10	0,266	0,202	0,275	0,028	0,029	0,381
Ejemplo 15	0,018	1,28	0,102	0,112	0,026	0,003	0,007	0,081
Ejemplo 16	1,32	10	1,83	0,870	0,591	0,067	0,092	0,736
Ejemplo 17	0,004	0,336	0,017	0,005	0,006	0,001	0,002	0,005

ES 2 529 209 T3

Ejemplo 18	9,0	24	7,6	9,1	5,4	1,28	2,33	9,9
Ejemplo 19	0,005	0,467	0,053	0,005	0,010	0,001	0,001	0,004
Ejemplo 20	0,264	2,35	0,167	0,132	0,111	0,027	0,030	0,530
Ejemplo 21	0,041	6,7	0,033	0,017	0,026	0,002	0,002	0,128
Ejemplo 22	0,194	>10	0,116	0,082	0,121	0,035	0,038	0,640
Ejemplo 23	0,028	2,47	0,007	0,004	0,011	0,001	0,003	0,317
Ejemplo 24	0,979	>10	0,386	0,452	0,634	0,138	0,124	3,82
Ejemplo 25	0,043	1,49	0,015	0,008	0,016	0,002	0,002	0,450
Ejemplo 26	0,119	1,95	0,067	0,097	0,081	0,002	0,009	1,05
Ejemplo 27	0,023	2,37	0,033	0,053	0,013	0,002	0,004	0,026
Ejemplo 28	0,859	<10	0,573	0,380	0,381	0,047	0,028	0,736
Ejemplo 29	0,988	>10	1,11	0,378	0,325	0,029	0,032	0,387
Ejemplo 30	0,027	1,90	0,023	0,017	0,103	0,003	0,010	0,036
Ejemplo 31	0,006	0,604	0,020	0,005	0,016	0,001	0,002	0,006
Ejemplo 32	22	>10	>10	6,6	8,0	1,49	2,62	11
Ejemplo 33	0,652	>10	0,423	0,243	0,190	0,018	0,019	0,762
Ejemplo 34	0,055	2,65	0,195	0,031	0,021	0,004	0,005	0,041
Ejemplo 35	0,140	8,9	0,145	0,046	0,028	0,005	0,014	0,187
Ejemplo 36	0,007	0,869	0,120	0,011	0,003	0,000	0,002	0,013
Ejemplo 37	0,509	>10	0,292	0,198	0,146	0,023	0,031	0,458
Ejemplo 38	0,012	0,799	0,053	0,020	0,002	0,001	0,002	0,017
Ejemplo 39	1,48	>10	2,65	0,697	0,141	0,102	0,198	3,19
Ejemplo 40	2,44	>10	1,78	0,276	0,109	0,074	0,252	8,8
Ejemplo 41	0,133	6,4	0,301	0,062	0,010	0,001	0,011	0,195
Ejemplo 42	0,430	10	0,104	0,162	0,237	0,010	0,015	1,71
Ejemplo 43	0,011	1,52	0,017	0,032	0,032	0,000	0,001	0,102
Ejemplo 44	0,154	9,1	0,016	0,026	0,183	0,003	0,227	1,25
Ejemplo 45	0,372	8,3	0,269	0,174	0,113	0,008	0,022	0,451
Ejemplo 46	0,269	6,3	0,286	0,096	0,085	0,017	0,023	0,474
Ejemplo 47	0,055	1,81	0,326	0,050	0,008	0,001	0,004	0,103
Ejemplo 48	2,52	>10	1,71	0,976	0,372	0,108	0,061	4,09
Ejemplo 49	0,109	5,1	0,050	0,025	0,003	0,001	0,002	0,368
Ejemplo 50	3,07	>10	1,62	0,308	0,608	0,250	0,118	3,70
Ejemplo 51	0,850	8,5	0,527	0,096	0,214	0,256	0,263	1,67
Ejemplo 52a	0,043	0,553	0,105	0,013	0,008	0,0003	0,0009	0,048
Ejemplo 52b	0,011	0,517	0,100	0,002	0,003	0,0003	0,001	0,015
Ejemplo 53a	0,154	2,11	0,249	0,062	0,031	0,002	0,005	0,268
Ejemplo 53b	0,329	2,04	0,564	0,177	0,180	0,014	0,070	0,647
Ejemplo 54	0,840	2,77	1,77	0,894	0,472	0,065	0,067	0,317
Ejemplo 55	0,047	0,815	0,756	0,149	0,059	0,004	0,009	0,080
Ejemplo 56	1,93	3,86	1,09	1,49	1,25	0,722	0,389	2,13
Ejemplo 57	1,61	5,2	1,12	1,11	0,696	0,372	0,241	2,42
Ejemplo 58	0,114	1,03	0,585	0,042	0,060	0,001	0,003	0,204
Ejemplo 59	0,118	0,534	0,045	0,061	0,040	0,002	0,010	0,168
Ejemplo 60	0,079	0,766	0,042	0,022	0,052	0,002	0,005	0,091
Ejemplo 61	0,370	0,671	0,057	0,038	0,071	0,002	0,010	0,319
Ejemplo 62	2,79	10,0	4,44	1,07	0,044	0,001	0,049	1,87
Ejemplo 63	0,184	3,35	0,282	0,007	0,002	0,001	0,001	0,014

Ensayo de cultivo para determinar la citotoxicidad celular (CC<sub>50</sub>):

- 5 El ensayo se basa en la cuantificación del número de células midiendo los niveles de ATP intracelular. La luciferasa recombinante Ultra-Glo, en presencia de ATP celular, convierte la luciferina de escarabajo en oxilucifera y luminiscencia, que es proporcional al número de células, lo que se registra.

- 10 *Materiales:* la línea celular MT4 se obtuvo de la ATCC (Manassas, VA). El medio de cultivo, HEPES y la albúmina de suero de ternera se adquirieron de Invitrogen (Carlsbad, CA). Las placas de cultivo celular Nunc de 384 pocillos de color negro eran de VWR, y el ensayo de viabilidad celular mediante luminiscencia Cell Titer-Glo se adquirió de Promega.

Protocolo del ensayo para la determinación de CC<sub>50</sub>.

- 15 1. Mantener las líneas MT-4 en medio RPMI-1640 suplementado con suero de ternera al 10 %, Hepes 10 mM y antibióticos.

2. Preparar un conjunto de soluciones que contenían diferentes concentraciones de los inhibidores ensayados mediante diluciones en serie de cinco veces en una placa de 384 pocillos (20  $\mu$ l/pocillo) en el medio de cultivo. Distribuir las células en la placa de 384 pocillos (2000 células a 20  $\mu$ l/pocillo) Incluir muestras con células no tratadas como control.

3. Incubar las células durante 5 días en una incubadora humidificada con CO<sub>2</sub> a 37 °C.

4. Preparar la solución CellTiter Glo mezclando el sustrato CellTiter Glo con el tampón CellTiter Glo en la oscuridad. Añadir 40  $\mu$ l de la solución a cada pocillo.

5. Después de tres minutos de incubación, leer la quimioluminiscencia.

6. Representar gráficamente el porcentaje de luminiscencia con respecto al control sin tratar y estimar el valor de CC50 que da como resultado una inhibición del crecimiento del 50 %. Se considera que la luminiscencia es directamente proporcional al número de células.

Se ensayaron los compuestos (1)-(60) y se descubrió que tenían una toxicidad aceptable y mostraban actividad frente a las células tumorales.

### **Ejemplo 65**

Se evaluó la eficacia del compuesto (21) en un perro que padecía de manera natural un linfoma no Hodgkin (NHL). Se ha demostrado que el NHL canino es un modelo relevante de evaluación preclínica de nuevos tratamientos, tanto para la inducción inicial como para rescate en caso de recaídas en enfermos resistentes al fármaco (Reference Vail DM, Thamm DH. Spontaneously occurring tumors in companion animals as models for drug development. En: Teisher BA, ed. Anticancer Drug Development Guide. 2ª ed. Totowa (NJ): Humana Press Inc; 2004;259-286). La evaluación de nuevas soluciones terapéuticas en perros con cáncer espontáneo ofrece un beneficio potencial a los pacientes caninos y una evaluación rápida del índice terapéutico. Puesto que los tumores aparecen de forma espontánea en hospedadores inmunológicamente intactos y tienen mayor heterogeneidad que las líneas celulares pasadas de una placa a otra, no es sorprendente que las respuestas a los agentes antineoplásicos convencionales en neoplasias malignas caninas sean similares a las de los correspondientes tumores en el hombre, y que los resultados preclínicos conseguidos sean más predictivos de su actividad en seres humanos (referencias Khanna C, Paoloni M. Translation of new cancer treatments from pet dogs to humans. Nature Rev Cancer. 2008;8:7-16.; Vail DM, Young KM. Canine lymphoma and lymphoid leukemia. En: Withrow SJ, Vail DM, eds. Small Animal Clinical Oncology. 4ª Ed. St. Louis (MO): Saunders; 2007. p. 699-733). El linfoma no Hodgkin en perros representa una población relativamente homogénea con respecto al tipo histológico definido en los esquemas de REAL/OMS o la NCI-exposición (es decir, un 85 % son NHL de linfocitos B de grado medio a alto), donde la mayoría son linfomas de linfocitos B grandes y difusos (referencia, Jacobs RM, Messick JB, Valli VE. Tumors of the hemolymphatic system. En: Meuten DJ. Editor. Tumors in Domestic Animals. 4ª Ed. Ames (IA): Iowa State Press; 2002:119-198).

Los cánceres en perros mascota se caracterizan por un crecimiento de tumor durante periodos de tiempo prolongados en el marco de un sistema inmune intacto, heterogeneidad entre individuos e intratumoral, el desarrollo de una enfermedad recurrente resistente, y metástasis a puntos distantes relevantes. De esta forma, los cánceres en perros tienen la 'esencia' del problema del cáncer humano de una forma que no es posible con otros sistemas de modelos animales. Para muchos de estos cánceres, se observan similitudes con los cánceres humanos, incluyendo su aspecto histológico, genética del tumor, comportamiento biológico y respuesta a los tratamientos convencionales. El curso acelerado de la evolución del cáncer que se observa en perros permite la evaluación temporalizada de nuevos tratamientos contra el cáncer.

Se administró el compuesto (21) a una dosis de 0,3 mg/kg de peso corporal mediante una infusión IV de 30 minutos en medio salino para inyección (cloruro de sodio al 0,9 % para inyección) volumen total 2 ml/kg o 100 ml) una vez al día durante 21 días a un perro que padecía un linfoma no Hodgkin que afectaba varios ganglios linfáticos. El diagnóstico se confirmó mediante evaluación histológica del tumor. El efecto del tratamiento sobre el tumor se midió mediante la Guía de criterios de evaluación para tumores sólidos (RECIST) (Therasse et al. 2000). El tamaño de los tumores y la respuesta al tratamiento se evaluó en estos ganglios linfáticos periféricos accesibles midiendo la mayor dimensión usando calibres y evaluando los cambios en la medida de cada tumor individual y en la suma. La respuesta al tratamiento se demuestra por una reducción significativa en el tamaño del tumor a partir del Día 7 después del primer tratamiento, y que continuó con una mejora continuada hasta el día 42. La reducción en el tamaño del tumor, suma global de todos los tumores, se caracterizó como una Respuesta parcial (RP) si se observaba como mínimo una disminución del 30 % en la suma de las LD de las lesiones diana, tomando como referencia la suma inicial, y una Respuesta completa (RC) si los ganglios linfáticos volvían a sus límites normales. La confirmación se llevó a cabo mediante exploración citológica de una biopsia por aspiración para confirmar la ausencia de células tumorales.

El tratamiento con el compuesto (21) en este perro que padecía un linfoma no Hodgkin dio como resultado una respuesta parcial después de un tratamiento y, al continuar el tratamiento, dio como resultado una respuesta

completa con eliminación del tumor.

Perro tratado con el compuesto (21)

Ganglios linfáticos	Tratamiento N° 1 0,3 mg/kg				Tratamiento N° 2 0,3 mg/kg		Tratamiento N° 2 0,3 mg/kg
	Día 0 Pretratamiento	Día 1	Día 7	14	Día 21	Día 28	Día 21
L SMLN	3,1	2,0	1,1	1,0	2,3	1,5	WNL**
R SMLN	2,9	3,1	1,0	1,0	2,0	1,0	WNL
L PSLN	5,0	3,9	1,0	1,2	2,8	1,5	WNL
R PSLN	3,6	3,6	1,0	1,0	2,7	1,5	WNL
L PopLN	2,3	2,1	1,6	1,0	1,3		WNL
Suma (cm)	16,9	14,7	5,7	5,2	11,1	5,5	
Cambio		-2,2	-11,2	-11,7	-5,8	-11,4	
% cambio		<b>-13,0</b>	<b>-66,3</b>	<b>-69,2</b>	<b>-34,3</b>	<b>-67,5</b>	-100 %
Respuesta		SD	RP	RP	RP	RP	RC

\*\* WNL se refiere a un ganglio linfático que ha disminuido hasta un tamaño considerado en el intervalo normal para dicho ganglio

5

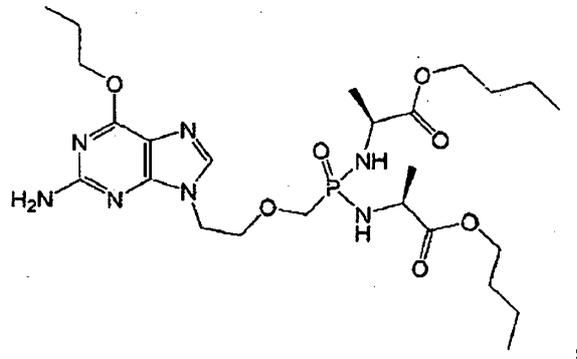
#### Abreviaturas

ATCC	Colección Americana de Cultivos Tipo
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
dt	doble de tripletes
Et	etilo
EDTA	ácido etilendiaminetetraacético
FAB	bombardeo por átomos rápidos
gem	geminal
HR	alta resolución
<i>i</i>	ipso
IR	espectroscopia por infrarrojos
m	multiplete
<i>m</i>	meta
Me	metilo
MeOH	metanol
MeONa	metóxido sódico
MS	espectrometría de masas
<i>v</i>	número de onda
RMN	resonancia magnética nuclear
<i>o</i>	orto
<i>p</i>	para
Ph	fenilo
PPh <sub>3</sub>	trifenilfosfina
Py	piridilo
pirr	pirrolilo
q	cuadruplete
rel.	relativo
TA	temperatura ambiente
s	singlete
sat.	saturado
sol.	solución
t	triplete
TBS	terc-butildimetilsililo
td	triplete de dobletes
TDA-1	tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina
THF	tetrahidrofurano
TFA	ácido trifluoroacético
TPPTS	trisulfonato trifenilfosfina sódico
Tr	trítulo, trifenilmetilo
vic	vecinal

HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
FBS	suero fetal bovino
RPMI	Royal Park Memorial Institute
TCA	ácido tricloroacético
DIAD	azaodicarboxilato de di- <i>is</i> opropilo
PyBOP	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio
DME	dimetoxietano
DCM	diclorometano
ACN	acetonitrilo
NaHNDS	hexametildisilazida sódica
SRB	sulforodamina B

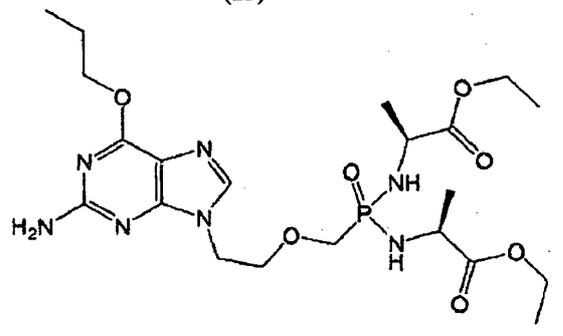
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado el grupo que consiste en:

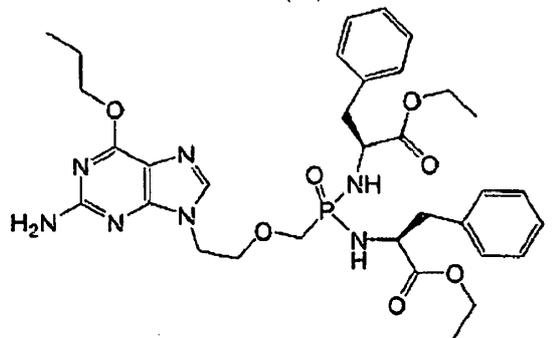


(13)

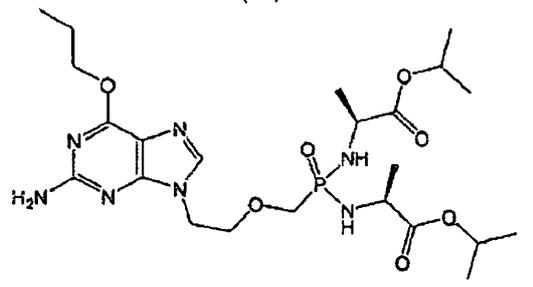
5



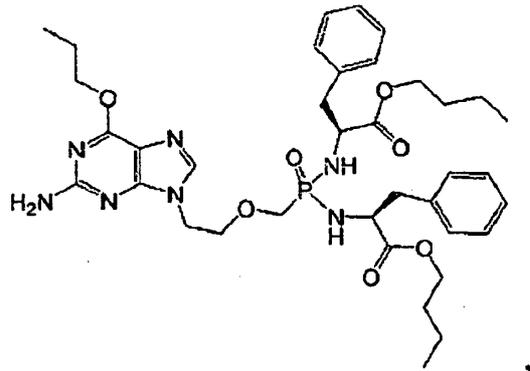
(14)



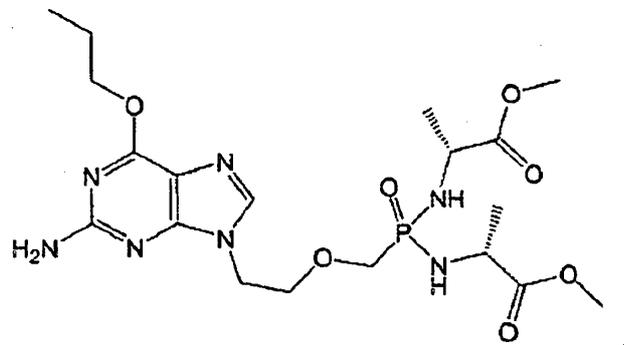
(15)



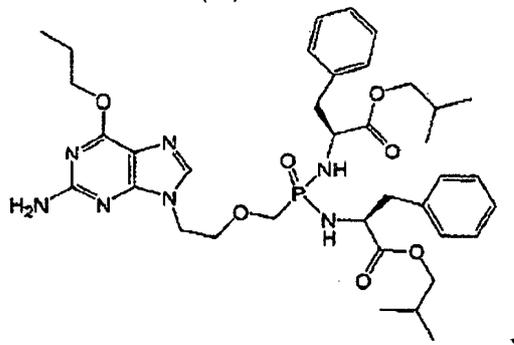
(16)



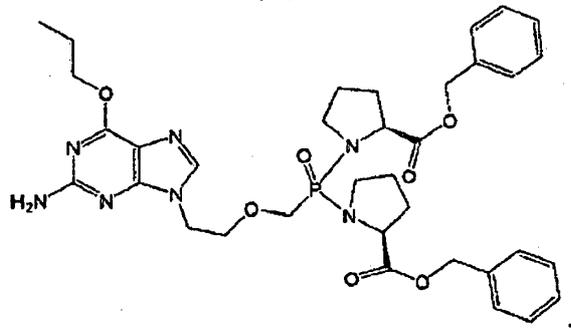
(17)



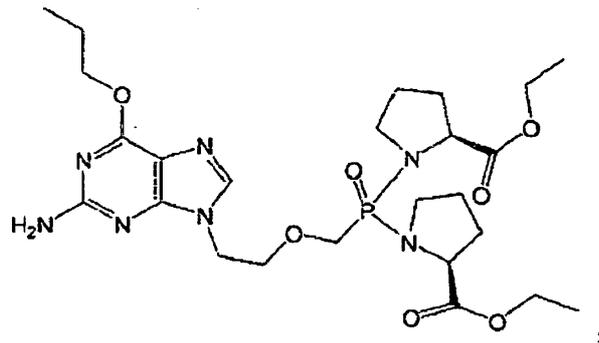
(18)



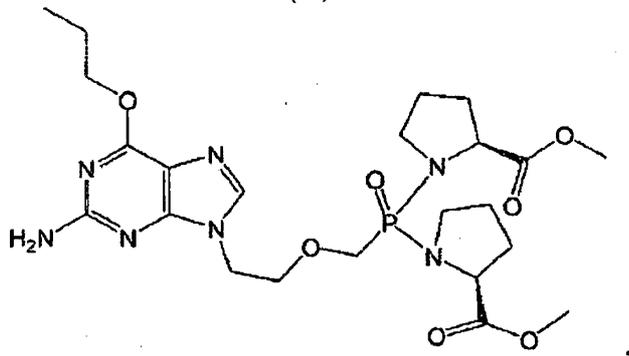
(19)



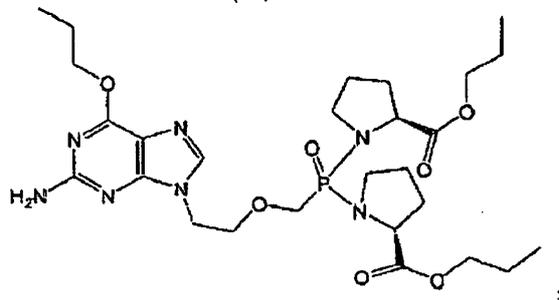
(20)



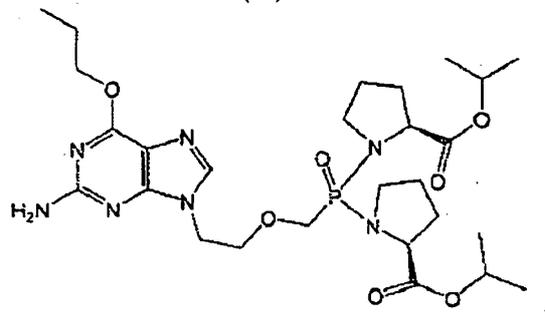
(21)



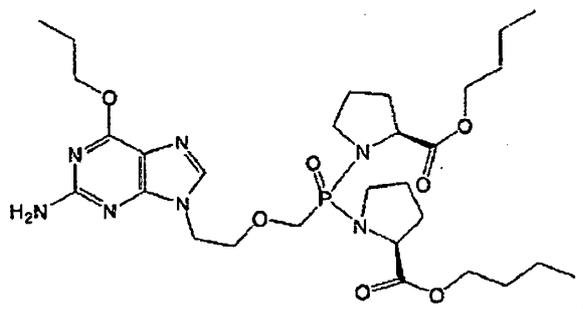
(22)



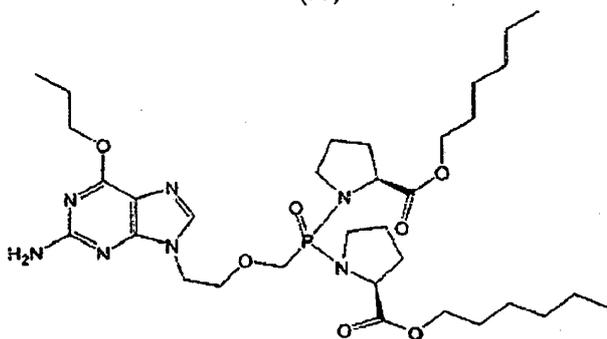
(23)



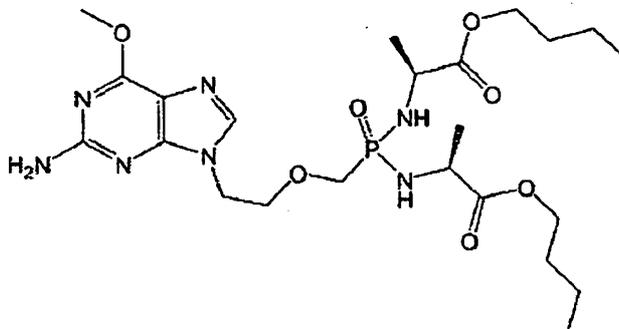
(24)



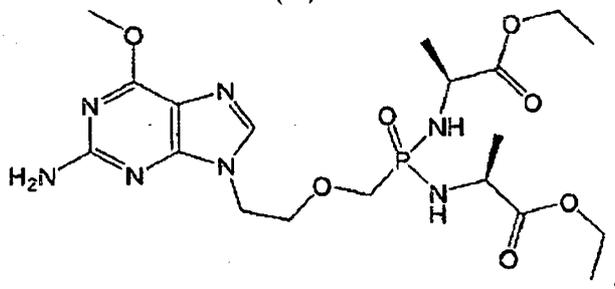
(25)



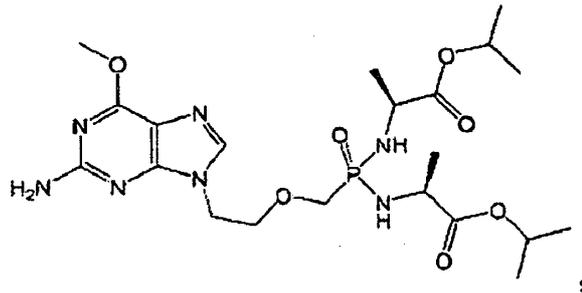
(26)



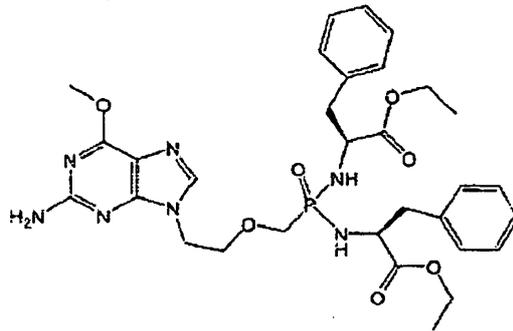
(27)



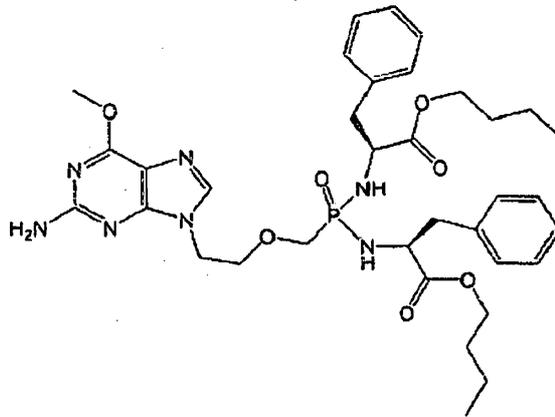
(28)



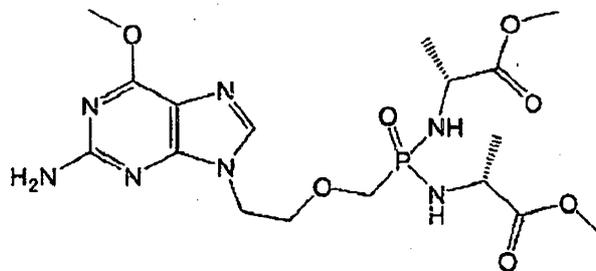
(29)



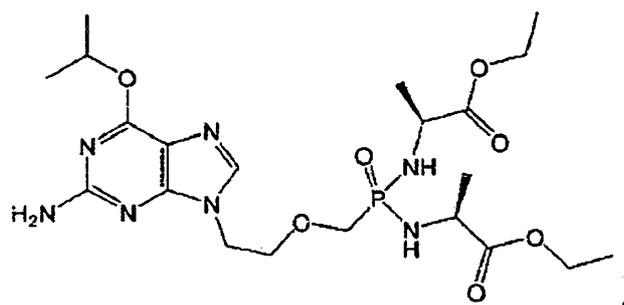
(30)



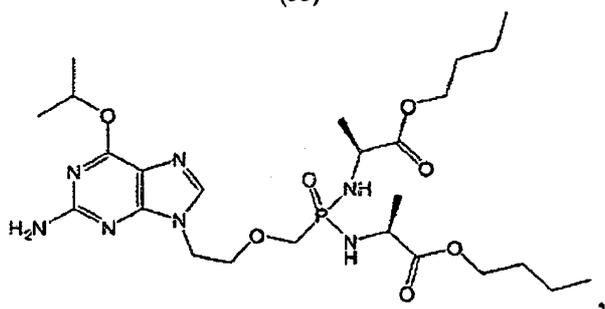
(31)



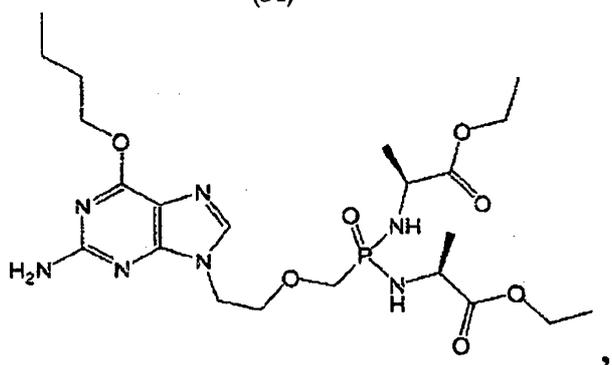
(32)



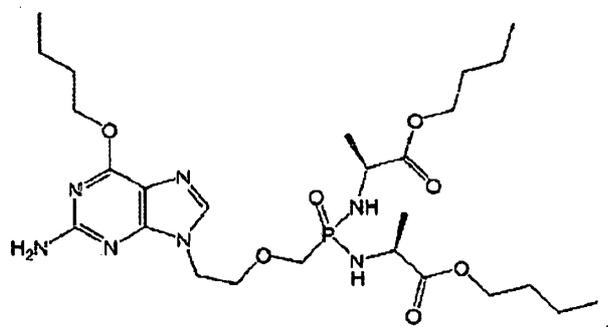
(33)



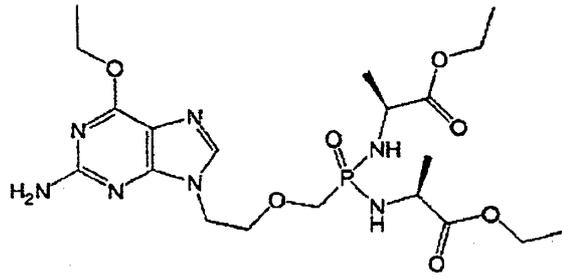
(34)



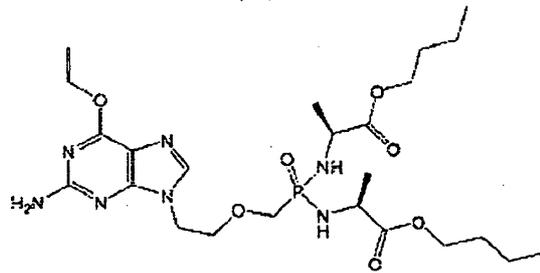
(35)



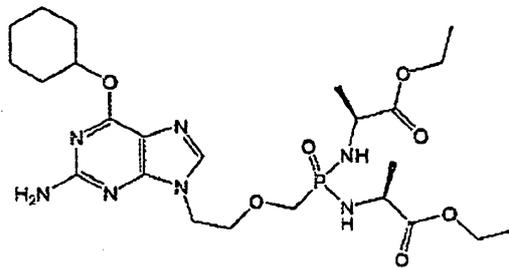
(36)



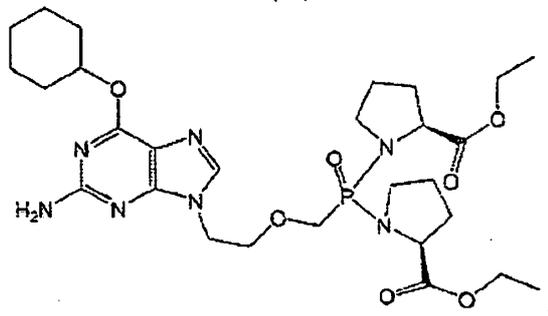
(37)



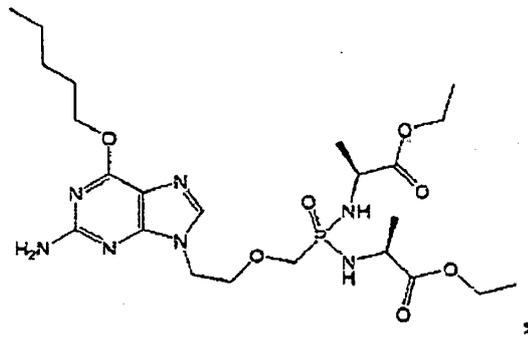
(38)



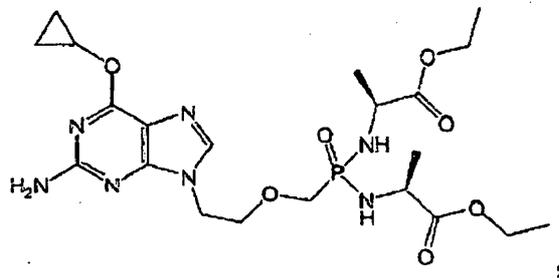
(39)



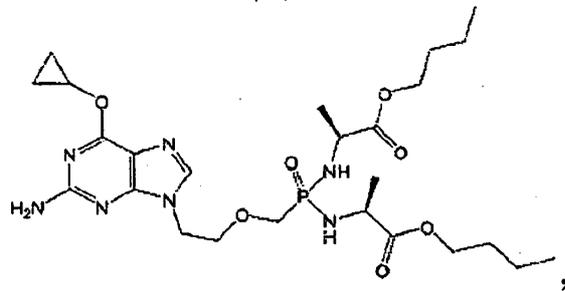
(40)



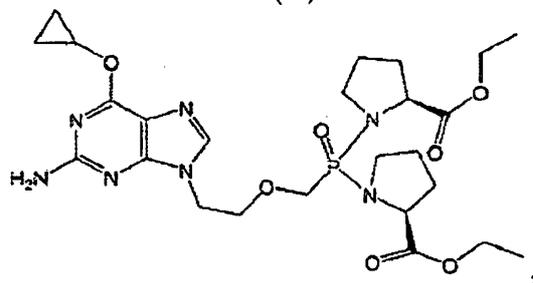
(41)



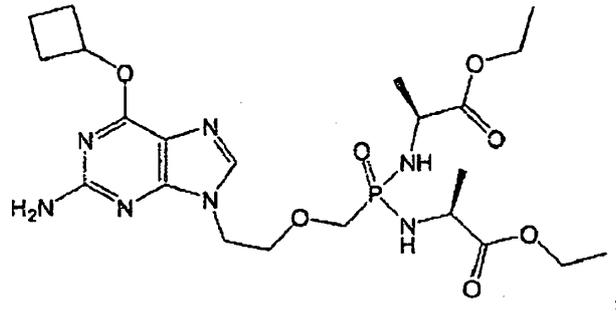
(42)



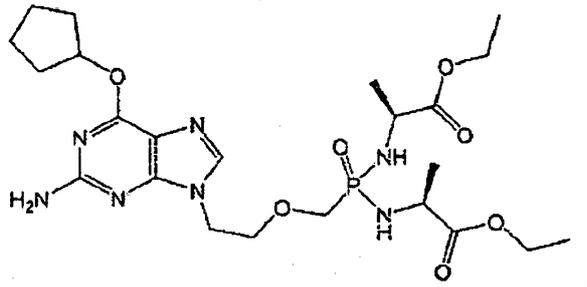
(43)



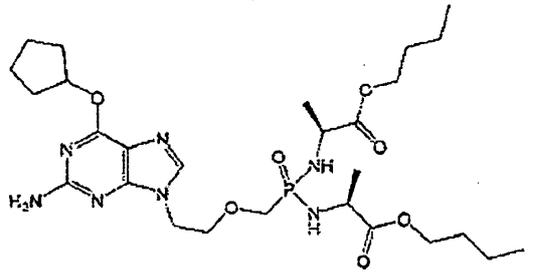
(44)



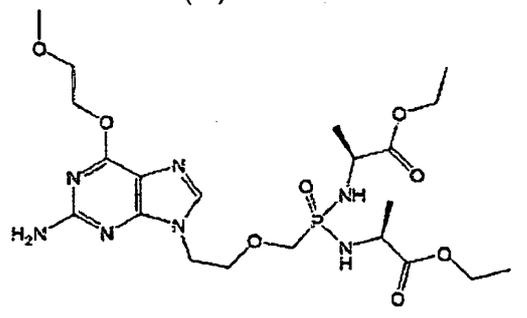
(45)



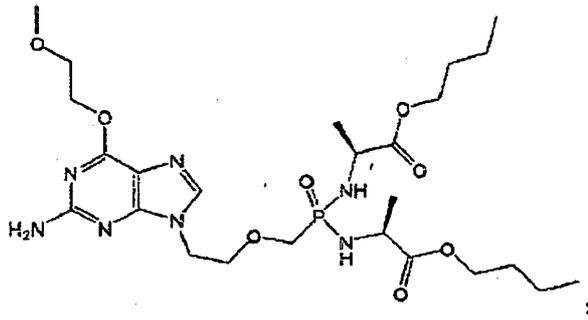
(46)



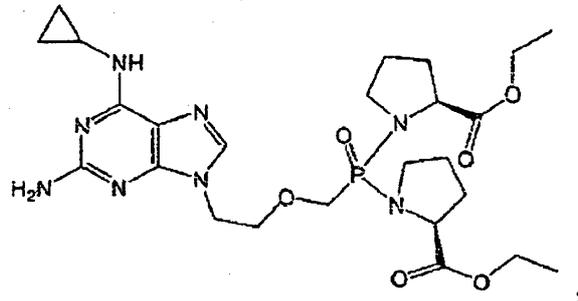
(47)



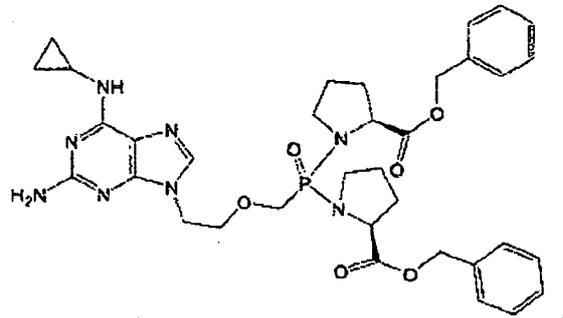
(48)



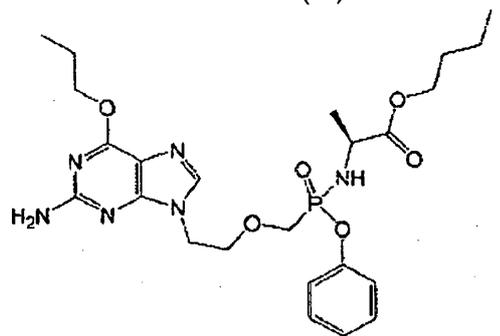
(49)



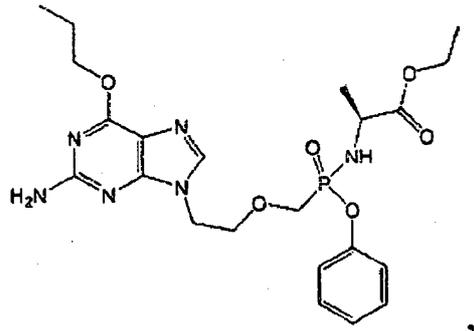
(50)



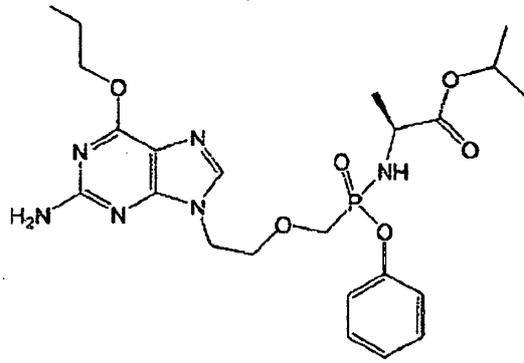
(51)



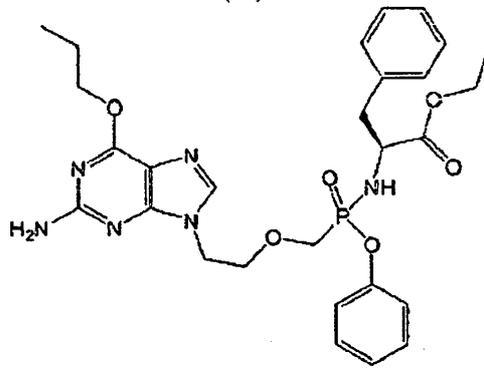
(52)



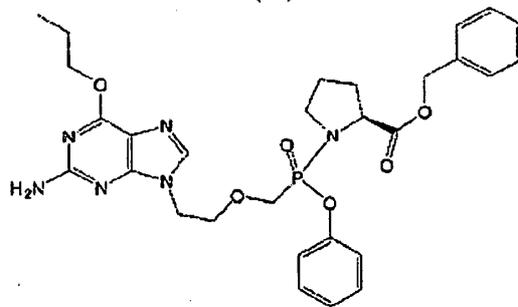
(53)



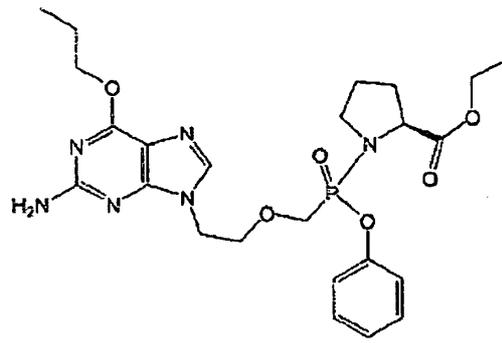
(54)



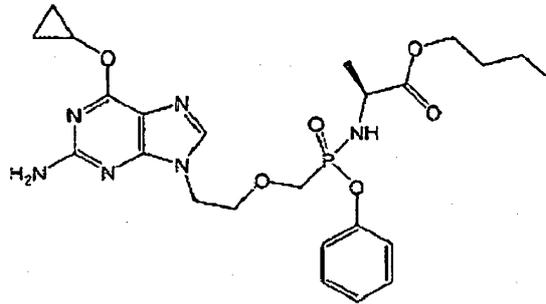
(55)



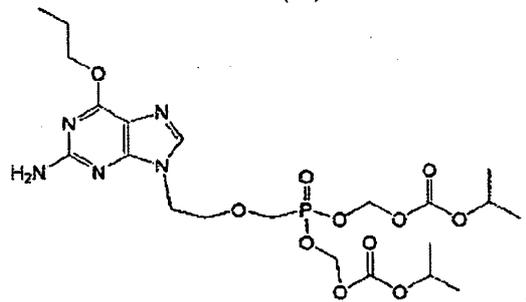
(56)



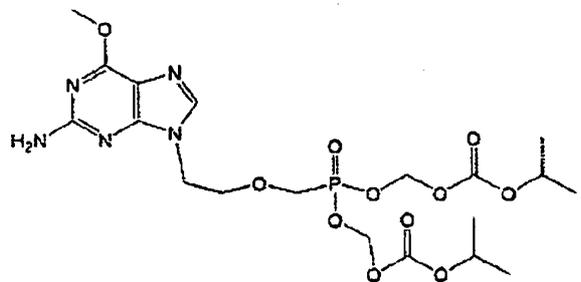
(57)



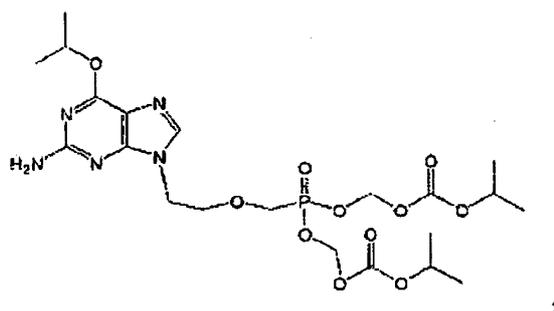
(58)



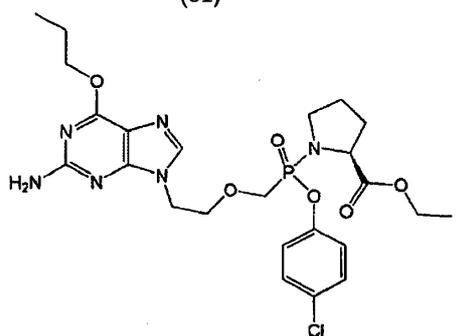
(59)



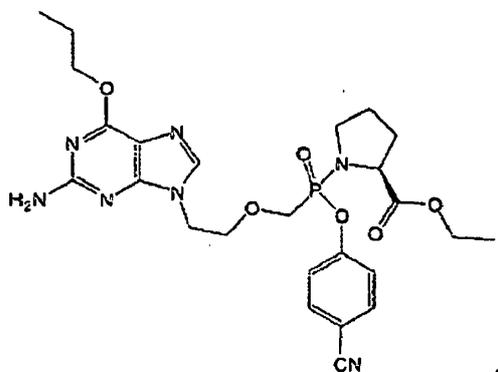
(60)



(61)



(62)



(63)

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable, o isómero óptico enriquecido de los mismos.
2. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.
- 10 3. Una composición farmacéutica de la reivindicación 2 que comprende adicionalmente un segundo agente terapéutico seleccionado entre un agente antivírico o un agente antitumoral/antineoplásico.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la que el agente antivírico se selecciona entre un grupo que consiste de 3'-azido-3'-desoxitimidina (zidovudina, AZT), 2'-desoxi-3'-tiacitidina (3TC), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidroadenosina (D4A), 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidrotimidina (D4T), carbovir (carbocíclico 2',3'-didesoxi-2',3'-didehidroguanosina), 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-beta-D-arabinosil)-5-yodocitidina (FIAC), tetrahidroimidazo(4,5,1-jk)-(1,4)-benzodiazepin-2(1H)-tiona (TIBO), 2'-nor-GMP cíclico, 6-metoxipurina arabinósido (ara-M), 6-metoxipurina arabinósido 2'-O-valerato, citosina arabinósido (ara-
- 15
- 20

C), 2',3'-didesoxinucleósidos, nucleósidos acíclicos, nucleótidos acíclicos, ribavirina (adenina arabinósido), 2-tio-6-azauridina, tubercidina, ácido aurintricarboxílico, 3-deazaneoplanocina, neoplanocina, rimantidina, adamantina, foscarnet (fosfonoformiato trisódico), citoquinas, interferones incluyendo interleucinas, factores estimuladores de colonias de macrófagos/granulocitos, antagonistas de las citoquinas, receptores de interleucinas solubles e inhibidores de la proteína quinasa C.

5

5. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la que el agente antitumoral/antineoplásico se selecciona entre un grupo que consiste en abarelix (Plenaxis depot®); aldesleuquina (Prokine®); Aldesleuquina (Proleukin®); Alemtuzumab (Campath®); alitretinoína (Panretin®); alopurinol (Zyloprim®); altretamina (Hexalen®); amifostina (Ethyol®); anastrozol (Arimidex®); trióxido de arsénico (Trisenox®); asparaginasa (Elspar®); azacitidina (Vidaza®); bevacuzimab (Avastin®); cápsulas de bexaroteno (Targretin®); gel de bexaroteno (Targretin®); bleomicina (Blenoxane®); bortezomib (Velcade®); busulfan intravenoso (Busulfex®); busulfan oral (Myleran®); calusterona (Methosarb®); capecitabina (Xeloda®); carboplatino (Paraplatin®); carmustina (BCNU®, BiCNU®); carmustina (Gliadel®); carmustina con Polifeprosan 20 Implant (Gliadel Wafer®); celecoxib (Celebrex®); cetuximab (Erbix®); clorambucilo (Leukeran®); cisplatino (Platinol®); cladribine (Leustatin®, 2-CdA®); clofarabina (Clolar®); ciclofosfamida (Cytoxan®, Neosar®); ciclofosfamida (Cytoxan Injection®); ciclofosfamida (Cytoxan Tablet®); citarabina (Cytosar-U®); citarabina liposomal (DepoCyt®); dacarbazina (DTIC-Dome®), dactinomicina, actinomicina D (Cosmegen®); Darbepoetina alfa (Aranesp®); daunorrubicina liposomal (DanuoXome®); daunorrubicina, daunomicina (Daunorubicin®); daunorrubicina, daunomicina (Cerubidine®); Denileuquina diftotox (Ontak®); dexrazoxano (Zinecard®); docetaxel (Taxotere®); doxorubicina (Adriamycin PFS®); doxorubicina (Adriamycin®, Rubex®); doxorubicina (Adriamycin PFS Injection®); doxorubicina liposomal (Doxil®); propionato de dromostanolona (dromostanolone®); propionato de dromostanolona (masteron injection®); Elliott's B Solution (Elliott's B Solution®); epirubicina (Ellence®); Epoetin alfa (epogen®); erlotinib (Tarceva®); estramustina (Emcyl®); fosfato de etopósido (Etopophos®); etopósido, VP-16 (Vepesid®); ex emestano (Aromasin®); Filgrastim (Neupogen®); floxuridina (intraarterial) (FUDR®); fludarabina (Fludara®); fluorouracilo, 5-FU (Adrucil®); folvestrant (Faslodex®); gefitinib (Iressa®); gemcitabina (Gemzar®); gemtuzumab ozogamicina (Mylotarg®); acetato de goserelina (Zoladex Implant®); acetato de goserelina (Zoladex®); acetato de histrelina (Histrelin implant®); hidroxiurea (Hydrea®); Ibritumomab Tiuxetan (Zevalin®); idarrubicina (Idamycin®); ifosfamida (IFEX®); mesilato de imatinib (Gleevec®); interferón alfa 2a (Roferon A®); Interferón alfa-2b (Intron A®); irinotecan (Camptosar®); lenalidomida (Revlimid®); letrozol (Femara®); leucovorina (Wellcovorin®, Leucovorin®); Acetato de leuprólido (Eligard®); levamisol (Ergamisol®); lomustina- CCNU (CeeBU®); mecloretamina, mostaza de nitrógeno (Mustargen®); acetato de megestrol (Megace®); melfalan, L-PAM (Alkeran®); mercaptopurina, 6-MP (Purinethol®); mesna (Mesnex®); mesna (Mesnex tabs®); metotrexato (Methotrexate®); metoxsalen (Uvadex®); mitomicina C (Mutamycin®); mitotano (Lysodren®); mitoxantrona (Novantrone®); fenpropionato de nandrolona (Durabolin-50®); nelarabina (Arranon®); Nofetumomab (Verluma®); Oprelvekin (Neumega®); oxaliplatino (Eloxatin®); paclitaxel (Paxene®); paclitaxel (Taxol®); partículas unidas a la proteína paclitaxel (Abraxane®); palifermina (Kepivance®); pamidronato (Aredia®); pegademasa (Adagen (Pegademase Bovine®)); pegaspargasa (Oncaspar®); Pegfilgrastim (Neulasta®); pemetrexed disodio (Alimta®); pentostatina (Nipent®); pipobroman (Vercyte®); plicamicina, mitramicina (Mithracin®); porfímero de sodium (Photofrin®); procarbazona (Matulane®); quinacrina (Atabrine®); Rasburicasa (Elitek®); Rituximab (Rituxan®); sargramostim (Leukine®); Sargramostim (Prokine®); sorafenib (Nexavar®); estreptozocina (Zanosar®); maleato de sunitinib (Sutent®); talco (Sclerosol®); tamoxifeno (Nolvadex®); temozolomida (Temodar®); tenipósido, VM-26 (Vumon®); testolactona (Teslac®); tioguanina, 6-TG (Thioguanine®); tiotepa (Thioplex®); topotecan (Hycamtin®); toremifeno (Fareston®); Tositumomab (Bexxar®); Tositumomab/I-131 tositumomab (Bexxar®); Trastuzumab (Herceptin®); tretinoína, ATRA (Vesanoid®); Mostaza de uracilo (Uracil Mustard Capsules®); valrubicina (Valstar®); vinblastina (Velban®); vincristina (Oncovin®); vinorelbina (Navelbine®); y zoledronato (Zometa®).

6. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método de inhibición del crecimiento de un tumor/cáncer en un sujeto.

7. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método de inhibición de la proliferación celular de células de un tumor/cáncer en un sujeto.

8. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad neoplásica en un sujeto.

9. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método de tratamiento de una neoplasia hematológica en un sujeto.

10. Un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en un método de tratamiento del linfoma no Hodgkin (NHL) en un sujeto.

11. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para su uso en un método de inhibición del crecimiento de un tumor/cáncer en un sujeto.

65

12. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para su uso en un método de inhibición de la proliferación celular de células tumorales/cancerosas en un sujeto.
- 5 13. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para su uso en un método para tratar una enfermedad neoplásica en un sujeto.
14. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para su uso en un método para tratar una neoplasia hematológica en un sujeto.
- 10 15. Una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 para su uso en un método para tratar linfoma no Hodgkin (NHL) en un sujeto.