

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 553 404**

51 Int. Cl.:

C07D 405/04 (2006.01)

A61K 31/513 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2007** **E 07786668 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015** **EP 2054406**

54 Título: **Nucleósidos para suprimir o reducir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos**

30 Prioridad:

11.08.2006 DE 102006037786

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

09.12.2015

73 Titular/es:

**RESPROTECT GMBH (100.0%)
FIELDSTRASSE 34
01307 DRESDEN, DE**

72 Inventor/es:

**FAHRIG, RUDOLF;
LOHMANN, DIETER;
ROLFS, ANDREAS;
DIEKS, HENRIK;
TEUBNER, JANEK y
HEINRICH, JÖRG-CHRISTIAN**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 553 404 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

Nucleósidos para suprimir o reducir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos

La invención se refiere a nucleósidos especiales así como a medicamentos que contienen estos nucleósidos. La invención se refiere, además, al uso de tales nucleósidos para preparar un medicamento, en particular para suprimir o reducir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos.

La quimioterapia es el tratamiento estándar para las enfermedades cancerosas. Los citostáticos influyen en la división celular y por lo tanto son particularmente tóxicos para células tumorales en crecimiento rápido. Los citostáticos inducen apoptosis, es decir, conducen a la muerte celular de las células tumorales. Desafortunadamente, la mayoría de las veces el período de tratamiento sin resistencia con los citostáticos que se encuentran actualmente en el mercado no es lo suficientemente largo para destruir por completo el tumor. Para mejorar esta situación, se han desarrollado "quimiosensibilizadores", que contrarrestan la resistencia existente.

Si la resistencia es causada por la amplificación (multiplicación) y sobreexpresión del gen de la "resistencia multifármaco" (MDR-1), esto se puede reducir mediante la inactivación de su producto génico (glicoproteína P) (Takara K., Sakaeda T., Okumura K., An update on overcoming MDR1-mediated multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Curr. Pharm. Des.* 2006; 12(3):273-86).

Graves efectos secundarios han impedido hasta la fecha el uso de inhibidores de glicoproteína P. Debido a su acción tóxica, las sustancias de la tercera generación sólo se pueden utilizar, probablemente, para un tratamiento a corto plazo y también sólo en el caso de los escasos tumores cuya resistencia se basa exclusivamente en la acción del gen de la "resistencia multifármaco". Aparte de esto, se han desarrollado inhibidores de los receptores de tirosinacinas o de la sobreexpresión de oncogenes individuales. Sin embargo, aún sólo se tratan unos pocos tumores adecuados (Desoize B., Jardillier J., Multicellular resistance: a paradigm for clinical resistance? *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2000; 36:193-207).

A partir del documento EP 0 806 956 se conocen nucleósidos 5-sustituídos para inhibir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos. Los compuestos allí citados son (E)-5'-(2-bromovinil)-2'-desoxiuridina (BVDU) y (E)-5'-(2-bromovinil)uracilo (BVU).

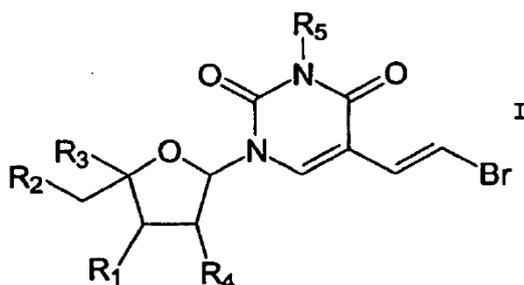
A partir de los documentos WO 2004/084917 A, WO 02/39952 A, WO 2005/012327 A, WO 90/15064 A, EP-A-0 104 857, EP-A-0 097 039, DE 32 33 198 A1, WO 98/42351 y EP-A2-0 368 668 se conocen otros derivados de BVDV.

Estos evitan el desarrollo de resistencia y combaten resistencias que aún no existen. En contraste con los intentos conocidos desde hace décadas y en su mayoría sin éxito para eludir o reducir quimiorresistencias ya existentes, no existe competencia a nivel mundial para este enfoque tecnológico (Fahrig, R., Heinrich, J.C., Nickel, B., Wilfert, F., Leisser, C., Krupitza, G., Praha, C., Sonntag, D., Fiedler, B., Scherthan, H. y Ernst, H., Inhibition of induced chemoresistance by co-treatment with (E)-5-(2-bromovinyl)-2'-deoxyuridine (RP101), *Cancer Res.* 63 (2003) 5745-5753). El primer fármaco BVDU demostró una acción estadísticamente significativa en dos estudios clínicos con pacientes de cáncer de páncreas. El efecto del cotratamiento de citostáticos con BVDU era más eficaz que cualquier otra quimioterapia descrita hasta la fecha.

Por lo tanto, era misión de la presente invención proporcionar sustancias que tuviesen, frente a los compuestos conocidos del estado de la técnica, mayor eficacia con respecto a la supresión o reducción del desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos.

Esta misión se consigue mediante los nucleósidos con las características de la reivindicación 1 y el medicamento con las características de la reivindicación 4. En la reivindicación 6 se proporciona el uso de tales nucleósidos. Las otras reivindicaciones dependen de realizaciones adicionales ventajosas.

Según la invención, se proporcionan nucleósidos de la fórmula general I

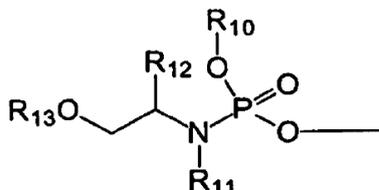


con

R₁ = halógeno,

R₂ seleccionado del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno, en donde

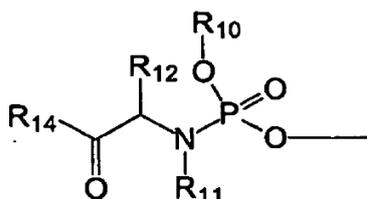
5 el radical de profármaco está seleccionado del grupo consistente en



con

R₁₀ y R₁₁, de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₂ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralkileno, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₃ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

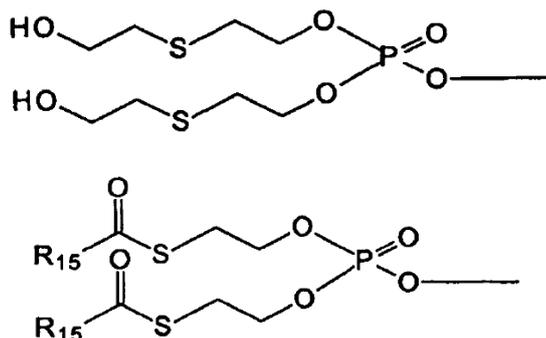
10



con

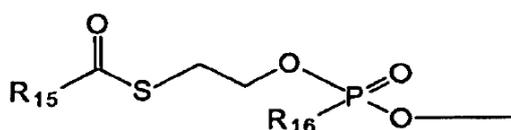
R₁₀ y R₁₁, de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₂ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralkileno, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₃ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, R₁₄ = O-alquilo C₁-C₈, NH-alquilo C₁-C₈, N-(alquilo C₁-C₈)₂,

15



con

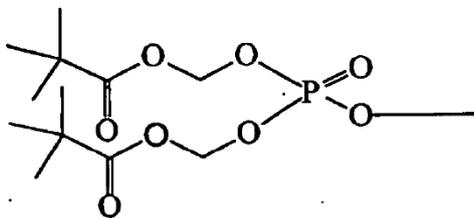
20 R₁₅ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,



con

R₁₅ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

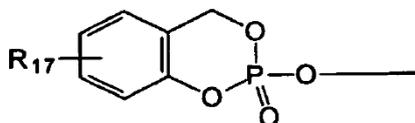
R₁₆ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, O-arilo



5

con

R₁₇ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, halógeno,



con

10 R₁₈ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo o heteroarilo, R₁₉ = alquil-CO-, aril-CO-, aminoácido o péptido,



con

R₂₀ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₃ = H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, alquilenos C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

15 R₄ = H, halógeno, OR₈, N₃, NR₆R₇ o bien R₄ junto con R₁ representan un segundo enlace entre los átomos de C adyacentes a R₁ y R₄,

R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo, estando excluidos los compuestos con los siguientes radicales:

20 R₁ = F, R₂ = OH, R₃ = R₄ = R₅ = H,

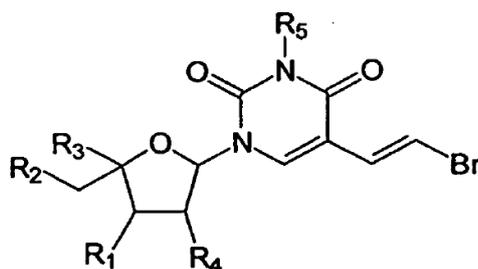
R₁ = F, R₂ = O-acetilo, R₃ = R₄ = R₅ = H,

R₁ = F, R₂ = trifosfato, R₃ = R₄ = R₅ = H,

R₁ = Cl, R₂ = OH, R₃ = R₄ = R₅ = H.

Asimismo se proporcionan medicamentos que contienen los nucleósidos de la fórmula general I,

25 En cuanto al uso, este se refiere en particular a la supresión o reducción del desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos. Se emplean para ello nucleósidos de la fórmula general I,



con

R₁ = halógeno,

5 R₂ seleccionado del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno,

R₃ = H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, alquilenos C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₄ = H, halógeno, OR₈, N₃, NR₆R₇ o bien R₄ junto con R₁ representan un segundo enlace entre los átomos de C adyacentes a R₁ y R₄,

R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

10 R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo, así como al menos un citostático.

Otros usos se refieren a la terapia sin resistencia, contra enfermedades infecciosas causadas por bacterias, plasmodios o leishmanias.

15 La aplicación puede efectuarse aquí tanto en una formulación única, es decir, como preparado combinado, o también en formulaciones separadas. En el caso de la formulación separada, también es posible una administración de las dos formulaciones desplazada en el tiempo.

No existe ningún tipo de restricciones con respecto a la galénica, por lo que pueden utilizarse todas las formas de formulación conocidas del estado de la técnica. Entre ellas se cuentan, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, aerosoles, grageas, emulsiones, líquidos y ampollas.

20 Contrariamente al modo de proceder actual para combatir las resistencias existentes, que no ha tenido mucho éxito, las sustancias mencionadas según la invención entran en escena mucho antes. Impiden la formación de resistencias. Por tanto, se combaten las causas de una enfermedad y no los síntomas.

El objeto según la invención se explicará con más detalle por medio de las siguientes Figuras y Ejemplos, sin querer limitarlo a las realizaciones especiales que se muestran en la presente memoria.

25 Las Figuras 1 a 3, 7, 8 y 12 muestran la influencia sobre el recuento celular de células AH13r con el transcurso del tiempo, de compuestos según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con la administración en solitario de MMC o bien con la administración de MMC con BVDU. En este caso se expusieron células AH13r a dosis crecientes del citostático MMC. Se puede deducir de estas Figuras que el efecto de MMC junto con los compuestos según la invención es claramente más intenso en comparación con MMC y BVDU.

30 Ejemplos

Generalidades:

Los eductos 5'-O-(4-clorobenzoil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina (P. Herdewijn, J. Balzarini, E. De Clerq, R. Pauwels, M. Baba, J. Med. Chem. 1987, 30, 1270-1278), 5'-O-metilsulfonil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina (P.M. Reddy, T.C. Bruice; Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003, 13, 1281-1286), 5'-O-tritil-2'-desoxi-5-etil-uridina (C.K. Chu, R.F. Raymond, M.K. Ahn, V. Giliyar, Z.P. Gu, J. Med. Chem. 1989, 32, 612-617), S-(2-hidroxi-etil)-tiopivaloato (I. Lefebvre, C. Périgaud, A. Pompon, A.-M. Aubertin, J.-L. Girardet, A. Kirn, G. Gilles y J.-L. Imbach, J. Med. Chem. 1995, 38, 3941-3950), 5-(E)-bromoviniluridina (E. De Clercq, C. Desgranges, P. Herdewijn, A.S. Jones, M.J. McLean, R.T. Walker, J. Med. Chem. 1986, 29, 213-217), 5-yodouracilo (J. Asakura, M.J. Robins, J. Org. Chem. 1990, 55, 4928-4933), 2'-desoxi-2'-fluorouridina (Y. Saito, K. Utsumi, T. Maruyama, T. Kimura, I. Yamamoto, D.D. Richman, Chem. Pharm. Bull. 1994, 42, 595-598), 5-yodo-2'-desoxi-2'-fluorouridina (T. Kniess, M. Grote, B. Noll, B. Johannsen, Z. Naturforsch. 2003, 58b, 226-230), éster metílico de ácido 3-(2'-desoxi-2'-fluorouridin-5-il)acrílico (J. Matulic-Adamic, A.T. Daniher, A. Karpeisky, P. Haerberli, D. Sweedler, L. Beigelman, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2000, 10, 1299-1302), bromuro de 3,5-di-O-benzoil-2-desoxi-2-fluoro-α-D-arabinosilo, 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-

arabinofuranosil)-5-etiluracilo (H.G. Howell, P.R. Brodfuehrer, S.R. Brundige, D.A. Benigni, C. Sapino, J. Org. Chem. 1988, 53, 85-88), 5-(E)-bromoviniluracilo (P.J. Barr, A.S. Jones, G. Verhelst, R.T. Walker, J. Chem. Soc. Perkin Transactions 1, 1981, 565-570) y 1-(2,3,6-tri-O-acetil- β -D-arabinofuranosil)-5-yodouracilo (M.J. Robins, S. Manfredini, S.G. Wood, R.J. Wanklin, B.A. Rennie, S.L. Sacks, J. Med. Chem. 1991, 34, 2275-2280), 5'-amino-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, 5'-bromo-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, 5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, 5'-azido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 3'-azido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina (R. Busson, L. Colla, H. Vanderhaeghe, E. De Clercq, Nucleic Acids Research, Symposium Series, 1981, 9, 49-52), 3'-O-(t-butildimetilsilil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina (P. Herdewijn, R. Ramamurthy, E. De Clercq, W. Pfeleiderer, Helv. Chim. Acta 1989, 72, 1739-1748), 2'-desoxi-3'-metoxi-5-(E)-bromoviniluridina (M. Ashwell, A.S. Jones, A. Kumar, J.R. Sayers, R.T. Walker, Tetrahedron 1987, 43, 20, 4601-4608) se sintetizaron de manera análoga a las indicaciones de la bibliografía mencionada.

Todos los demás eductos de partida estaban disponibles comercialmente.

La purificación por cromatografía en columna de las sustancias se efectuó sobre gel de sílice 60 (Fluka, 0,040 - 0,063 mm) con los eluyentes indicados. Para la cromatografía en capa fina (CCF) se utilizaron placas de gel de sílice (Merck, gel de sílice 60 F₂₅₄).

Los espectros de ³¹P-RMN se midieron con ácido fosfórico al 85% como estándar externo.

1. Derivados 3'-sustituídos de BVDU

1.1. 3'-Halógeno-BVDU

1.1.1. 2',3'-Didesoxi-3'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina

20 1.1.1.1. 2,3'-Anhidro-2'-desoxi-5'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina

A una disolución de 15,0 g (45 mmol) de BVDU y 17,8 g (68 mmol) de trifenilfosfina se añade gota a gota, en el transcurso de 155 minutos, una disolución de 13,8 g (68 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo y 8,3 g (68 mmol) de ácido benzoico en 75 ml de DMF. Después de esto se agita durante 30 minutos más a temperatura ambiente y se añaden nuevamente 17,8 g de trifenilfosfina. Se añade a esto gota a gota, en el transcurso de 10 minutos, una disolución de 13,8 g (68 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo en 10 ml de DMF y se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. El control mediante CCF (diclorometano/metanol 5:1) revela que la reacción ha terminado. Se vierte la mezcla de reacción en 1,5 l de éter dietílico, se filtra con succión el precipitado formado y se lava con éter dietílico. Tras secar, el rendimiento asciende a 10,1 g (53,5%).

1.1.1.2. 2',3'-Didesoxi-3'-bromo-5'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina

30 Se suspenden 3,0 g (7,16 mmol) de 2,3'-anhidro-2'-desoxi-5'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina y 2,40 g (15,0 mmol) de hidrobromuro de piridinio en 20 ml de DMF y se calienta a 100°C. Al cabo de 3 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se diluye con 200 ml de agua la disolución obtenida y se extrae con acetato de etilo. Se lavan dos veces las fases de acetato de etilo reunidas, cada vez con 100 ml de ácido clorhídrico 0,5 M, y tres veces con 100 ml de disolución de sal común, se secan con sulfato de magnesio, se separan por filtración y se purifican varias veces por cromatografía en columna, primeramente con diclorometano/acetato de etilo 12:1 y después con cloroformo/metanol 25:1. El rendimiento asciende a 2,0 g (55,8%) de una espuma incolora.

1.1.1.3. 2',3'-Didesoxi-3'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina

40 Se disuelven 1,92 g (3,84 mmol) de 2,3'-didesoxi-3'-bromo-5'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina en 25 ml de THF y se mezclan con 10 ml de agua y con 9,6 ml (19,2 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Al cabo de 2,5 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Se vierte la preparación en 50 ml de disolución saturada de sal común y se extrae con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos. Tras filtrar y eliminar por destilación el disolvente se obtienen, mediante purificación repetida por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 15:1), 1,3 g (81,2%) de una espuma sólida blanca.

45 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,45 (m, 1H); 2,72 (m, 1H); 3,71 (m, 2H); 4,19 (m, 1H); 4,61 (m, 1H); 5,31 (s, 1H); 6,17 (t, 1H); 6,83 (d, 1H); 7,25 (d, 1H); 8,07 (s, 1H); 11,60 (s, 1H) ppm.

La Figura 1 muestra los resultados de este compuesto según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

1.1.2. 1-(3'-Cloro-2,3-didesoxi- β -D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

50 1.1.2.1. 1-(5'-O-(4-Clorobenzoil)-3'-cloro-2,3'-didesoxi- β -D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

Se disuelven 2,0 g (4,24 mmol) de 5'-O-(4-clorobenzoil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en 40 g de HMPT y se añaden a ello 1,6 g (13,44 mmol) de cloruro de tionilo. Al cabo de 45 minutos la reacción ha terminado. Se mezcla

con agua y se extrae con acetato de etilo. Tras secar con sulfato de sodio, filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se purifica por cromatografía en columna (ciclohexano/acetato de etilo 7:3). Se obtienen 1,32 g (64%) de un sólido incoloro de punto de fusión 89-91°C.

1.1.2.2. 1-(3'-Cloro-2',3'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

5 Se disuelven 0,9 g (1,84 mmol) de 1-(5'-O-(4-clorobenzoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona en 50 ml de metanol y se añaden 0,15 g (2,78 mmol) de metóxido de sodio. Al cabo de 2 horas, el control mediante CCF (diclorometano/metanol 95:5) revela que la reacción ha terminado. Se añade intercambiador de iones (Dowex-H⁺ 50 WX 4 (Merck, 105238), activado bajo metanol), se filtra y se lava de nuevo con metanol. Después de eliminar por evaporación rotativa metanol, se efectúa purificación por cromatografía
10 en columna (acetato de etilo). Se obtienen 0,43 g (67%) de un sólido incoloro de punto de fusión 183-185°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 2,37 (m, 1H); 3,00 (m, 1H); 3,77 (m, 2H); 4,20 (m, 1H); 4,76 (m, 1H); 5,00 (t, 1H); 6,00 (m, 1H); 6,95 (d, 1H); 7,27 (d, 1H); 7,92 (s, 1H); 11,63 (s, 1H) ppm.

1.2. 5'-O-Derivados de 3'-halógeno-BVDU

1.2.1. 5'-O-Acilderivados de 3'-halógeno-BVDU

15 1.2.1.1. 5'-O-Pivaloil-3'-cloro-2',3'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven 1,25 g (3,55 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y 0,05 g (0,41 mmol) de 4-dimetilaminopiridina en THF/piridina (5 ml de cada uno), se enfría a 0°C y se mezcla con 0,54 g (4,44 mol) de cloruro de pivaloil. Se deja calentar hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 2 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Después de verter en una disolución de ácido cítrico en
20 50 ml de agua, se extrae con acetato de etilo y se lavan con tampón de fosfato los extractos reunidos y se secan con sulfato de magnesio. Después de filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 75:1). Se obtienen 1,33 g (86,4%) de un sólido incoloro de punto de fusión 136°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,14 (s, 9H); 2,57 (m, 1H); 2,71 (m, 1H); 4,28 (m, 3H); 4,70 (m, 1H); 6,23 (m, 1H);
25 6,90 (d, 1H); 7,29 (s, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,65 (s, 1H) ppm.

1.2.1.2. 5'-O-Etoxicarbonil-(E)-5-(2-bromovinil)-3'-cloro-2',3'-

Se disuelven 310 mg (0,88 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina en diclorometano/piridina (3 ml de cada uno) y se mezclan, a 0°C, con 108 mg (1 mmol) de cloruro de etoxicarbonilo. Al cabo de 2 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 25:1). Se diluye con 20 ml de diclorometano, se lava con
30 ácido clorhídrico 1 M y con tampón de fosfato. Tras secar sobre sulfato de magnesio, filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 25:1. Se obtienen 200 mg (53,6%) de un sólido incoloro de punto de fusión 181°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,23 (t, 3H); 2,65 (m, 2H); 4,15 (q, 2H); 4,37 (m, 3H); 4,71 (m, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,87
(d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,78 (s, 1H); 11,64 (s, 1H) ppm.

35 1.2.2. Ésteres de aminoácido de 3'-halógeno-BVDU

1.2.2.1. 5'-O-(t-Butoxicarbonilaminoacetil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 25 ml de diclorometano 1,06 g (3 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina, 0,58 g (3,3 mmol) de N-BOC-glicina, 0,45 g (3,3 mmol) de 1-hidroxibenzotriazol y 0,99 g (3,3 mmol) de metoyoduro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida. Transcurridas 8 horas se añaden de nuevo respectivamente las mismas
40 cantidades de N-BOC-glicina, 1-hidroxibenzotriazol y metoyoduro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida. Al cabo de otras 16 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 25:1). Se lava con agua la disolución en diclorometano y se seca con sulfato de sodio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 25:1). Se obtienen 1,03 g (68%) de una espuma incolora.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,37 (s, 9H); 2,57 (m, 1H); 2,71 (m, 1H); 3,72 (m, 2H); 4,23 (m, 1H); 4,33 (m, 2H);
45 4,69 (m, 1H); 6,24 (m, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,26 (t, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

1.2.2.2. Trifluoroacetato de 5'-O-(aminoacetil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 20 ml de ácido trifluoroacético 0,81 g (1,6 mmol) de 5'-O-(t-butoxicarbonilaminoacetil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Al cabo de 45 minutos la escisión del grupo protector BOC es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 95:5). Se elimina por evaporación rotativa ácido trifluoroacético, se toma el residuo en una pequeña cantidad de metanol y se trata con éter dietílico. Se filtra con succión el precipitado
50 formado, se lava con éter dietílico y se precipita de nuevo en metanol/éter dietílico. Después de separar por

filtración, lavar con éter dietílico y secar, el rendimiento asciende a 0,38 g (45,7%) de un polvo incoloro.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 2,59 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 3,87 (m, 2H); 4,26 (m, 1H); 4,44 (m, 2H); 4,73 (m, 1H); 6,24 (m, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,80 (s, 1H); 8,32 (s, 3H); 11,68 (s, 1H) ppm.

1.2.2.3. 4-(t-Butoxicarbonil)amino-1-(3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-5'-il)-butanoato

5 Se disuelven en 20 ml de diclorometano 2,0 g (9,84 mmol) de ácido N-BOC-4-aminobutírico y 1,2 g (9,84 mmol) de 4-dimetilaminopiridina. Se añaden a ello 3,46 g (9,84 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y, tras enfriar a 0°C, 2,03 g (9,84 mmol) de N,N'-díciclohexilcarbodiimida. Tras calentar hasta la temperatura ambiente y agitar durante 20 horas a temperatura ambiente la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se filtra la preparación y se concentra por evaporación rotativa. Tras disolver en acetato de etilo, se enfría a -20°C, se separa por filtración el precipitado y se lava con una pequeña cantidad de acetato de etilo, enfriado a -20°C. Se concentra por evaporación rotativa el filtrado y se purifica varias veces por cromatografía en columna con diclorometano/acetato de etilo (4:1). Se obtienen 3,2 g (60,6%) de una espuma incolora.

15 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,36 (s, 9H); 1,62 (m, 2H); 2,31 (m, 2H); 2,52 (m, 1H); 2,72 (m, 1H); 2,92 (m, 2H); 4,31 (m, 3H); 4,71 (m, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,79 (m, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,31 (m, 1H); 7,77 (s, 1H); 11,64 (s, 1H).

La Figura 2 muestra los resultados de este compuesto según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

1.2.2.4. Trifluoroacetato de 4-amonio-1-(3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-5'-il)-butanoato

20 Se disuelven en 5 ml de diclorometano 310 mg (0,577 mmol) de 4-(t-butoxicarbonil)amino-1-(3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-5'-il)-butanoato y se mezclan con 5 ml de ácido trifluoroacético. Tras agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente la reacción es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se eliminan por destilación diclorometano y ácido trifluoroacético y se mezcla el residuo con 20 ml de éter dietílico. Se agita durante 2 horas hasta que se produce un precipitado fino pulverulento, se filtra, se lava con éter dietílico y se seca en vacío. Se obtienen 250 mg (78,7%) de un sólido incoloro de punto de fusión 89°C.

25 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,82 (m, 2H); 2,49 (m, 2H); 2,59 (m, 1H); 2,72 (m, 1H); 2,81 (m, 2H); 4,22 (m, 1H); 4,32 (m, 2H); 4,69 (m, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,94 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,73 (s, 3H); 7,78 (s, 1H); 11,65 (s, 1H).

1.2.2.5. 5'-O-(N-t-Butiloxicarbonil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

30 Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,00 g (2,84 mmol) de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Después se añaden 618 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valina, 347 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-dimetilaminopiridina y también 587 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-díciclohexilcarbodiimida, y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y a continuación se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (CHCl₃/MeOH, 95/5) proporciona 1,09 g (1,98 mmol, 70%) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 75-76°C.

35 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,85 (d, 3H); 0,87 (d, 3H); 1,38 (s, 9H); 1,98 (m, 1H); 2,54 (m, 1H); 2,73 (m, 1H); 3,81 (t, 1H); 4,26 (m, 2H); 4,34 (m, 1H); 4,68 (q, 1H); 6,24 (t, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,21 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

40 1.2.2.6. Trifluoroacetato de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5'-O-L-valinoil-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 600 mg (1,09 mmol) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 1,0 ml (14 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 540 mg (956 μmol, 88%) de trifluoroacetato de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5'-O-L-valinoil-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 110-112°C.

45 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,95 (d, 3H); 0,97 (d, 3H); 2,17 (m, 1H); 2,60 (m, 1H); 2,79 (m, 1H); 3,93 (s ancho, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,46 (m, 2H); 4,74 (q, 1H); 6,26 (dd, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,80 (s, 1H); 8,34 (s ancho, 3H); 11,69 (s, 1H) ppm.

50 1.2.2.7. 5'-O-(N-t-Butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,00 g (2,84 mmol) de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Después se añaden 880 mg (2,78 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valina, 347 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.)

de N,N-dimetilaminopiridina y también 587 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-diclohexilcarbodiimida, y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 3 días a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y posteriormente se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 3/1) proporciona 610 mg (939 μmol, 33%) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 102-103°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,81-0,90 (m, 12H); 1,37 (s, 9H); 1,91 (m, 1H); 2,06 (m, 1H); 2,54 (m, 1H); 2,74 (m, 1H); 3,88 (t, 1H); 4,19 (t, 1H); 4,23-4,35 (m, 3H); 4,68 (q, 1H); 6,24 (t, 1H); 6,64 (d, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 8,03 (d, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

1.2.2.8. Trifluoroacetato de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 300 mg (462 μmol), de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,5 ml (6,7 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla durante 3 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene en un evaporador rotativo el residuo durante 1 hora a 40°C. Resultan 280 mg (422 μmol, 91%) de trifluoroacetato de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 169-170°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,91-0,96 (m, 12H); 2,08-2,14 (m, 2H); 2,59 (m, 1H); 2,76 (m, 1H); 3,71 (t, 1H); 4,22-4,26 (m, 2H); 4,31-4,38 (m, 2H); 4,68 (q, 1H); 6,25 (t, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,81 (s, 1H); 8,06 (s ancho, 3H); 8,56 (d, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

1.2.2.9. 3'-Azido-5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,02 g (2,84 mmol) de 3'-azido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Después se añaden 880 mg (2,78 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valina, 347 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N-dimetilaminopiridina y también 587 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-diclohexilcarbodiimida, y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y a continuación se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 3/1) proporciona 550 mg (838 μmol, 30%) de 3'-azido-5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 95-97°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,81-0,91 (m, 12H); 1,37 (s, 9H); 1,91 (m, 1H); 2,07 (m, 1H); 2,38 (m, 1H); 2,51 (m, 1H); 3,88 (t, 1H); 4,01 (q, 1H); 4,19 (t, 1H); 4,30 (m, 2H); 4,45 (q, 1H); 6,12 (t, 1H); 6,64 (d, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 8,04 (d, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

1.2.2.10. Trifluoroacetato de 3'-azido-2',3'-didesoxi-5'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 4 ml de diclorometano, a 0°C, 200 mg (305 μmol) de 3'-azido-5'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,33 ml (4,47 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 200 mg (298 μmol, 98%) de trifluoroacetato de 3'-azido-2',3'-didesoxi-5'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 113-115°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 0,91-0,96 (m, 12H); 2,08-2,14 (m, 2H); 2,40 (m, 1H); 2,53 (m, 1H); 3,72 (t, 1H); 4,00 (q, 1H); 4,25 (m, 1H); 4,31-4,38 (m, 2H); 4,45 (q, 1H); 6,13 (t, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,80 (s, 1H); 8,08 (m, 3H); 8,58 (d, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

1.2.3. Fosforamidatos de 3'-halógeno-BVDU

1.2.3.1. (E)-5-(2-Bromovinil)-3'-fluoro-2',3'-didesoxiuridin-5'-[fenil-(metoxi-L-alaninil)]-fosfato

Se disuelven o suspenden en 4 ml de THF 255 mg (1,20 mmol) de diclorofosfato de fenilo y 169 mg (1,20 mmol) de hidrocloreto de éster metílico de L-alanina. Se enfría a -78°C con un baño de hielo seco y, a esta temperatura, se añaden gota a gota 244 mg (2,40 mmol) de trietilamina, que está disuelta en 4 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado, y se deja calentar poco a poco hasta la temperatura ambiente y se agita durante 24 horas en total. Después de esto se añaden 270 mg (0,80 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina y se enfría a -78°C con un baño de hielo seco. A la suspensión obtenida se añade gota a gota una disolución de 265 mg (3,22 mmol) de N-metilimidazol en 5 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado y se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 48 horas más la reacción ha terminado

(control mediante CCF con cloroformo/acetato de etilo 3: 2). Se vierte la preparación en una mezcla de 20 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo y se extrae dos veces más la fase acuosa con 20 ml de acetato de etilo cada vez. Después de secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con diclorometano/acetato de etilo 3:2. Se obtienen 180 mg (38,8%) de una espuma incolora.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,23 (d, 3H); 2,35 (m, 1H); 2,49 (m, 1H); 3,58 (s, 3H); 3,85 (m, 1H); 4,21 (m, 2H); 4,39 (m, 1H); 5,32 (m, 1H); 6,18 (m, 2H); 6,84 (d, 1H); 7,19 (m, 3H); 7,29 (d, 1H); 7,36 (m, 2H); 7,87 (s, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 5,08; 5,29 ppm.

10 1.2.3.2. (E)-5-(2-Bromovinil)-3'-cloro-2',3'-didesoxiuridin-5'-[fenil-(metoxi-L-alaninil)]-fosfato

Se disuelven o suspenden en 12 ml de THF 1,19 g (5,67 mmol) de diclorofosfato de fenilo y 0,79 g (5,67 mmol) de hidrocloreuro de éster metílico de L-alanina. Se enfría a -78°C con un baño de hielo seco y, a esta temperatura, se añaden gota a gota 1,15 g (11,34 mmol) de trietilamina, que está disuelta en 12 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado, y se deja calentar poco a poco hasta la temperatura ambiente y se agita durante 24 horas en total.

Después de esto se añaden 1,0 g (2,84 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y se enfría a -78°C con un baño de hielo seco. A la suspensión obtenida se añade gota a gota una disolución de 1,17 g (14,2 mmol) de N-metilimidazol en 12 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado y se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 48 horas adicionales la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/acetato de etilo 3:2). Se vierte la preparación en una mezcla de 75 ml de tampón de fosfato y 50 ml de acetato de etilo, y se extrae la fase acuosa dos veces más, con 40 ml de acetato de etilo cada vez. Después de secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con diclorometano/acetato de etilo 3:2 y cloroformo/acetona 3:1. Se obtienen 950 mg (56,5%) de una espuma incolora.

¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 1,37 (m, 3H); 2,38 (m, 1H); 2,62 (m, 1H); 3,71, 3,72 (s, 3H); 3,75, 3,85 (m, 1H); 4,09 (m, 1H); 4,41 (m, 4H); 6,24, 6,32 (m, 1H); 6,71 (m, 1H); 7,41 (m, 6H); 7,66, 7,70 (s, 1H); 8,88, 8,92 (s, 1H) ppm.

³¹P-RMN (122 MHz, CDCl₃): 2,87; 2,74 ppm.

La Figura 3 muestra los resultados de este compuesto según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

30 1.2.3.3. (E)-5-(2-Bromovinil)-3'-cloro-2',3'-didesoxiuridin-5'-[fenil-(benciloxi-L-alaninil)]-fosfato

Se disuelven en 15 ml de THF 606 mg (2,87 mmol) de diclorofosfato de fenilo y 1.010 mg (2,87 mmol) de 4-metilbencenosulfonato de éster bencilico de L-alanina. Se enfría a -78°C con un baño de hielo seco y, a esta temperatura, se añaden gota a gota 582 mg (5,75 mmol) de trietilamina, que están disueltos en 5 ml de THF. Al cabo de 35 minutos la adición gota a gota ha terminado, y se deja calentar poco a poco hasta la temperatura ambiente y se agita en total durante 24 horas. Después se añaden 505 mg (1,44 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y se enfría a -78°C con un baño de hielo seco. A la suspensión obtenida se añade gota a gota una disolución de 650 mg (8,0 mmol) de N-metilimidazol en 5 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado y se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente. Después de 48 horas más la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 25:1). Se vierte la preparación en una mezcla de 50 ml de tampón de fosfato y 50 ml de acetato de etilo y se extrae la fase acuosa dos veces más, con 25 ml de acetato de etilo cada vez. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/acetato de etilo 3:2. Se obtienen 520 mg (53,0%) de una espuma incolora.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,25 (2 x d, 3H); 2,58 (m, 2H); 3,92 (m, 1H); 4,26 (m, 3H); 4,67 (m, 1H); 5,08 (m, 2H); 6,25 (m, 2H); 6,88 (2 x d, 1H); 7,18 (m, 3H); 7,36 (m, 8H); 7,81 (2 x s, 1H); 11,87 (2 x d, 1H) ppm.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 4,40; 4,57 ppm.

50 1.2.3.4. (E)-5-(2-Bromovinil)-3'-bromo-2',3'-didesoxiuridin-5'-[fenil-(metoxi-L-alaninil)]-fosfato

Se disuelven o suspenden en 6 ml de THF 401 mg (1,9 mmol) de diclorofosfato de fenilo y 265 mg (1,9 mmol) de hidrocloreuro de éster metílico de L-alanina. Se enfría a -78°C con un baño de hielo seco y, a esta temperatura, se añaden gota a gota 385 mg (3,8 mmol) de trietilamina que están disueltos en 6 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado, y se deja calentar poco a poco hasta la temperatura ambiente y se agita en total durante 24 horas. Después se añaden 500 mg (1,26 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina y se enfría a -78°C con un baño de hielo seco. A la suspensión obtenida se añade a gota a gota una disolución de 415 mg (5,05 mmol) de N-metilimidazol en 6 ml de THF. Al cabo de 30 minutos la adición gota a gota ha terminado y

se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 48 horas más la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/acetato de etilo 1:1). Se vierte la preparación en una mezcla de 25 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo, y se extrae la fase acuosa dos veces más, con 20 ml de acetato de etilo cada vez. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 3:2). Se obtienen 386 mg (48,1%) de una espuma incolora.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,25 (d, 3H); 2,71 (m, 2H); 3,61 (s, 3H); 3,85 (m, 1H); 4,18 (m, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,42 (m, 1H); 4,66 (m, 1H); 6,11 (m, 1H); 6,28 (m, 1H); 6,88 (d, 1H); 7,19 (m, 3H); 7,31 (m, 1H); 7,38 (m, 2H); 7,81 (s, 1H); 11,65 (s, 1H) ppm.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 5,04; 5,11 ppm.

1.2.3.5. [3'-Azido-5-(E)-bromovinil-2',3'-didesoxiuridin]-5'-il-[(metoxi-L-alaninil)-fenil]-fosfato

Se disponen en 7 ml de THF, a -78°C, 600 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de diclorofosfato de fenilo y 397 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de hidrocloreto de éster metílico de L-alanina. Se disuelven en 7 ml de THF 576 mg (5,69 mmol, 4 eq.) de trietilamina, se añaden gota a gota en el transcurso de 30 minutos y a continuación se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se enfría la mezcla de reacción a -78°C y se añaden 509 mg (1,42 mmol) de 3'-azido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. A la disolución obtenida se añade gota a gota, en el transcurso de 30 minutos, una disolución de 700 mg (8,53 mmol, 6 eq.) de N-metilimidazol en 7 ml de THF y a continuación se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se vierte la preparación en una mezcla de 25 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo y se extrae la fase acuosa dos veces más con 20 ml de acetato de etilo cada vez. Se seca sobre Na₂SO₄ la fase orgánica reunida, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 1/1; acetato de etilo) proporciona 250 mg (417 μmol, 29%) de [3'-azido-5-(E)-bromovinil-2',3'-didesoxiuridin]-5'-il-[(metoxi-L-alaninil)-fenil]-fosfato en forma de un sólido blanco.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,20 (d, 3H); 1,23* (d, 3H); 2,38-2,47 (m, 4H); 3,57 (s, 3H); 3,59* (s, 3H); 3,80-3,91 (m, 2H); 4,03 (q, 1H); 4,08 (q, 1H); 4,16-4,21 (m, 1H); 4,23-4,29 (m, 3H); 4,45-4,52 (m, 2H); 6,09-6,16 (m, 4H); 6,86-6,89 (m, 2H); 7,16-7,22 (m, 6H); 7,28-7,32 (m, 2H); 7,34-7,38 (m, 4H); 7,82 (s, 2H); 11,65 (s, 1H); 11,66* (s, 1H) ppm. La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1,2:1). Las señales marcadas con * se refieren al isómero en defecto.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 5,06; 5,20 ppm

1.2.4. Derivados del ácido fosfórico de 3'-halógeno-BVDU

1.2.4.1. 3'-Cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-(2-bromoviniluridinil)-5'-il-dietil-fosfato

Se disuelven en 10 ml de THF y 1 ml de piridina 500 mg (1,42 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina. Se enfría a 0°C en un baño de hielo y se añade gota a gota, en el transcurso de 5 minutos, una disolución de 735 mg (4,3 mmol) de clorofosfato de dietilo. Al cabo de 18 horas se añaden nuevamente 1 ml de piridina y 735 mg de clorofosfato de dietilo y, al cabo de otras 18 horas, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se vierte la preparación en una mezcla de 20 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo y se extrae la fase acuosa tres veces más con 15 ml de acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación mediante repetida cromatografía en columna (cloroformo/metanol 15:1). El aceite obtenido solidifica después de raspar en ciclohexano. Después de secar se obtienen 510 mg (73,6%) de una espuma incolora.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,38 (m, 6H); 2,55 (m, 1H); 2,67 (m, 1H); 4,21 (m, 5H); 4,32 (m, 2H); 4,49 (m, 1H); 6,35 (t, 1H); 6,78, (d, 1H); 7,44 (d, 1H); 7,74 (s, 1H); 8,91 (s, 1H) ppm.

³¹P-RMN (122 MHz, CDCl₃): 0,75 ppm.

1.2.4.2. Ciclosaligenil-5'-O-(E)-(2-bromovinil)-3'-cloro-2',3'-didesoxiuridinil-fosfato

Se disuelven en 5 ml de THF 265 mg (2,13 mmol) de alcohol 2-hidroxibencílico, y se enfría a -78°C (acetona/hielo seco). Después se añaden 327 mg de oxiclورو de fósforo y, finalmente, 5 ml de una disolución de 431 mg de trietilamina en THF. Al cabo de 20 minutos la adición ha terminado. Se agita durante 45 minutos más a -78°C, después se retira el baño frío y se deja calentar hasta la temperatura ambiente. Se produce una suspensión incolora, que se agita durante 2,5 horas a temperatura ambiente.

Después se enfría nuevamente a -78°C y se añaden 466 mg (5,68 mmol) de N-metilimidazol, disueltos en 2,5 ml de THF. Se disuelven en 10 ml de THF 500 mg (1,42 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden gota a gota, en el transcurso de 30 minutos. Se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente y se agita durante 18 horas más a temperatura ambiente. Después de este tiempo, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se vierte la preparación en una mezcla de 20 ml de tampón de fosfato

y 20 ml de MTBE y se extrae varias veces con MTBE, y los extractos reunidos se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente se obtienen, después de purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 3: 2), 210 mg (28,5%) de una espuma incolora.

5 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): 2,50 (m, 1H); 2,67 (m, 1H); 4,34 (m, 1H); 4,48 (m, 3H); 5,45 (m, 2H); 6,27 (m, 1H); 6,62 (m, 1H); 7,15 (m, 3H); 7,42 (m, 2H); 7,58 (m, 1H); 8,23 (s, 1H) ppm.

$^{31}\text{P-RMN}$ (122 MHz, CDCl_3): -7,84; -7,99 ppm.

1.2.4.3. Fenil-S-pivaloíl-2-tioetil-3'-bromo-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-5'-il-fosfato

10 Se disuelven en 80 ml de THF 1,50 g (9,24 mmol) de S-(2-hidroxi-etil)-tiopivaloato, se enfría a -78°C y se mezcla con 0,95 g (9,44 mmol) de trietilamina. Se disuelven en 5 ml de THF 1,99 g (9,44 mmol) de diclorofosfato de fenilo y se añaden gota a gota, a -78°C . Se agita durante 20 horas y entonces se calienta gradualmente hasta la temperatura ambiente. Después se filtra, se lava con THF (2 x 10 ml) y se elimina por destilación el disolvente. Se toma en 50 ml de tetraclorometano el aceite amarillento, se filtra nuevamente y se lava el residuo con tetraclorometano. Después de eliminar el disolvente, se seca en vacío el residuo oleoso. Se obtienen 2,55 g de (fenil-S-(2-hidroxi-etil)-tiopivaloato)-monoclorofosfato como producto bruto, que se utiliza sin purificación adicional.

15 Se disuelve en 15 ml de THF el producto bruto antes obtenido (2,55 g) y después se añaden 1,0 g (2,52 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina. Después de agitar durante 5 minutos a temperatura ambiente se añaden 1,24 g (15,15 mmol) de N-metilimidazol y se agita durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de esto, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1; diclorometano/acetona 10:1). Se vierte la mezcla de reacción en una mezcla bifásica de 100 ml de tampón de fosfato y 60 ml de acetato de etilo, y se extrae la fase acuosa dos veces más con 50 ml de acetato de etilo cada vez. Se lavan con ácido cítrico al 5% las fases en acetato de etilo reunidas, después con disolución de hidrogenocarbonato de sodio al 5% y finalmente con disolución saturada de sal común. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/acetona 10:1. Se obtienen 920 mg (52,6%) de una espuma de color amarillento claro.

25 $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3): 8,97 (s, 1H); 7,63 y 7,68 (s, 1H); 7,39 (m, 3H); 7,22, (m, 3H); 6,66 (d, 1H); 6,29 (m, 1H); 4,43 (m, 4H); 4,26 (m, 2H); 3,16 (m, 2H); 2,75 (m, 1H); 2,60 (m, 1H); 1,21 y 1,22 (s, 9H) ppm.

$^{31}\text{P-RMN}$ (121 MHz, CDCl_3): -5,67; -5,90 ppm.

1.3. 3'- o 5'-Ésteres de aminoácido de BVDU

30 1.3.1. 5'-O-(N-t-Butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

35 Se disponen en 80 ml de DMF, a 0°C , 7,72 g (23,2 mmol) de 5-(E)-bromovinil-2'-desoxiuridina y 9,12 g (34,8 mmol, 1,5 eq.) de trifenilfosfina. Después se disuelven en 50 ml de DMF 8,04 g (34,8 mmol, 1,5 eq.) de ácido N-t-butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproico y 7,03 g (34,8 mmol, 1,5 eq.) de azodicarboxilato de diisopropilo, y se añaden gota a gota en el transcurso de 1 hora. A continuación se agita la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 95/5, acetato de etilo) proporciona 2,98 g (5,45 mmol, 23%) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de $121-122^\circ\text{C}$. Se pudieron aislar, como subproducto, 1,05 g (1,92 mmol, 8%) de 3'-O-(N-t-butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de $204-205^\circ\text{C}$.

40 5'-O-(N-t-Butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina:

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO-d_6): 1,20-1,26 (m, 2H); 1,31-1,40 (m, 2H); 1,36 (s, 9H); 1,48-1,53 (m, 2H); 2,15-2,26 (m, 2H); 2,28-2,32 (m, 2H); 2,87 (q, 2H); 3,92 (q, 1H); 4,19-4,25 (m, 3H); 5,43 (d, 1H); 6,15 (t, 1H); 6,74 (t, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 11,62 (s, 1H) ppm.

1.3.2. 3'-O-(N-t-Butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

45 3'-O-(N-t-Butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina:

$^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO-d_6): 1,20-1,26 (m, 2H); 1,31-1,40 (m, 2H); 1,36 (s, 9H); 1,47-1,52 (m, 2H); 2,09-2,32 (m, 6H); 2,87 (q, 2H); 3,93-3,97 (m, 2H); 4,10-4,14 (m, 1H); 4,21-4,28 (m, 5H); 5,42 (d, 1H); 5,45 (d, 1H); 6,09-6,12 (m, 1H); 6,18-6,21 (m, 1H); 6,73 (t, 1H); 6,96 (d, 1H); 6,99 (d, 1H); 7,29-7,36 (m, 2H); 7,86 (s, 1H); 8,01 (s, 1H); 11,58 (s, 1H) ppm. Se presenta una mezcla de dos isómeros rotacionales.

50 1.3.3. Trifluoroacetato de 5'-O-(ϵ -aminocaproíl)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C , 300 mg (549 μmol) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproíl)-2'-

- desoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,4 ml (5,6 mmol) de ácido trifluoroacético y, a continuación, se agita la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla el producto bruto con 5 ml de éter dietílico y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C.
- 5 Resultan 300 mg (535 μ mol, 98%) de trifluoroacetato de 5'-O-(ϵ -aminocaproil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 169-170°C.
- $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6): 1,23-1,38 (m, 2H); 1,45-1,58 (m, 4H); 2,12-2,27 (m, 2H); 2,29-2,37 (m, 2H); 2,70-2,80 (m, 2H); 3,89-3,94 (m, 1H); 4,19-4,29 (m, 3H); 5,46 (d, 1H); 6,16 (t, 1H); 6,94 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,69 (s ancho, 3H); 7,77 (s, 1H); 11,62 (s, 1H) ppm.
- 10 1.3.4. Trifluoroacetato de 3'-O-(ϵ -aminocaproil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 300 mg (549 μ mol) de 5'-O-(N-t-butiloxicarbonil- ϵ -aminocaproil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,4 ml (5,6 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla el producto bruto con 5 ml de éter dietílico y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 280 mg (500 μ mol, 91%) de trifluoroacetato de 3'-O-(ϵ -aminocaproil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco que se descompone a temperaturas por encima de 180°C.
- 15 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6): 1,21-1,35 (m, 2H); 1,45-1,58 (m, 4H); 2,08-2,38 (m, 6H); 2,70-2,80 (m, 2H); 3,91-3,98 (m, 2H); 4,10-4,32 (m, 6H); 5,41-5,49 (m, 2H); 6,08-6,15 (m, 1H); 6,16-6,23 (t, 1H); 6,95 (d, 1H); 7,00 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,35 (d, 1H); 7,62 (s ancho, 3H); 7,86 (s, 1H); 8,01 (s, 1H); 11,59 (s, 1H) ppm. La sustancia se presenta como mezcla de dos isómeros rotacionales.
- 20 1.4. 3'- o 5'-Acetamidoderivados de BVDU
- 1.4.1. 5'-Acetamido-3'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- 1.4.1.1. 5'-Acetamido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- 25 Se disponen en 15 ml de DMF, a 0°C, 1,41 g (4,26 mmol) de 5'-amino-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden 674 mg (8,52 mmol) de piridina. Se añaden gota a gota 401 mg (5,11 mmol) de cloruro de acetilo en 5 ml de DMF y a continuación se agita durante 2 horas más. Se vierte la mezcla de reacción sobre 50 g de hielo y se ajusta a pH = 7 con ácido clorhídrico concentrado. Se extrae la mezcla tres veces con 100 ml de acetato de etilo cada vez. Se seca con Na_2SO_4 la fase orgánica, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 9/1) proporciona 870 mg (2,33 mmol, 55%) de 5'-acetamido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.
- 30 1.4.1.2. 5'-Acetamido-2',3'-anhidro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- Se disponen en 15 ml de DMF 870 mg (2,33 mmol) de 5'-acetamido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden 915 mg (3,49 mmol) de PPh_3 . A continuación se disuelven en 5 ml de DMF 705 mg (3,49 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo y se añaden gota a gota. Al cabo de una hora, se vierte la mezcla de reacción sobre 100 ml de éter dietílico, se filtra con succión el sólido resultante y se lava tres veces con 20 ml de éter dietílico. Tras secar resultan 720 mg (2,02 mmol, 87%) de 5'-acetamido-2',3'-anhidro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.
- 35 1.4.1.3. 5'-Acetamido-3'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- 40 Se disponen en 10 ml de DMF 720 mg (2,02 mmol) de 5'-acetamido-2',3'-anhidro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden 467 mg (4,04 mmol) de hidrocloreuro de piridina y, a continuación, se calienta a reflujo durante 2 horas. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 9/1, diclorometano/acetato de etilo 1/2) proporciona 460 mg (1,17 mmol, 58%) de 5'-acetamido-3'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 163-165°C.
- 45 $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, DMSO- d_6): 1,83 (s, 3H); 2,47-2,73 (m, 2H); 3,36-3,43 (m, 2H); 4,02 (q, 1H); 4,55 (q, 1H); 6,19 (t, 1H); 6,96 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,84 (s, 1H); 8,10 (t, 1H); 11,64 (s, 1H).
- 1.4.2. 3'-Acetamido-5'-bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- 1.4.2.1. 3'-Acetamido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina
- 50 Se disponen en 40 ml (0,1 M, pH = 7,4) de disolución tampón de fosfato 1,00 g (2,79 mmol) de 3'-azido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden 638 mg (8,38 mmol) de ácido tioacético y se agita a 60°C durante 30 horas. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$, 9/1) proporciona 470 mg (1,26 mmol, 45%) de 3'-acetamido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

1.4.2.2. 3'-Acetamido-5'-O-(metilsulfonil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 5 ml de piridina, a 0°C, 500 mg (1,34 mmol) de 3'-acetamido-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden gota a gota 160 mg (1,40 mmol) de cloruro de ácido metanosulfónico en 2 ml de THF y, a continuación, se agita durante 4 horas a temperatura ambiente. Se vierte la mezcla de reacción sobre hielo, se ajusta a pH = 5 con ácido clorhídrico concentrado y se extrae tres veces con acetato de etilo. Se lava la fase orgánica con ácido clorhídrico diluido y disolución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Resultan 440 mg (973 μmol, 73%) de 3'-acetamido-5'-O-(metilsulfonil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

1.4.2.3. 3'-Acetamido-5'-bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disponen en 5 ml de DMF 440 mg (973 μmol) de 3'-acetamido-5'-O-(metilsulfonil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden 253 mg (2,92 mmol) de LiBr y se calienta la mezcla de reacción durante 3 horas. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se toma en 20 ml de acetato de etilo la mezcla de reacción y se lava la fase orgánica con disolución de NaCl. Se extrae la fase acuosa tres veces con acetato de etilo. Se lava con disolución saturada de NaCl la fase orgánica reunida, se seca con Na₂SO₄ y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 9/1) proporciona 290 mg (663 μmol, 68%) de 3'-acetamido-5'-bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 178-180°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,84 (s, 3H); 2,15-2,45 (m, 2H); 3,70-3,80 (m, 2H); 3,94 (q, 1H); 4,31 (m, 1H); 6,21 (t, 1H); 6,95 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 8,30 (t, 1H); 11,63 (s, 1H).

2. Derivados 5'-sustituídos de BVDU y BVRU como compuestos de referencia

2.1. 5'-Halógeno-BVDU

2.1.1. 2',5'-Didesoxi-5'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 50 ml de DMF 3,5 g (7,18 mmol) de 5'-O-metilsulfonil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 9,06 (28,72 mmol) de trishidrato de fluoruro de tetrabutilamonio. Tras añadir 20 g de tamiz molecular (3Å) se calienta a 40°C. Al cabo de 4,5 horas, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se filtra a través de Celite, se lava después a fondo con DMF y se elimina DMF por destilación. Se añade xileno como agente de arrastre. Se disuelve en acetato de etilo el residuo y se lava con ácido clorhídrico 1 M. Se lava con tampón de fosfato la fase de acetato de etilo y después con una disolución saturada de sal común. Se neutralizan las fases acuosas reunidas y se extraen con acetato de etilo. Se reúnen todas las fases de acetato de etilo y se secan sobre sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 15:1). Se obtienen 1,05 g (43,8%) de un sólido incoloro de punto de fusión 208°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,18 (m, 2H); 3,93 (m, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,60 (m, 2H); 5,45 (d, 1H); 6,18 (d, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,74 (s, 1H); 11,60 (s, 1H) ppm.

La Figura 4 muestra los resultados de un compuesto de referencia en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

2.1.2. 3'-O-Metil-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 9 ml de dioxano 0,55 g (1,56 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden a esto 3 ml de tolueno, 0,03 ml de agua y 0,46 g (8,2 mmol) de hidróxido de potasio. Al cabo de 2 horas se ha formado una suspensión fina. Después se añaden 0,44 g (3,12 mmol) de yodometano. Al cabo de 1 hora se añade la misma cantidad de yodometano y una vez más después de una hora adicional. Después de esto, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se vierte la preparación en una mezcla bifásica de 25 ml de acetato de etilo y 25 ml de tampón de fosfato y se extrae con acetato de etilo la fase acuosa. Se secan con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 60:1). Se obtienen 430 mg (75,4%) de un sólido incoloro de punto de fusión 145°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,30 (m, 2H); 3,31 (s, 3H); 3,86 (m, 2H); 3,99 (m, 1H); 4,11 (m, 1H); 6,12 (m, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,82 (s, 1H); 11,65 (s, 1H) ppm.

2.1.3. 3'-O-Metil-5'-fluoro-2',5'-didesoxi-3-metil-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 40 ml de dioxano 1,24 g (3,7 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina y se mezclan con 15 ml de tolueno. Después se añaden 1,12 g (20 mmol) de hidróxido de potasio y 65 μl de agua. Se agita durante 2 horas a temperatura ambiente y se obtiene una suspensión fina. Se añaden a ello 1,57 g de yoduro de metilo y, al cabo de 2 horas y de 4 horas de agitación, nuevamente la misma cantidad de yoduro de metilo. Al cabo de 16 horas de agitación a temperatura ambiente, la conversión es completa (control mediante CCF con

cloroformo/metanol 10:1). Se vierte la mezcla de reacción en 100 ml de disolución tampón de fosfato y se extrae con acetato de etilo (3 x 50 ml). Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetona 50:1; ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Con ciclohexano se precipita de la disolución concentrada el producto, y se seca. Se obtienen 0,63 g (46,9%) de un sólido incoloro de punto de fusión 95°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,24 (m, 1H); 2,35 (m, 1H); 3,18 (s, 3H); 3,30 (s, 3H); 4,05 (m, 1H); 4,19 (m, 1H); 4,61 (m, 1H); 4,71 (m, 1H); 6,15 (t, 1H); 6,94 (d, 1H); 7,33 (d, 1H); 7,82 (s, 1H) ppm.

2.1.4. 3'-O-Metil-5'-fluoro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

2.1.4.1. 5'-O-(4,4'-Dimetoxitritil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 100 ml de piridina 8,20 g (24,6 mmol) de 2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden a esto 0,75 g (6,15 mmol) de 4-N,N-dimetilaminopiridina y 5,06 g (50 mmol) de trietilamina. Se enfría a 0°C y se añaden dos porciones de 5 g cada una (en total 10,0 g, 29,51 mmol) de cloruro de 4,4-dimetoxitritilo. Se agita durante 30 minutos, se retira el baño refrigerante y se calienta hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 22 horas la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Tras añadir 30 ml de etanol y agitar durante 20 minutos, se elimina piridina por destilación repetida con tolueno. Se disuelve en acetato de etilo (200 ml) el aceite de color pardo oscuro obtenido y se lava con disolución de hidrogenocarbonato de potasio al 5%. Se extrae la fase acuosa tres veces más con acetato de etilo, y se reúnen todas las fases de acetato de etilo y se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 35:1 con 1% de trietilamina). Se obtienen 13,57 g (86,8%) de una espuma incolora.

2.1.4.2. 3'-O-Metil-5'-O-(4,4'-dimetoxitritil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven 7,5 g (11,8 mmol) de 5'-O-(4,4'-dimetoxitritil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en una mezcla de 150 ml de dioxano y 50 ml de tolueno, y se añaden a ello 3,37 g (60 mmol) de hidróxido de potasio y 0,29 ml de agua. Tras agitar durante 2 horas a temperatura ambiente, se obtiene una suspensión fina incolora. Se añaden 6,71 g (47,3 mmol) de yoduro de metilo y se agita durante 1 hora. Después se añade otra vez la misma cantidad de yoduro de metilo y, transcurridas 2 horas más, la mitad de la cantidad de yoduro de metilo. Al cabo de 1,5 horas la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1; cloroformo/metanol 20:1). Se vierte la preparación en 200 ml de disolución tampón de fosfato y después se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos y, tras eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 50:1). Se obtienen 6,32 g (82,5%) de una espuma amarillenta.

2.1.4.3. 3'-O-Metil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 120 ml de cloroformo 6,32 g (9,72 mmol) de 3'-O-metil-5'-O-(4,4'-dimetoxitritil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden a esto 60 ml de metanol y, tras enfriar a 0°C, 1,85 g (9,72 mmol) de monohidrato de ácido 4-metilsulfónico. Al cabo de 1 hora (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1) la reacción ha terminado. Se añaden 2,3 g (23 mmol) de hidrogenocarbonato de potasio, se agita durante 5 minutos y se mezcla con 200 ml de disolución saturada de sal común. Se extrae con cloroformo y acetato de etilo, se reúnen todos los extractos y se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por destilación del disolvente, se efectúa extracción con ciclohexano, filtración y lavado del residuo con ciclohexano. Tras secar, se obtienen 3,33 g (98,5%) de un sólido incoloro.

2.1.4.4. 5'-O-(4-Metilbencenosulfonil)-3'-O-metil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 30 ml de piridina 3,33 g (9,6 mmol) de 3'-O-metil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se enfría a 0°C la disolución obtenida. Después se añaden 2,2 g de cloruro de 4-metilbencenosulfonilo, se agita durante 30 minutos a 0°C y después se calienta hasta la temperatura ambiente. Transcurridas 7 horas, se añaden otra vez 1,55 g (8,13 mmol) de cloruro de 4-metilbencenosulfonilo y se agita durante 20 horas. Entonces la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se vierte sobre hielo, se agita durante 30 minutos y se acidifica con ácido clorhídrico 6 M. Tras extraer con acetato de etilo, se lavan los extractos reunidos con ácido clorhídrico 1 M y después con tampón de fosfato, y se secan con sulfato de magnesio. Tras eliminar por destilación el disolvente y purificar por cromatografía en columna (ciclohexano/acetona 2:1) se obtienen 3,32 g (68,9%) de un sólido incoloro.

2.1.4.5. 3'-O-Metil-5'-fluoro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 40 ml de DMF 2,5 g (4,98 mmol) de 5'-O-(4-metilbencenosulfonil)-3'-O-metil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina, y se añaden 6,27 g (20 mmol) de trishidrato de fluoruro de tetra-n-butilamonio y 15 g de tamiz molecular (3 Å). Se calienta a 35°C. Al cabo de 1 hora, la reacción ha terminado (control mediante CCF con ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Se filtra a través de Celite y se lava de nuevo con DMF. Se elimina DMF mediante separación por destilación con xileno, se disuelve en acetato de etilo el residuo y se lava con ácido clorhídrico 1 M (80 ml). Se extrae con acetato de etilo la fase acuosa y se lavan con disolución tampón de fosfato todas las fases de acetato de etilo reunidas. Tras secar la fase orgánica con sulfato de magnesio y eliminar por destilación el

disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con ciclohexano/acetato de etilo 1:1. Se obtienen 0,99 g (56,9%) de un sólido incoloro de punto de fusión 177°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,23 (m, 1H); 2,34 (m, 1H); 3,30 (s, 3H); 4,14 (m, 1H); 4,32 (m, 1H); 4,58 (m, 1H); 4,68 (m, 1H); 6,12 (m, 1H); 6,81 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,63 (s, 1H) ppm.

5 2.2. Ésteres de 5'-halógeno-BVDU

2.2.1. 3'-O-Acetil-5'-fluoro-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

10 Se suspenden 300 mg (0,9 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina en una mezcla de 5 ml de diclorometano y 1 ml de piridina, se enfría a 0°C y se mezcla con 190 mg (2,4 mmol) de cloruro de acetilo. Al cabo de 2 horas la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Se diluye con 25 ml de acetato de etilo y se lava con 2 x 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 M la fase orgánica. Se lava hasta neutralidad con tampón de fosfato. Tras secar sobre sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 4:1). Tras reprecipitar en éter t-butilmetílico/ciclohexano, se obtienen 90 mg (27%) de un sólido incoloro con punto de fusión 81°C.

15 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,07 (s, 3H); 2,42 (m, 2H); 4,25 (m, 1H); 4,70 (m, 2H); 5,24 (m, 1H); 6,16 (m, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,81 (s, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

2.2.2. Ésteres de aminoácido de 5'-halógeno-BVDU

2.2.2.1. 4-(t-Butoxicarbonil)amino-1-(5'-fluoro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-3'-il)-butanoato

20 Se disuelven en 20 ml de diclorometano 280 mg (1,33 mmol) de ácido N-BOC-4-aminobutírico y 290 mg (2,39 mmol) de 4-dimetilaminopiridina. Se añaden a ello 400 mg (1,19 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina y 280 mg (1,34 mmol) de N,N'-diclohexilcarbodiimida. Al cabo de 2 horas, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Se filtra la preparación y se somete a evaporación rotativa. Tras disolver en acetato de etilo, se enfría hasta -20°C, se separa por filtración el precipitado y se lava con una pequeña cantidad de acetato de etilo enfriado a -20°C. Se somete a evaporación rotativa el filtrado y se purifica varias veces por cromatografía en columna con diclorometano/metanol (30:1). Se obtienen 400 mg (64,1%) de una espuma incolora.

25 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,37 (s, 9H); 1,62 (m, 2H); 2,37 (m, 2H); 2,40 (m, 1H); 2,51 (m, 1H); 2,94 (m, 2H); 4,25 (m, 1H); 4,68 (m, 2H); 5,24 (m, 1H); 6,18 (m, 1H); 6,84 (t, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,83 (s, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

2.2.2.2. Trifluoroacetato de 4-amonio-1-(5'-fluoro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-3'-il)-butanoato

30 Se disuelven en 5 ml de diclorometano 290 mg (0,56 mmol) del producto de 2.2.2.1. y se mezclan con 5 ml de ácido trifluoroacético. Al cabo de 30 minutos la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 25:1). Tras someter varias veces a evaporación rotativa con diclorometano, se trata con éter dietílico el residuo y se separa por filtración el residuo incoloro y se lava con éter dietílico. Tras secar, se obtienen 270 mg (90,6%) de un polvo incoloro con punto de fusión 129°C.

35 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 11,75 (s, 1H); 7,82 (s, 1H); 7,71 (s (ancho), 3H); 7,29 (d, 1H); 6,91 (d, 1H); 6,18 (m, 1H); 5,27 (m, 1H); 4,74 (m, 1H); 4,67 (m, 1H); 4,24 (m, 1H); 2,83 (m, 2H); 2,44 (m, 3H); 2,37 (m, 1H); 1,80 (m, 2H) ppm.

2.2.2.3. 4-(t-Butoxicarbonil)amino-1-(5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-3'-il)-butanoato

40 Se añaden a 12 ml de diclorometano 500 mg (1,42 mmol) de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, 290 mg (1,42 mmol) de ácido N-BOC-4-aminobutírico y 175 mg (1,42 mmol) de 4-dimetilaminopiridina, se enfría a 0°C la suspensión obtenida y se añaden después 423 mg (1,42 mmol) de metoyoduro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida. Después de retirar el baño frío, se agita durante 6 horas. Transcurrido este tiempo, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se elimina por evaporación rotativa el diclorometano y se toma en acetato de etilo el residuo. Se lava varias veces la fase orgánica con disolución saturada de sal común.

45 Se extraen con acetato de etilo las fases acuosas reunidas. Se reúnen todas las fases orgánicas y se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 50:1; ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Se obtienen 520 mg (68,2%) de una espuma incolora.

50 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,37 (s, 9H); 1,64 (m, 2H); 2,36 (m, 3H); 2,51 (m, 1H); 2,94 (m, 2H); 3,91 (m, 2H); 4,21 (m, 1H); 5,24 (m, 1H); 6,18 (m, 1H); 6,82 (t, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

2.2.2.4. Trifluoroacetato de 4-amonio-1-(5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridin-3'-il)-butanoato

Se disuelven en 4 ml de diclorometano 200 mg (0,372 mmol) de 4-(t-butoxicarbonil)amino-1-(5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-

(E)-bromoviniluridin-3'-il)-butanoato y se añaden después 7 ml de ácido trifluoroacético. Al cabo de 30 minutos todo se ha transformado (control mediante CCF con ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Tras múltiple evaporación rotativa con diclorometano, se trata el residuo con éter dietílico y se separa por filtración y se seca el precipitado incoloro. Se obtienen 160 mg (78,0%) de un polvo incoloro con punto de fusión 148°C.

- 5 $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6): 11,75 (s, 1H); 7,87 (s, 1H); 7,72 (s, 3H); 7,30 (d, 1H); 6,91 (d, 1H); 6,20 (m, 1H); 5,25 (m, 1H); 4,21 (m, 1H); 3,91 (m, 2H); 2,83 (m, 2H); 2,35 (m, 4H); 1,81 (m, 2H) ppm.

La Figura 5 muestra los resultados de un compuesto de referencia en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

2.2.2.5. 3'-O-(N-t-Butiloxicarbonil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

- 10 Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,00 g (2,84 mmol) de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. A continuación se añaden 618 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valina, 347 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N-dimetilaminopiridina y 587 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-diclohexilcarbodiimida, y después se agita la mezcla de reacción durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y a continuación se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (CHCl₃/MeOH, 95/5, acetato de etilo/diclorometano, 3/1) proporciona 1,00 g (1,82 mmol, 64%) de 3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 87-88°C.

- 20 $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6): 0,89-0,91 (m, 6H); 1,39 (s, 9H); 2,03 (m, 1H); 2,31 (m, 1H); 2,53 (m, 1H); 3,83 (t, 1H); 3,88-3,91 (m, 2H); 4,12 (m, 1H); 5,28 (m, 1H); 6,22 (t, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

2.2.2.6. Trifluoroacetato de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-3'-O-L-valinoil-5-(E)-bromoviniluridina

- 25 Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 600 mg (1,09 mmol) de 3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 1,0 ml (14 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 450 mg (797 μmol , 73%) de trifluoroacetato de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-3'-O-L-valinoil-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 108-109°C.

- 30 $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6): 0,97-1,01 (m, 6H); 2,19 (m, 1H); 2,37 (m, 1H); 2,58 (m, 1H); 3,89-3,97 (m, 2H); 4,00 (s ancho, 1H); 4,27 (m, 1H); 5,39 (m, 1H); 6,25 (dd, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 8,37 (s ancho, 3H); 11,71 (s, 1H) ppm.

2.2.2.7. 3'-O-(N-t-Butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

- 35 Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,00 g (2,84 mmol) de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. A continuación se añaden 900 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valina, 347 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N-dimetilaminopiridina y 587 mg (2,84 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-diclohexilcarbodiimida, y después se agita la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y después se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 3/1) proporciona 850 mg (1,31 mmol, 46%) de 3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 114-116°C.

- 45 $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6): 0,83-0,93 (m, 12H); 1,37 (s, 9H); 1,91 (m, 1H); 2,09 (m, 1H); 2,30 (m, 1H); 3,88-3,91 (m, 3H); 4,13-4,22 (m, 2H); 5,27 (m, 1H); 6,20 (m, 1H); 6,70 (m, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 8,15 (m, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

2.2.2.8. Trifluoroacetato de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-3'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina

- 50 Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 200 mg (308 μmol) de 3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,35 ml (4,7 mmol) de ácido trifluoroacético y después se agita la mezcla de reacción durante 3 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 180 mg (271 μmol , 88%) de trifluoroacetato de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-3'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 135-136°C.

- $^1\text{H-RMN}$ (500 MHz, DMSO- d_6): 0,92-0,99 (m, 12H); 2,08-2,18 (m, 2H); 2,35 (m, 1H); 2,55 (m, 1H); 3,73 (m, 1H); 3,91

(m, 1H); 4,17 (m, 1H); 4,28 (m, 1H); 5,31 (m, 1H); 6,21 (m, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,87 (s, 1H); 8,10 (s ancho, 3H); 8,73 (d, 1H); 11,70 (s, 1H) ppm.

2.2.2.9. 5'-Azido-3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

5 Se disponen en 20 ml de diclorometano, a 0°C, 1,10 g (3,07 mmol) de 5'-azido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. A continuación se añaden 950 mg (3,07 mmol, 1,0 eq.) de N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valina, 375 mg (3,07 mmol, 1,0 eq.) de N,N-dimetilaminopiridina y 634 mg (3,07 mmol, 1,0 eq.) de N,N'-díciclohexilcarbodiimida, y después se agita la mezcla de reacción durante 2 días a temperatura ambiente. Se separa por filtración el precipitado resultante y se lava con diclorometano. Se lava el filtrado con disolución diluida de ácido cítrico, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl, y a continuación se seca con Na₂SO₄. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente.

10 La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 2/1) proporciona 600 mg (914 μmol, 30%) de 5'-azido-3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 133-135°C.

15 ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 0,83-0,94 (m, 12H); 1,38 (s, 9H); 1,93 (m, 1H); 2,10 (m, 1H); 2,34 (m, 1H); 2,53 (m, 1H); 3,58-3,76 (m, 2H); 3,91 (m, 1H); 4,04-4,24 (m, 2H); 5,24 (m, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,72 (m, 1H); 6,94 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,92 (s, 1H); 8,14 (m, 1H); 11,70 (s, 1H) ppm. Está presente una mezcla de dos rotámeros en proporción 1:1, por lo que algunas señales aparecen dos veces.

2.2.2.10. Trifluoroacetato de 5'-azido-2',5'-didesoxi-3'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina

20 Se disponen en 5 ml de diclorometano, a 0°C, 200 mg (305 μmol) de 5'-azido-3'-O-(N-t-butiloxicarbonil-L-valil-L-valinoil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, se añaden 0,33 ml (4,47 mmol) de ácido trifluoroacético y a continuación se agita la mezcla de reacción durante 4 horas a temperatura ambiente. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se mezcla con 5 ml de éter dietílico el producto bruto y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se separa por decantación el disolvente y se mantiene el residuo en un evaporador rotativo durante 1 hora a 40°C. Resultan 160 mg (239 μmol, 78%) de trifluoroacetato de 5'-azido-2',5'-didesoxi-3'-O-(L-valil-L-valinoil)-5-(E)-bromoviniluridina en forma de un sólido blanco con un punto de fusión de 122-124°C.

25 ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 0,92-0,99 (m, 12H); 2,09-2,18 (m, 2H); 2,25-2,40 (m, 1H); 2,50-2,62 (m, 1H); 3,56-3,80 (m, 3H); 4,04-4,15 (m, 1H); 4,22-4,29 (m, 1H); 5,25 (m, 1H); 6,20 (m, 1H); 6,92 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,91 (s, 1H); 8,10 (s ancho, 3H); 8,68 (d, 1H); 11,69 (s, 1H) ppm. Se presenta una mezcla de dos rotámeros en proporción 1:2, por lo que algunas señales aparecen dos veces.

30 2.2.3. Fosforamidatos de 5'-halógeno-BVDU

2.2.3.1. (E)-5-(2-Bromovinil)-5'-cloro-2',5'-didesoxiuridin-3'-[fenil-(metoxi-L-alaninil)]-fosfato

35 Se disuelven o suspenden en 15 ml de diclorometano 1,55 g (7,35 mmol) de diclorofosfato de fenilo y 1,03 g (7,35 mmol) de hidrocloreto de éster metílico de L-alanina, y se enfría a -78°C. Se disuelve trietilamina (1,52 g (15 mmol)) en 15 ml de diclorometano y se añade gota a gota, a -78°C, en el transcurso de 2 horas. Después de la adición gota a gota se calienta hasta la temperatura ambiente y se agita durante 18 horas. Se elimina diclorometano por evaporación rotativa, se toma el residuo en éter dietílico y se separa por filtración la parte no disuelta. Después se elimina éter dietílico y, sin purificación, se continúa el tratamiento del producto bruto oleoso.

40 Se disuelven en 15 ml de THF 0,57 g (1,62 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina y el producto bruto anteriormente obtenido, y se enfría la disolución a -78°C. Se disuelven en 5 ml de THF 0,82 g (10 mmol) de N-metilimidazol y se añaden gota a gota en el transcurso de 20 minutos. Se deja calentar gradualmente hasta la temperatura ambiente y se agita durante 20 horas más a esta temperatura. Transcurrido este tiempo, la reacción es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se vierte la preparación en una mezcla bifásica de tampón de fosfato y acetato de etilo y se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos, se filtran y se elimina por evaporación rotativa el disolvente.

45 Tras purificar por cromatografía en columna (diclorometano/metanol 30:1; cloroformo/acetona 5:1) se obtienen 0,62 g (64,6%) de una espuma incolora.

50 ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃): 8,56 (s, 1H); 8,55* (s, 1H); 7,66 (s, 1H); 7,63* (s, 1H); 7,35 (m, 3H); 7,22 (m, 3H); 6,68 (d, 1H); 6,66* (d, 1H); 6,30 (m, 1H); 5,11 (m, 1H); 4,50* (m, 1H); 4,37 (m, 1H); 4,02 (m, 1H); 3,91* (m, 2H); 3,83 (m, 2H); 3,76* (s, 3H); 3,73 (s, 3H); 3,71* (m, 1H); 3,63 (m, 1H); 2,65 (m, 1H); 2,58* (m, 1H); 2,25 (m, 1H); 1,40 (d, 3H) ppm.

La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1,2:1). Las señales de RMN marcadas con un * se refieren al diastereómero que está presente en menor proporción.

³¹P-RMN (202 MHz, CDCl₃); 2,31; 1,61 ppm

La Figura 6 muestra los resultados de un compuesto de referencia en combinación con mitomicina C (MMC),

comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

2.2.3.2. [5-(E)-Bromovinil-5'-fluoro-2',5'-didesoxiuridin]-3'-il-(metoxi-L-alaninil)-fenil-fosfato

Se disponen en 7 ml de THF, a -78°C, 600 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de diclorofosfato de fenilo y 397 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de hidrocloreto de éster metílico de L-alanina. Se disuelven en 7 ml de THF 576 mg (5,69 mmol, 4 eq.) de trietilamina, se añaden gota a gota en el transcurso de 30 minutos y después se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se enfría a -78°C la mezcla de reacción y se añaden 477 mg (1,42 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-fluoro-5-(E)-bromoviniluridina. A la suspensión obtenida se añade a gota a gota, en el transcurso de 30 minutos, una disolución de 700 mg (8,53 mmol, 6 eq.) de N-metilimidazol en 7 ml de THF, y después se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se vierte la preparación en una mezcla de 25 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo y se extrae dos veces la fase acuosa, con 20 ml de acetato de etilo cada vez. Se seca sobre Na₂SO₄ la fase orgánica combinada, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 1/1; acetato de etilo) proporciona 310 mg (523 μmol, 37%) de [5-(E)-bromovinil-5'-fluoro-2',5'-didesoxiuridin]-3'-il-[(metoxi-L-alaninil)-fenil]-fosfato en forma de sólido blanco.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,22 (d, 3H); 1,25* (d, 3H); 2,40-2,59 (m, 4H); 3,61 (s, 3H); 3,62 (s, 3H); 3,81-3,98 (m, 2H); 4,19-4,35 (m, 2H); 4,52-4,82 (m, 4H); 5,00-5,12 (m, 2H); 6,13-6,26 (m, 4H); 6,89* (d, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,16-7,43 (m, 12H); 7,79* (s, 1H); 7,80 (s, 1H), 11,67* (s, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1,2:1). Las señales designadas con * se refieren al isómero en defecto.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 3,91; 4,54 ppm.

2.2.3.3. [5'-Azido-5-(E)-bromovinil-2',5'-didesoxiuridina]-3'-il-(metoxi-L-

Se disponen en 7 ml de THF, a -78°C, 600 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de diclorofosfato de fenilo y 397 mg (2,84 mmol, 2 eq.) de hidrocloreto de éster metílico de L-alanina. Se disuelven en 7 ml de THF 576 mg (5,69 mmol, 4 eq.) de trietilamina, se añaden gota a gota en el transcurso de 30 minutos, y después se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se enfría a -78°C la mezcla de reacción y se añaden 509 mg (1,42 mmol) de 5'-azido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. A la suspensión obtenida se añade gota a gota, en el transcurso de 30 minutos, una disolución de 700 mg (8,53 mmol, 6 eq.) de N-metilimidazol en 7 ml de THF, y a continuación se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Se vierte la preparación en una mezcla de 25 ml de tampón de fosfato y 25 ml de acetato de etilo y se extrae la fase acuosa dos veces más, con 20 ml de acetato de etilo cada vez. Se seca sobre Na₂SO₄ la fase orgánica reunida, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo, 1/1; acetato de etilo) proporciona 160 mg (267 μmol, 19%) de [5'-azido-5-(E)-bromovinil-2',5'-didesoxiuridin]-3'-il-[(metoxi-L-alaninil)-fenil]-fosfato en forma de sólido blanco.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 1,22 (d, 3H); 1,25* (d, 3H); 2,35-2,58 (m, 4H); 3,57-3,70 (m, 4H); 3,62 (s, 6H); 3,87-3,92 (m, 2H); 4,13-4,18 (m, 2H); 4,94-4,99* (m, 1H); 5,00-5,05 (m, 1H); 6,14-6,22 (m, 4H); 6,90* (d, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,16-7,24 (m, 6H); 7,28-7,32 (m, 2H); 7,36-7,42 (m, 4H), 7,88* (s, 1H); 7,89 (s, 1H); 11,69 (s, 2H) ppm.

La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1,5:1). Las señales designadas con * se refieren al isómero en defecto.

³¹P-RMN (122 MHz, DMSO-d₆): 3,93; 4,54 ppm.

2.3. 5'-Bromo-5'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

2.3.1. 2',3'-O-Isopropiliden-5-(E)-bromoviniluridina

Se suspenden en 15 ml de acetona 1,0 g (2,86 mmol) de 5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden a ello 3,13 g (30 mmol) de 2,2-dimetoxipropano y 0,05 g de ácido p-toluensulfónico. Al cabo de 2 horas la reacción es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se añaden 0,50 g de hidrogenocarbonato de potasio, 20 ml de agua y 25 ml de acetato de etilo, se separan las fases y se extrae varias veces con acetato de etilo la acuosa. Se secan con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas. Después de separar por filtración el agente desecante y eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 30:1. Se obtienen 0,57 g (51,2%) de una espuma incolora.

2.3.2. 2',3'-O-Isopropiliden-5'-bromo-5'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 12 ml de piridina 0,57 g (1,46 mmol) de 2',3'-O-isopropiliden-5-(E)-bromoviniluridina y 0,81 g (3,1 mmol) de trifetilfosfina. A ello se añade gota a gota una disolución de 0,92 g (2,77 mmol) de tetrabromometano en 8 ml de piridina. Al cabo de 90 minutos la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 30:1). Se elimina piridina por destilación con acetato de etilo y se purifica el residuo por cromatografía en columna con diclorometano/acetato de etilo 12:1. Se obtienen 380 mg (57,7%) de una espuma incolora.

2.3.3. 5'-Bromo-5'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 5 ml de ácido trifluoroacético y 1 ml de agua 0,38 g (0,84 mmol) de 2',3'-O-isopropiliden-5'-bromo-5'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina, y se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 30:1). Se concentra a sequedad por evaporación, se toma varias veces en metanol y se evapora de nuevo. Tras purificar por cromatografía en columna se obtienen 0,25 g (72,2%) de un sólido incoloro con punto de fusión 201°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,71 (m, 1H); 3,81 (m, 1H); 3,99 (m, 2H); 4,19 (m, 1H); 5,41 (d, 1H); 5,55 (d, 1H); 5,82 (d, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,81 (s, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

2.4. 5'- o 3'-Fosforamiditas de BVDU

10 2.4.1. [5-(E)-Bromovinil-5'-metoxi-2'-desoxiuridin]-3'-il-(2-cianoetil)-diisopropilfosforamidita

2.4.1.1. 3'-O-(t-Butildimetilsilil)-5'-metoxi-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 17 ml de dioxano y 6 ml de tolueno 1,33 g (2,97 mmol) de 3'-O-(t-butildimetilsilil)-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina, y se añaden 0,88 g (15,6 mmol) de KOH y 60 µl (3,3 mmol) de agua. Se agita la mezcla de reacción durante 2½ horas a temperatura ambiente y después se añaden 0,85 g (6,0 mmol) de MeI. Tras agitar durante 3 horas más, se añaden 120 ml de disolución tampón de fosfato (pH = 7) y se extrae la mezcla tres veces con 50 ml de acetato de etilo. Se seca sobre MgSO₄ la fase orgánica combinada, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 100/1) proporciona 1,04 g (2,25 mmol, 76%) de 3'-O-(t-butildimetilsilil)-5'-metoxi-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

20 2.4.1.2. 2'-Desoxi-5'-metoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 25 ml de THF 26,2 g (5,68 mmol) de 3'-O-(t-butildimetilsilil)-5'-metoxi-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden, gota a gota, 2,69 g (8,52 mmol) de fluoruro de tetrabutilamonio en 25 ml de THF. Se agita la mezcla de reacción durante 4 horas a temperatura ambiente y a continuación se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 25/1) proporciona 1,73 g (4,98 mmol, 88%) de 2'-desoxi-5'-metoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

2.4.1.3. [5-(E)-Bromovinil-5'-metoxi-2'-desoxiuridin]-3'-il-(2-cianoetil)-diisopropilfosforamidita

Se disuelven en 5 ml de diclorometano 200 mg (574 µmol) de 2'-desoxi-5'-metoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden 200 µl (1,15 mmol) de diisopropiletilamina. Se enfría a 0°C la mezcla de reacción y después se añaden 192 µl (861 µmol) de 2-cianoetil-diisopropilclorofosforamidita. Al cabo de 3 horas a 0°C se elimina en un evaporador rotativo el disolvente, se toma el residuo en 50 ml de disolución de NaHCO₃ y se extrae tres veces con 50 ml de acetato de etilo. Se lava con 50 ml de disolución saturada de NaCl la fase orgánica combinada, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 9/1, ciclohexano/acetato de etilo 1/1) proporciona 130 mg (237 µmol, 41%) de [5-(E)-bromovinil-5'-metoxi-2'-desoxiuridin]-3'-il-(2-cianoetil)diisopropilfosforamidita en forma de sólido blanco.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,19 (d, 12H); 2,17-2,24 (m, 1H); 2,41-2,58 (m, 1H); 2,64 (t, 2H); 3,46-3,47 (2 x s, 3H); 3,55-3,91 (m, 6H); 4,16-4,23 (m, 1H); 4,57-4,61 (m, 1H); 6,30-6,36 (m, 1H); 6,63 (d, 1H); 7,33 (d, 1H); 7,92-7,94 (2 x s, 1H); 8,23 (s ancho, 1H) ppm.

La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1:1).

40 ³¹P-RMN (122 MHz, CDCl₃): 149,45; 149,51 ppm.

2.4.2. [5-(E)-Bromovinil-3'-metoxi-2'-desoxiuridin]-5'-il-(2-cianoetil)-diisopropilfosforamidita

Se disuelven en 5 ml de diclorometano 200 mg (574 µmol) de 2'-desoxi-3'-metoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se añaden 200 µl (1,15 mmol) de diisopropiletilamina. Se enfría a 0°C la mezcla de reacción y después se añaden 192 µl (861 µmol) de 2-cianoetil-diisopropilclorofosforamidita. Al cabo de 2 horas a 0°C se elimina en un evaporador rotativo el disolvente, se toma el residuo en 50 ml de disolución de NaHCO₃ y se extrae tres veces con 50 ml de acetato de etilo. Se lava con 50 ml de disolución saturada de NaCl la fase orgánica reunida, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 9/1, diclorometano/acetato de etilo 1/1) proporciona 120 mg (219 µmol, 38%) de [5-(E)-bromovinil-3'-metoxi-2'-desoxiuridin]-5'-il-(2-cianoetil)-diisopropilfosforamidita en forma de sólido blanco.

50 ¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 1,17-1,26 (m, 12H); 1,96-2,17 (m, 1H); 2,45-2,57 (m, 1H); 2,65-2,74 (m, 2H); 3,35-3,37 (2 x s, 3H); 3,55-3,65 (m, 2H); 3,81-4,09 (m, 5H); 4,17-4,25 (2 x m, 1H); 6,20-6,34 (2 x m, 1H); 6,74-6,83 (2 x d, 1H); 7,40-7,42 (2 x d, 1H); 7,85, 8,10 (2 x s, 1H); 8,03 (s ancho, 1H) ppm.

La sustancia consiste en una mezcla de diastereómeros (proporción aproximada 1:1).

³¹P-RMN (122 MHz, CDCl₃): 150,02; 150,48 ppm.

3. 3',5'-Dihalogenoderivados de BVDU

3.1. 3',5'-Difluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

5 3.1.1. 5'-O-Tritil-2',3'-anhidro-2'-desoxi-5-etiluridina

Se disuelven en 170 ml de THF 17,84 g (35,78 mmol) de 5'-O-tritil-2'-desoxi-5-etil-uridina y 14,08 g (53,67 mmol) de trifetilfosfina. Se añade gota a gota a esta disolución, en el transcurso de 40 minutos, una disolución de 10,85 g (53,67 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo en 120 ml de THF. Tras agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Después de concentrar por evaporación rotativa se obtienen, tras purificar por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 10:1), 13,00 g (75,6%) de una espuma incolora.

10 3.1.2. 1-(5'-O-Tritil-2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-etil-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

Se calientan a ebullición durante 90 minutos 14,24 g (29,63 mmol) de 5'-O-tritil-2',3'-anhidro-2'-desoxi-5-etil-uridina en una mezcla de 500 ml de etanol y 140 ml de agua, con 3,03 g (75,85 mmol) de hidróxido de sodio. Transcurrido este tiempo, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se concentra por evaporación rotativa la disolución, se trata con tampón de fosfato y acetato de etilo, y se separan las fases. Se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa. Se secan con sulfato de magnesio las fases de acetato de etilo reunidas. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se seca el producto obtenido y se obtienen 13,25 g (90,4%) de un sólido incoloro.

20 3.1.3. 5'-O-Tritil-3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-etiluridina

Se disuelven en 130 ml de diclorometano 7,73 g (15,51 mmol) de 1-(5'-O-tritil-2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-etil-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona y, a 0°C, se añade gota a gota, en el transcurso de 30 minutos, una disolución de 5,0 g (31,02 mmol) de dietilaminosulfotri fluoruro (DAST). Después de agitar durante 1 hora a 0°C, la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se vierte la preparación en disolución de hidrogenocarbonato de sodio (al 5%) enfriada con hielo, se separan las fases y se extrae la fase acuosa dos veces más, con 50 ml de diclorometano cada vez. Se secan con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas y, tras filtrar y someter a evaporación rotativa, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 5:1). Se obtienen 5,17 g (66,6%) de una espuma incolora.

25 3.1.4. 3'-Fluoro-2',3'-didesoxi-5-etiluridina

Se disuelven en 70 ml de ácido acético 4,69 g (9,37 mmol) de 5'-O-tritil-3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-etiluridina y se añaden lentamente 18 ml de agua. Se calienta durante 20 minutos a 90°C, tras de lo cual la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Se pone la preparación en un baño de hielo durante 1 hora, se filtra, y se lava con ácido acético al 80% el residuo. Se diluye con 400 ml de agua el filtrado y se extrae varias veces con acetato de etilo. Se lavan con disolución saturada de sal común los extractos reunidos y se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 15:1). Se obtienen 1,33 g (55,0%) de un sólido incoloro.

30 3.1.5. 5'-O-Metilsulfonil-3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-etiluridina

Se disuelven en 8 ml de piridina 1,33 g (5,15 mmol) de 3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-etil-uridina y a ello se añade gota a gota, a 0°C y en el transcurso de 20 minutos, una disolución de 1,78 g (15,5 mmol) de cloruro de metilsulfonilo en 2,5 ml de THF. Se deja calentar hasta la temperatura ambiente. Después de esto, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se vierte en agua de hielo la preparación y se agita durante 15 minutos. Después de acidificar (pH aproximadamente 1,5) se extrae con acetato de etilo, y se lavan con tampón de fosfato los extractos reunidos. Tras secar con sulfato de magnesio, filtrar y eliminar por destilación el disolvente, se obtienen 1,68 g (97,1%) de una espuma incolora.

35 3.1.6. 3',5'-Difluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-etil-uridina

Se disuelven en 30 ml de DMF 1,68 g (4,99 mmol) de 5'-O-metilsulfonil-3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-etiluridina y 6,30 g (20,00 mmol) de trishidrato de fluoruro de tetrabutilamonio, y se añaden 20 g tamiz molecular (3Å). Tras calentar durante 1,5 horas a 40°C, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se elimina DMF con xileno y se disuelve en acetato de etilo el residuo. Se lava con ácido clorhídrico 1 M y tampón de fosfato la fase de acetato de etilo. Se neutralizan las fases acuosas reunidas y se extraen con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio todas las fases de acetato de etilo reunidas y, después de filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se purifica varias veces por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 30:1; cloroformo/acetato de etilo 3:1). Se obtienen 0,52 g (40,0%) de un sólido incoloro.

3.1.7. 3',5'-Difluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven 520 mg (1,99 mmol) de 3',5'-difluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-etil-uridina en 15 ml de cloroformo y se calienta a ebullición. Se añaden 10 mg de azo-bis-isobutironitrilo (AIBN), y se añade gota a gota una disolución de 702 mg de bromo en 2 ml de cloroformo. Durante la adición gota a gota, se irradia con una lámpara de 500 W. Al cabo de 40 minutos se ha añadido todo el bromo, y se calienta a reflujo durante 1 hora más. Después de enfriar, se hace pasar argón a través de la disolución y se añaden 304 mg de trietilamina. Tras agitar durante 1,5 horas a temperatura ambiente, se extrae por agitación con tampón de fosfato y se extrae de nuevo la fase acuosa varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación múltiple por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 25:1; cloroformo/acetato de etilo 5:1) y posterior recristalización en etanol y metanol/agua. Se obtienen 211 mg (31,3%) de un sólido incoloro con punto de fusión 177-180°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,38 (m, 2H); 4,43 (m, 1H); 4,69 (m, 2H); 5,42 (m, 1H); 6,19 (m, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,79 (s, 1H); 11,69 (s, 1H) ppm.

La Figura 7 muestra los resultados de este compuesto según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

3.2. 3'-Fluoro-5'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 7 ml de DMF 190 mg (0,57 mmol) de 3'-fluoro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 200 mg (0,76 mmol) de trifetilfosfina, y se añaden a ello 440 mg (2,83 mmol) de tetraclorometano. Tras agitar durante 18 horas a temperatura ambiente se añaden 100 mg (0,38 mmol) de trifetilfosfina y 220 mg (1,42 mmol) de tetraclorometano. Al cabo de 22 horas la reacción es completa (control mediante CCF con diclorometano/acetato de etilo 4:1). Se elimina DMF por destilación con xileno y se purifica el residuo por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 5:1). Se obtienen 60 mg (30%) de un sólido cristalino con punto de fusión 203°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,36 (m, 2H); 3,88 (m, 2H); 4,36 (m, 1H); 5,35 (d, 1H); 6,21 (m, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,85 (s, 1H); 11,69 (s, 1H) ppm.

3.3. 3',5'-Dicloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 10 ml de DMF 0,70 g (2,0 mmol) de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 0,70 g (2,7 mmol) de trifetilfosfina, y se añaden a ello 1,59 g (10,0 mmol) de tetraclorometano. Tras agitar durante 24 horas a temperatura ambiente, la reacción es completa (control mediante CCF con diclorometano/acetato de etilo 4:1). Se elimina DMF por destilación con xileno y se purifica el residuo por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 4:1). Tras recristalizar en n-hexano/acetato de etilo se obtienen 180 mg (24,3%) de un sólido cristalino con punto de fusión 184°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,59 (m, 1H); 2,76 (m, 1H); 3,94 (m, 2H); 4,27 (m, 1H); 4,71 (m, 1H); 6,26 (m, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,81 (s, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

3.4. 3'-Azido-5'-fluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

3.4.1. 2',3'-Didesoxi-3'-azido-5'-O-(4-metilfenilsulfonil)-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 20 ml de piridina, a 0°C, 2,54 g (7,09 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-azido-5-(E)-bromoviniluridina, y a ello se añaden 2,56 g (13,42 mmol) de cloruro de 4-metil-fenilsulfonilo. Se deja calentar hasta la temperatura ambiente y se agita durante 20 horas. Al cabo de este tiempo, la reacción es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se vierte la preparación en 80 ml de agua de hielo y se acidifica con ácido clorhídrico 6 M. Se extrae con acetato de etilo y se lavan con disolución saturada de sal común los extractos reunidos y se secan con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, el rendimiento asciende a 3,32 g (91,5%) de una espuma incolora.

3.4.2. 3'-Azido-5'-fluoro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 50 ml de DMF 3,32 g (6,48 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-azido-5'-O-(4-metilfenilsulfonil)-5-(E)-bromoviniluridina, y se añaden a ello 20 g de tamiz molecular (3Å) y 8,17 g de trishidrato de fluoruro de tetrabutilamonio. Tras calentar durante 6 horas a 40°C, la reacción ha terminado (control mediante CCF con ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Se elimina DMF con xileno y se disuelve en acetato de etilo el residuo pardo oleoso y se lava con 100 ml de ácido clorhídrico 1 M, dos veces con 50 ml de tampón de fosfato cada vez, y con disolución saturada de sal común. Se reúnen las fases acuosas, se neutralizan y se extraen con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio todas las fases orgánicas reunidas. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 5:1; ciclohexano/acetato de etilo 1,2:1). Se obtienen 0,72 g (19,2%) de un sólido incoloro con un punto de fusión de 135°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,45 (m, 2H); 4,05 (m, 1H); 4,53 (m, 1H); 4,62 (m, 1H); 4,73 (m, 1H); 6,13 (m, 1H);

6,90 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,74 (s, 1H); 11,64 (s, 1H) ppm.

3.5. 3'-Cloro-5'-bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

3.5.1. 2',3'-Didesoxi-3'-cloro-5'-O-metilsulfonil-5-(E)-bromoviniluridina

5 Se disuelven en 5 ml de THF/piridina (1:1) 1,0 g (2,84 mmol) de 3'-cloro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y, a 0°C, se añaden gota a gota 1,10 g (9,6 mmol) de cloruro de metilsulfonilo, disueltos en 5 ml de THF. Se deja calentar hasta la temperatura ambiente y se agita en total durante 20 horas. Transcurrido este tiempo, la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se vierte la preparación en agua de hielo y se agita durante 15 minutos. Se acidifica con ácido clorhídrico 2 M y se extrae con acetato de etilo el aceite que precipita. Se lavan con tampón de fosfato las fases de acetato de etilo reunidas y se secan con sulfato de magnesio. 10 Tras filtrar y eliminar por destilación el disolvente se obtienen 1,22 g (rendimiento cuantitativo) de una espuma incolora.

3.5.2. 3'-Cloro-5'-bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

15 Se calientan durante 3 horas 510 mg (1,18 mmol) de 3'-cloro-5'-O-(metilsulfonil)-5-(E)-bromoviniluridina con 515 mg (6 mmol) de bromuro de litio. Transcurrido este tiempo, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 25:1). Se elimina DMF por destilación con xileno y se purifica el residuo por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 60:1, diclorometano/metanol 40:1 y ciclohexano/acetato de etilo 1,2:1. Se obtienen 240 mg (49,1%) de un sólido incoloro de punto de fusión 149°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,52 (m, 1H); 2,76 (m, 1H); 3,73 (m, 1H); 3,81 (m, 1H); 4,27 (m, 1H); 4,68 (m, 1H); 6,27 (m, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,82 (s, 1H); 11,67 (s, 1H) ppm.

20 3.5.3. 5'-Azido-3'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

25 Se calientan en 20 ml DMF, durante 1 hora, 3,50 g (8,15 mmol) de 3'-cloro-5'-O-(metilsulfonil)-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina con 1,20 g (24,4 mmol, 3,0 eq.) de azida de litio. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 12/1) proporciona 2,12 g (5,63 mmol, 69%) de 5'-azido-3'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 58-60°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,58 (m, 1H); 2,75 (m, 1H); 3,60 (m, 1H); 3,71 (m, 1H); 4,19 (m, 1H); 4,71 (m, 1H); 6,25 (dd, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,86 (s, 1H); 11,69 (s, 1H) ppm.

3.5.4. 3'-Azido-5'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

3.5.4.1. 5'-Cloro-3'-O-(metilsulfonil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

30 Se disponen en 10 ml de piridina, a 0°C, 1,00 g (2,84 mmol) de 5'-cloro-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden gota a gota 0,34 g (2,99 mmol) de cloruro de ácido metanosulfónico en 5 ml de THF, y a continuación se agita durante 4 horas a temperatura ambiente. Se vierte la mezcla de reacción sobre hielo, se ajusta a pH = 5 con ácido clorhídrico concentrado y se extrae tres veces con acetato de etilo. Se lava con ácido clorhídrico diluido y disolución saturada de NaCl la fase orgánica, se seca con Na₂SO₄ y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. 35 Resultan 1,03 g (2,40 mmol, 84%) de 5'-cloro-3'-O-(metilsulfonil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

3.5.4.2. 2,3'-Anhidro-2'-desoxi-5'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina

40 Se disponen en 10 ml de THF 800 mg (1,86 mmol) de 5'-cloro-3'-O-(metilsulfonil)-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden 340 mg (2,23 mmol) de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) y se calienta a reflujo durante 4 horas. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 9/1) proporciona 470 mg (1,41 mmol, 76%) de 2,3'-anhidro-2'-desoxi-5'-cloro-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco.

3.5.4.3. 3'-Azido-5'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

45 Se disponen en 10 ml de DMF 470 mg (1,41 mmol) de 2,3'-anhidro-5'-cloro-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina. Se añaden 345 mg (7,05 mmol) de LiN₃ y se calienta la mezcla de reacción durante 20 horas. Se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se toma la mezcla de reacción en 50 ml de acetato de etilo y se lava con disolución de NaCl la fase orgánica. Se extrae tres veces con acetato de etilo la fase acuosa. Se lava con disolución saturada de NaCl la fase orgánica reunida, se seca con Na₂SO₄ y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. 50 La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 9/1) proporciona 370 mg (982 μmol, 70%) de 3'-azido-5'-cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 124-125°C.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 2,33-2,57 (m, 2H); 3,58-3,66 (m, 1H); 3,80-3,87 (m, 1H); 3,96-4,02 (m, 1H); 4,21-4,28

(m, 1H); 6,14 (t, 1H); 6,68 (d, 1H); 7,42 (d, 1H); 7,54, (s, 1H); 8,39 (s ancho, 1H).

3.6. 3',5'-Dibromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 15 ml de piridina 0,52 g (1,31 mmol) de 2',3'-didesoxi-3'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina, y a ello se añaden 0,69 g (2,62 mmol) de trifenilfosfina. A esta disolución se añade gota a gota, en el transcurso de 10 minutos, una disolución de 0,79 mg (2,36 mmol) de tetrabromometano en 5 ml de piridina. Al cabo de 1 hora, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se vierte sobre hielo y se acidifica con ácido clorhídrico del 37%. Siguen extracción con acetato de etilo (3 x 40 ml), lavado de las fases de acetato de etilo reunidas con ácido clorhídrico 1M y con disolución saturada de sal común. Tras secar con sulfato de magnesio y filtrar, se purifica la sustancia bruta por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 4:1) y se reprecipita en ciclohexano/acetato de etilo. Tras secar, se obtienen 0,21 g (35,0%) de un sólido incoloro de punto de fusión 153°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,68 (m, 1H); 2,81 (m, 1H); 3,74 (m, 1H); 3,82 (m, 1H); 4,38 (m, 1H); 4,65 (m, 1H); 6,27 (m, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,82 (s, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

La Figura 8 muestra los resultados de este compuesto según la invención en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

4. 2',3'-Dideshidro-2',3',5'-tridesoxi-5'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina como compuesto de referencia

4.1. 2',3'-Dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

4.1.1. 1-(2'-Desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona

Se suspenden en 400 ml de etanol 20,07 g (47,87 mmol) de 2,3'-anhidro-2'-desoxi-5'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina y se mezclan con una disolución de 4,78 g (120 mmol) de hidróxido de sodio en 95 ml de agua. Se calienta a ebullición durante 2,5 horas, transcurridas las cuales la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 10:1). Tras neutralizar con ácido clorhídrico, se elimina el disolvente por destilación a sequedad y se extrae varias veces el residuo con mezcla de acetona/acetato de etilo (1:1). Se obtienen 13,5 g (84,6%) de producto.

4.1.2. 5'-O-Benzoil-1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona

Se disuelven en 125 ml de piridina 5,0 g (15,00 mmol) de 1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona y se enfría a 0°C. Se añade a ello, gota a gota y a esta temperatura, una disolución de 2,53 g (18,0 mmol) de cloruro de benzoilo en 30 ml de piridina. Transcurridos 60 minutos, la adición gota a gota ha terminado. Se agita durante 60 minutos más a 0°C. Después de esto, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se vierte la preparación en 400 ml de agua con hielo, se extrae con 4 x 100 ml de acetato de etilo, y se lavan los extractos reunidos con hidrogenocarbonato de potasio al 5% y disolución saturada de sal común. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 20:1). Se obtienen 5,52 g (84,1%) de un sólido incoloro.

4.1.3. 3'-O-(Metilsulfonyl)-5'-O-benzoil-1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona

Se disuelven en 15 ml de piridina 3,50 g (8,00 mmol) de 5'-O-benzoil-1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona y se mezclan, a 0°C, con 1,14 g (10,00 mmol) de cloruro de ácido metanosulfónico. Al cabo de 18 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 12:1). Después se vierte sobre hielo la preparación y se deja reposar durante 20 minutos. Se acidifica con ácido clorhídrico 6 M y se extrae con acetato de etilo (3 x 50 ml). Se lavan hasta neutralidad los extractos reunidos y se secan con sulfato de magnesio. Después de separar por filtración y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se obtienen 3,95 g (95,8%) de una espuma amarillenta.

4.1.4. 5'-O-Benzoil-2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 120 ml de THF 3,38 (6,56 mmol) de 3'-O-(metilsulfonyl)-5'-O-benzoil-1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona. Se añaden a ello 6,20 g (19,68 mmol) de trishidrato de fluoruro de tetra-n-butilamonio y 25,0 g de tamiz molecular (3Å), y se agita durante 20 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la reacción es completa (control mediante CCF con diclorometano/acetato de etilo 3:1). Se separa por filtración a través de Celite, lavando a fondo con acetato de etilo, se concentra a 80 ml y se lava con 3 x 80 ml de disolución saturada de sal común. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y purificar por cromatografía en columna, se obtienen 2,20 g (80,0%) de un sólido incoloro.

4.1.5. 2',3'-Dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se suspenden en 70 ml de THF 2,47 g (5,89 mmol) de 5'-O-benzoil-2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se mezclan con 8,8 ml (17,6 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Al cabo de 5 horas la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 20:1). Se vierte la preparación en 100 ml de disolución tampón de fosfato (pH = 7) y se extrae con 5 x 50 ml de acetato de etilo. Después de secar con sulfato de magnesio y eliminar por destilación el disolvente se obtienen, tras purificar por cromatografía en columna con cloroformo/acetona 3:1, 1,73 g (93,0%) de un sólido incoloro con punto de fusión >250°C (con descomposición).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,63 (m, 2H); 4,81 (m, 1H); 5,09 (t, 1H); 5,92 (m, 1H); 6,42 (m, 1H); 6,75 (d, 1H); 6,82 (m, 1H); 7,17 (d, 1H); 8,04 (s, 1H); 11,59 (s, 1H) ppm.

4.2. 2',3'-Dideshidro-2',3',5'-tridesoxi-5'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina

4.2.1. 5'-O-(4-Metilfenilsulfonil)-2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 5 ml de piridina 0,55 g (1,75 mmol) de 2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y se mezcla, a 0°C, con 0,67 g (3,5 mmol) de cloruro de 4-metilfenilsulfonilo. Al cabo de 20 horas la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 20:1). Se vierte sobre hielo, se agita durante 20 minutos y se filtra. Después de lavar a fondo con agua, se seca sobre cloruro de calcio. Tras purificar por cromatografía en columna con ciclohexano/acetona 2:1 se obtienen 0,65 g (79,4%) de un sólido incoloro.

4.2.2. 2',3'-Dideshidro-2',3',5'-tridesoxi-5'-bromo-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 10 ml de DMF 0,65 g (1,39 mmol) de 5'-O-(4-metilfenilsulfonil)-2',3'-dideshidro-2',3'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 0,87 g (10,00 mmol) de bromuro de litio, y se calienta a 50°C. Al cabo de 3,5 horas se añaden otra vez 400 mg (4,6 mmol) de bromuro de litio y, después de otros 60 minutos, la conversión es completa. Se vierte la preparación en 40 ml de agua, se separa por filtración el precipitado formado y se seca sobre cloruro de calcio. Tras purificar por cromatografía en columna con ciclohexano/acetona 2:1 se obtienen 510 mg (97,3%) de un sólido incoloro con punto de fusión >150°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,75 (m, 2H); 5,03 (m, 1H); 6,06 (m, 1H); 6,47 (m, 1H); 6,82 (m, 1H); 6,96 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,65 (s, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

5. 2'-Fluoroderivados de BVDU

5.1. 2'-Fluoro-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

5.1.1. Ácido 3-(2'-desoxi-2'-fluorouridin-5-il)-acrílico

Se disuelven 2,2 g (6,66 mmol) de éster metílico de ácido 3-(2'-desoxi-2'-fluorouridin-5-il)acrílico en 20 ml (40 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Después de 3 horas, se acidifica con ácido clorhídrico 12 M y se enfría durante una hora en un baño de hielo. Después de filtrar, lavar con agua de hielo y secar en un desecador, se obtienen 1,31 g (62,1%) de un sólido incoloro.

5.1.2. 2'-Fluoro-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 40 ml de DMF 1,31 g (3,97 mmol) de ácido 3-(2'-desoxi-2'-fluorouridin-5-il)acrílico, y después se añaden 1,58 g (16,04 mmol) de hidrogenocarbonato de potasio. Tras agitar durante 20 minutos a temperatura ambiente se añaden gota a gota, en el transcurso de 30 minutos, 0,86 g (4,81 mmol) de N-bromosuccinimida, disueltos en 20 ml de DMF. Tras agitar durante 4 horas a temperatura ambiente, se separa por filtración, se lava el residuo con DMF y se elimina DMF por destilación con xileno. El residuo se purifica por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 9:1. Tras digerir en éter dietílico y secar, se obtienen 0,84 g (62,7%) de un producto incoloro con punto de fusión 182°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,63 (m, 1H); 3,85 (m, 1H); 3,89 (m, 1H); 4,17 (m, 1H); 5,04 (dd, 1H); 5,35 (t, 1H); 5,61 (d, 1H); 5,88 (d, 1H); 6,75 (d, 1H); 7,21 (d, 1H); 8,19 (s, 1H); 11,65 (s, 1H) ppm.

5.2. 2'-Fluoro-5'-bromo-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 10 ml de piridina 0,25 g (0,71 mmol) de 2'-fluoro-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 0,37 g (1,42 mmol) de trifetilfosfina. Se disuelven en 5 ml de piridina 0,42 g (1,28 mmol) de tetrabromometano y se añaden gota a gota, en el transcurso de 5 minutos. Al cabo de 1 hora, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Tras eliminar la piridina con tolueno, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 30:1. Se obtienen 0,23 g (78%) de un sólido incoloro con punto de fusión 223°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,78 (m, 1H); 3,85 (m, 1H); 4,0 (m, 1H); 4,13 (m, 1H); 5,19 (dd, 1H); 5,87 (d, 1H); 5,91 (dd, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 11,72 (s, 1H) ppm.

5.3. 5-(E)-2-Bromovinil)-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracilo

5.3.1. 5-Yodo-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-3',5'-di-O-benzoil-β-D-arabinofuranosil)uracilo

5 Se suspenden en 105 ml de 1,2-dicloroetano 7,08 g (29,75 mmol) de 5-yodouracilo. Se añaden a ello 13,32 g (65,47 mmol) de N,O-bis-trimetilsililacetamida (BSA), y se agita durante 5 horas a temperatura ambiente. Se origina una disolución transparente e incolora. Se añaden a esto 11,40 g (26,9 mmol) de 3,5-di-O-benzoil-2-desoxi-2-fluoro-α-D-arabinosil-bromuro. Se calienta a reflujo durante 22 horas. Transcurrido este tiempo, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 100:1). Se diluye con 450 ml de acetato de etilo la preparación y se trata con 400 ml de tampón de fosfato (pH = 7). Se separa la fase orgánica y se extrae con 3 x 150 ml de acetato de etilo la acuosa. Tras secar con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas, separar por filtración el agente desecante y eliminar por destilación el disolvente, se recristaliza en alcohol isopropílico. Se obtienen 8,47 g (54,3%) de un producto incoloro.

5.3.2. 5-Yodo-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracilo

15 Se disuelven en 250 ml de THF 8,14 g (14,03 mmol) de 5-yodo-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-3',5'-di-O-benzoil-β-D-arabinofuranosil)uracilo y se mezclan con 50 ml (100 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Al cabo de 4 horas, la reacción ha terminado. Se neutraliza la disolución y se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 10:1). Se obtienen 4,80 g (91,8%) de un sólido incoloro.

5.3.3. Éster metílico de ácido 3-((2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracil-5-il)acrílico

20 Se calientan a 80°C, en 160 ml de 1,4-dioxano, 0,75 g (2,84 mmol) de trifenilfosfina, 0,34 g (1,52 mmol) de acetato de paladio(II) y 6,17 g (61 mmol) de trietilamina. Se produce una profunda coloración roja oscura. Se calienta durante 10 minutos a esta temperatura y luego se añaden 6,54 g (76 mmol) de éster metílico de ácido acrílico, 4,80 g (12,9 mmol) de 5-yodo-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracilo y 40 ml de 1,4-dioxano. Tras calentar a reflujo durante 1 hora, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 9:1).
25 Después de enfriar, se separa por filtración a través de Celite la parte no disuelta y se lava a fondo con THF hasta que el filtrado sale incoloro. Se somete el filtrado a evaporación rotativa y se purifica por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 10:1 el residuo oleoso. Se obtienen 2,72 g (54,4%) de un sólido incoloro.

5.3.4. Ácido 3-((2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracil-5-il)-acrílico

30 Se disuelven 2,72 g (8,25 mmol) de éster metílico de ácido 3-((2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracil-5-il)-acrílico en 40 ml (80 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Al cabo de 4 horas, la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 8:1). Se acidifica con ácido clorhídrico 12 M y se deja reposar durante 1 hora en un baño de hielo. Se filtra con succión el precipitado, se lava con agua de hielo y se seca en un desecador. Se obtienen 2,61 g (100%) de un producto incoloro.

5.3.5. 5-(E)-(2-Bromovinil)-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracilo

35 Se disuelven en 60 ml de DMF 2,61 g (7,9 mmol) de ácido 3-((2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracil-5-il)-acrílico y se mezcla con 3,2 g (32 mmol) de hidrogenocarbonato de potasio. Se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se añade gota a gota, en el transcurso de 50 minutos, una disolución de 1,78 g (10 mmol) en 30 ml de DMF. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3,5 horas más, se separa por filtración la parte no disuelta, se lava a fondo con acetona/metanol 1:1 el residuo y se somete a evaporación rotativa.
40 Se elimina DMF por destilación con xileno. Tras purificar por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 9:1 y diclorometano/acetato de etilo 1:2, se obtienen 1,51 g (54,5%) de un sólido incoloro de punto de fusión 202°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,62 (m, 1H); 3,65 (m, 1H); 3,81 (m, 1H); 4,25 (dq, 1H); 5,06 (dt, 1H); 5,14 (t, 1H); 5,89 (d, 1H); 6,11 (dd, 1H); 6,88 (d, 1H); 7,27 (d, 1H); 7,99 (s, 1H); 11,75 (s, 1H).

5.4. 5-(E)-(2-Bromovinil)-1-(2',5'-didesoxi-2'-fluoro-5'-bromo-β-D-arabinofuranosil)uracilo

45 Se disuelven en 10 ml de piridina 0,60 g (1,71 mmol) de 5-(E)-(2-bromovinil)-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)uracilo y 950 mg (3,62 mmol) de trifenilfosfina. Después se añade gota a gota, en el transcurso de 10 minutos, una disolución de 1,08 g (3,25 mmol) de tetrabromometano en 10 ml de piridina. Al cabo de 1,5 horas la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 10:1). Se elimina piridina por destilación con tolueno y se purifica el residuo por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 30:1. Se obtienen 0,63 g (89,0%) de un producto incoloro con punto de fusión 237°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 3,79 (m, 2H); 4,07 (m, 1H); 4,26 (dq, 1H); 5,09 (ddd, 1H); 6,16 (d, 1H); 6,23 (dd, 1H); 6,98 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,74 (d, 1H); 11,80 (s, 1H) ppm.

6. 2',2'-Difluoroderivados de BVDU como compuestos de referencia

6.1. 1-(2'-Desoxi-2',2'-difluoro-alfa-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo y 1-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-β-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

6.1.1. 1-(3',5'-Di-O-benzoil-2',2'-difluoro-α-D-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo y 1-(3',5'-di-O-benzoil-2',2'-difluoro-β-D-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

5 Se suspenden 1,89 g (8,70 mmol) de 5-(E)-bromoviniluracilo en 40 ml de 1,2-dicloroetano y se añaden 4,28 g (19,23 mmol) de trifluorometanosulfonato de trimetilsililo y 2,14 g (177 mmol) de 2,4,6-colidina. Al cabo de 1 hora, se obtiene una disolución transparente. Se disuelven 3,98 g (8,7 mmol) de 2-desoxi-2,2-difluoro-D-ribofuranosa-3,5-dibenzoato-1-metanosulfonato (mezcla α/β) en 25 ml de 1,2-dicloroetano y se añaden gota a gota en el transcurso de 20 minutos. Después se añade gota a gota, en el transcurso de 10 minutos, una disolución de 1,94 g (8,7 mmol) de trifluorometanosulfonato de trimetilsililo en 15 ml de 1,2-dicloroetano, y se calienta a reflujo durante 18 horas. El control mediante CCF (cloroformo/metanol 10:1 y 100:1) revela que la conversión es completa. Se elimina por destilación el disolvente y se disuelve en 80 ml de acetato de etilo el residuo oleoso. Tras lavar con 2 x 80 ml de ácido clorhídrico 1 M, 2 x 80 ml de disolución saturada de sal común y 1 x 80 ml de tampón de fosfato, se efectúa secado con sulfato de magnesio. Tras filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se purifica la sustancia bruta por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 125:1. Se obtienen 3,1 g (61,7%) de una espuma incolora (α/β = 1,2).

La separación de los anómeros α y β se efectúa por repetida cromatografía en columna con ciclohexano/acetato de etilo 3:1.

Se obtienen 1,49 g de anómero α y 1,15 g de anómero β.

20 6.1.2. 1-(2'-Desoxi-2',2'-difluoro-α-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

Se disuelven 1,49 g (2,58 mmol) de 1-(3',5'-di-O-benzoil-2',2'-difluoro-α-D-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo en 55 ml de THF y se añaden 13 ml (26 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Al cabo de 3 horas se neutraliza y se extrae con acetato de etilo. Tras secar con sulfato de magnesio, filtrar y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 20:1 y diclorometano/metanol 20:1. Tras secar, se obtienen 0,82 g (86%) de un sólido incoloro de punto de fusión 192°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,56 (m, 1H); 3,65 (m, 1H); 4,35 (m, 2H); 5,08 (s, 1H); 6,22 (m, 1H); 6,34 (d, 1H); 7,02 (d, 1H); 7,32 (d, 1H); 7,85 (s, 1H); 11,81 (s, 1H) ppm.

6.1.3. 1-(2'-Desoxi-2',2'-difluoro-β-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

30 Se disuelven en 55 ml de THF 1,15 g (1,99 mmol) de 1-(3',5'-di-O-benzoil-2',2'-difluoro-β-D-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo y se mezcla con 10 ml (20 mmol) de disolución de hidróxido de sodio. La elaboración y la purificación por cromatografía en columna se efectúan de forma análoga a como se ha descrito anteriormente para el anómero α. Se obtienen 740 mg (100%) de un sólido incoloro con punto de fusión 189°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,64 (m, 1H); 3,81 (m, 1H); 3,87 (m, 1H); 4,22 (m, 1H); 5,36 (t, 1H); 6,06 (t, 1H); 6,33 (d, 1H); 6,83 (d, 1H); 7,27 (d, 1H); 8,05 (s, 1H); 11,86 (s, 1H) ppm.

35 6.1.4. 1-(5'-Cloro-2',5'-didesoxi-2',2'-difluoro-α-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

40 Se disuelven en 8 ml de DMF 350 mg (0,95 mmol) de 1-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-alfa-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo. Se añaden 337 mg (1,29 mmol) de trifetilfosfina y después 729 mg (4,74 mmol) de tetraclorometano. Después de agitar durante 20 horas a temperatura ambiente, la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Tras añadir 2 ml de metanol, se elimina DMF con xileno y se purifica varias veces por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 30:1 el residuo marrón. Se obtienen 240 mg (65,2%) de un producto incoloro con punto de fusión 208°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,87 (m, 1H); 3,94 (m, 1H); 4,42 (m, 1H); 4,61 (m, 1H); 6,31 (m, 1H); 6,61 (s (ancho), 1H); 6,99 (d, 1H); 7,33 (d, 1H); 7,89 (d, 1H); 11,82 (s (ancho), 1H) ppm.

6.1.5. 1-(5'-Cloro-2',5'-didesoxi-2',2'-difluoro-β-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo

45 Se hacen reaccionar 520 mg (1,41 mmol) de 1-(2'-desoxi-2',2'-difluoro-β-D-eritro-pentofuranos-1'-il)-5-(E)-bromoviniluracilo y 500 mg (1,90 mmol) de trifetilfosfina con 1.083 mg (7,04 mmol) de tetraclorometano, y se elaboran de manera análoga a como se ha descrito anteriormente. Tras múltiple purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 20:1 se obtienen 460 mg (84,1%) de un producto incoloro con punto de fusión 191°C.

50 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,99 (m, 2H); 4,05 (m, 1H); 4,25 (m, 1H); 6,17 (t, 1H); 6,57 (d, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,33 (d, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,90 (s, 1H) ppm.

7. 1-(β-D-Arabinofuranosil)-5-(E)-bromoviniluracilo como compuesto de referencia

7.1. Éster metílico de ácido 3-(1-(2,3,6-tri-O-acetil-β-D-arabinofuranosil)-uracil-5-il)-acrílico

Se calientan a 70°C 0,84 g (3,2 mmol) de acetato de paladio(II), 0,89 g (3,38 mmol) de trifetilfosfina y 7,35 g (73,56 mmol) de trietilamina en 135 ml de dioxano. Se origina un disolución de profundo color rojo oscuro. Se calienta durante 10 minutos a esta temperatura, se añaden primeramente 22,74 g (264 mmol) de éster metílico de ácido acrílico y después 9,0 g (18,13 mmol) de 1-(2,3,6-tri-O-acetil-β-D-arabinofuranosil)-5-yodouracilo, así como también 90 ml de dioxano. Después de calentar a reflujo durante 2,5 horas, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/acetato de etilo 5:2). Tras enfriar, se diluye con acetato de etilo, se separa por filtración de la parte no disuelta y se evapora el filtrado. Se purifica por cromatografía en columna (diclorometano/acetato de etilo 5:2) el residuo. Se obtienen 6,3 g (76,5%) de una espuma incolora.

10 7.2. Ácido 3-(1-(β-D-arabinofuranosil)-uracil-5-il)-acrílico

Se disuelven en 140 ml de THF 6,3 g (13,86 mmol) de éster metílico de ácido 3-(1-(2,3,6-tri-O-acetil-β-D-arabinofuranosil)-uracil-5-il)-acrílico y se mezclan con 140 ml (280 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Transcurridas 5 horas, se concentra la disolución y se acidifica con ácido clorhídrico 12 M. Se mantiene la preparación durante 1 hora en un baño de hielo y se filtra con succión el precipitado y se lava con agua de hielo. Después de secar en un desecador se obtienen 3,45 g (79,4%) de un sólido incoloro.

15 7.3. 1-(β-D-Arabinofuranosil)-5-(E)-bromoviniluracilo

Se disuelven en 100 ml de DMF 3,46 g (11,01 mmol) de ácido 3-(1-(β-D-arabinofuranosil)-uracil-5-il)-acrílico, y se añaden 5,51 g (55,05 mmol) de hidrogenocarbonato de potasio. Después de agitar durante 30 minutos a t.a. se añade gota a gota, en el transcurso de 1 hora, una disolución de 2,37 g (13,4 mmol) de N-bromosuccinimida. Tras agitar durante 4,5 horas a temperatura ambiente, se elimina DMF con xileno y se purifica por cromatografía en columna con diclorometano/metanol 10:1 el residuo. Después de recrystalizar en metanol, se obtiene un producto cristalino incoloro (0,84 g, 21,8%).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 3,63 (m, 2H); 3,74 (m, 1H); 3,91 (m, 1H); 4,03 (m, 1H); 5,11 (t, 1H); 5,45 (d, 1H); 5,55 (d, 1H); 5,97 (d, 1H); 6,87 (d, 1H); 7,24 (d, 1H); 7,89 (s, 1H); 11,57 (s, 1H) ppm.

25 8. 5'-Desoxi-BVDU y 3',5'-didesoxi-3'-halógeno-BVDU como compuesto de referencia

8.1. 5'-Desoxi-BVDU

8.1.1. 2',5'-Didesoxi-5'-yodo-5-etil-uridina

Se disuelven en 50 ml de piridina 8,0 g (31,22 mmol) de 2'-desoxi-5-etil-uridina y 10,66 g (40,64 mmol) de trifetilfosfina. Se añaden a ello, en varias porciones, 10,32 g (40,64 mmol) de yodo. Al cabo de 4 horas la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se separa piridina por destilación en vacío y se disuelve en acetato de etilo el residuo y se lava con ácido clorhídrico 1 M. Se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa y se lavan con tampón de fosfato las fases de acetato de etilo reunidas. Tras secar con sulfato de magnesio, separar por filtración y lavar con acetato de etilo, se separa el disolvente por destilación a sequedad y se lava con tolueno y diclorometano el residuo. Se obtienen 7,5 g (65,6%) de un producto ligeramente amarillento.

35 8.1.2. 2',5'-Didesoxi-5-etil-uridina

Se disuelven en 280 ml de etanol 4,68 g (12,78 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-yodo-5-etil-uridina y 1,08 g (27,0 mmol) de hidróxido de sodio, se mezcla con 780 mg de catalizador de hidrogenación (paladio sobre carbón activo, 10% de Pd) y se hidrogena durante 12 horas. Transcurrido este tiempo, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 10:1). Después de separar por filtración el catalizador de hidrogenación, se concentra por evaporación a sequedad y se mezcla el residuo con tampón de fosfato. Se filtra con succión el precipitado, se lava con agua de hielo y se seca sobre hidróxido de potasio. Se extrae varias veces con acetato de etilo el filtrado. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos. Tras separar por filtración el agente desecante y lavar con acetato de etilo, se evapora a sequedad. Se obtienen en total 2,97 g (96,7%) de un sólido incoloro.

8.1.3. 2',5'-Didesoxi-3'-O-benzoil-5-etil-uridina

Se disuelven en 35 ml de piridina 3,28 g (13,65 mmol) de 2',5'-didesoxi-5-etil-uridina y se mezclan, a 0°C, con 2,14 g (15,21 mmol) de cloruro de benzoilo. Después de 30 minutos se retira el baño frío y se agita durante 1 hora más a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, la conversión es completa. Se elimina piridina con tolueno y se disuelve en cloroformo el residuo. Se lava con ácido clorhídrico 0,1 M y se lava hasta neutralidad con tampón de fosfato. Tras secar la fase orgánica con sulfato de magnesio, separar por filtración el agente desecante y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con diclorometano/acetona 10:1. Se obtienen 3,82 g (81,3%) de una espuma blanca.

8.1.4. 2',5'-Didesoxi-3'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 45 ml de cloroformo 2,79 g (8,1 mmol) de 2',5'-didesoxi-3'-O-benzoil-5-etil-uridina y 50 mg de AIBN,

y se calienta a ebullición. Se añade a ello gota a gota, en el transcurso de 1,5 horas, una disolución de 2,88 g (18 mmol) de bromo en 15 ml de cloroformo. Se calienta a reflujo durante 0,5 horas y, tras enfriar a temperatura ambiente, se hace pasar argón a través de la disolución durante 1 hora. Después se añaden a la disolución 2,88 g (19,8 mmol) de trietilamina y se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Se elimina por destilación cloroformo y se toma en acetato de etilo el residuo y se lava con disolución saturada de sal común. Después de secar la fase orgánica con sulfato de magnesio, separar por filtración el agente desecante y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con diclorometano/acetona 20:1. Se obtienen 1,97 g (57,8%) de una espuma blanca.

8.1.5. 2',5'-Didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 25 ml de THF 2,48 g (5,88 mmol) de 2',5'-didesoxi-3'-O-benzoil-5-(E)-bromoviniluridina y se mezclan con 15 ml (30 mmol) de disolución 2 M de hidróxido de sodio. Tras agitar durante 3 horas a temperatura ambiente, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/acetona 10:1). Se mezcla con 80 ml de tampón de fosfato y se extrae varias veces con acetato de etilo. Tras secar la fase orgánica con sulfato de magnesio, separar por filtración el agente desecante y eliminar por evaporación rotativa el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 20:1. Se obtienen 1,65 g (88,7%) de un sólido incoloro con punto de fusión 174°C (con descomposición).

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 2,11 (d, 3H); 2,15 (m, 2H); 3,81 (m, 1H); 3,98 (m, 1H); 5,26 (d, 1H); 6,09 (m, 1H); 6,99 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,58 (s, 1H) ppm.

8.2. 3'-Cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

8.2.1. 2,3'-Anhidro-1-(2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-bromoviniluracilo

Se disuelven en 40 ml de THF 1,47 g (4,64 mmol) de 2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 1,83 g (6,96 mmol) de trifetilfosfina, y a esta disolución se añade gota a gota, en el transcurso de 20 minutos, una disolución de 1,44 g (7,16 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo en 10 ml de THF. Al cabo de 4 horas, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se separa THF por destilación y se toma en tolueno el residuo. Se separa por filtración y se lava varias veces con tolueno el residuo. Se obtiene un sólido incoloro (1,19 g, 85,7%).

8.2.2. 3'-Cloro-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se suspenden en 5 ml de DMF 0,59 g (1,97 mmol) de 2,3'-anhidro-1-(2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-bromoviniluracilo y 0,5 g (4,33 mmol) de hidrocloreto de piridina, y se calienta a 90°C. Al cabo de 1 hora, la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se separa DMF por destilación con xileno, y se trata el residuo con acetato de etilo y disolución saturada de sal común. Se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa y se secan con sulfato de magnesio las fases de acetato de etilo reunidas. Después de separar por filtración el agente desecante, lavar con acetato de etilo y eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 100:1 y cloroformo/acetato de etilo 5:1. Se obtienen 0,25 g (37,8%) de un sólido incoloro de punto de fusión 134°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,34 (d, 3H); 2,58 (m, 1H); 2,66 (m, 1H); 4,03 (m, 1H); 4,44 (m, 1H); 6,17 (dd, 1H); 6,97 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,77 (s, 1H); 11,62 (s, 1H) ppm.

8.3. 3'-Bromo-2',3',5'-tridesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se hacen reaccionar en DMF 0,59 g (1,97 mmol) de 2,3'-anhidro-1-(2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-bromoviniluracilo y 0,96 (6,0 mmol) de hidrobromuro de piridina, y se elabora como se ha descrito anteriormente en 8.2.2. Se purifica varias veces el producto por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 70:1, y se obtienen 0,22 g (29,4%) de un sólido incoloro de punto de fusión 128°C.

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,35 (d, 3H); 2,65 (m, 2H); 4,12 (m, 1H); 4,41 (m, 1H); 6,15 (dd, 1H); 6,98 (d, 1H); 7,30 (d, 1H); 7,76 (s, 1H); 11,62 (s, 1H) ppm.

9. 1-[2',5'-Didesoxi-β-D-glicero-pent-4-enofuranosil]-5-(E)-bromoviniluracilo como compuesto de referencia

9.1. 2',5'-Didesoxi-5'-yodo-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 30 ml de piridina 3,0 g (9,0 mmol) de 2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina y 3,07 g (11,7 mmol) de trifetilfosfina, y se enfría a 10°C. Se añaden a ello, en varias porciones, 2,97 g (11,7 mmol) de yodo. Se deja calentar hasta la temperatura ambiente. Al cabo de 6 horas, la conversión es completa (control mediante CCF con diclorometano/metanol 15:1). Se separa piridina por destilación y se toma el residuo en acetato de etilo/2-butanona (2:1) y se lava con disolución de disulfuro de sodio. Se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa y se secan con sulfato de magnesio las fases orgánicas reunidas. Después de separar por filtración el agente desecante

y eliminar por destilación el disolvente, se trata con tolueno/diclorometano 1:1 el residuo, y se seca el sólido obtenido. Se obtienen 3,77 g (94,5%) de un sólido incoloro.

9.2. 2',5'-Didesoxi-3'-O-acetil-5'-yodo-5-(E)-bromoviniluridina

5 Se disuelven en 20 ml de piridina 2,48 g (5,59 mmol) de 2',5'-didesoxi-5'-yodo-5-(E)-bromoviniluridina, y se mezclan con 3,20 g (31,34 mmol) de anhídrido acético. Al cabo de 90 minutos la reacción ha terminado (control mediante CCF con diclorometano/metanol 10:1). Se vierte la preparación en disolución tampón de fosfato y, después de 15 minutos, se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos y, tras la elaboración habitual, se purifican por cromatografía en columna con cloroformo/acetona 10:1. Se obtienen 2,14 g (78,7%) de un sólido incoloro.

10 9.3. 1-[3'-O-Acetil-2',5'-didesoxi-β-D-glicero-pent-4-enofuranosil]-5-(E)-bromoviniluracilo

15 Se disuelven en 45 ml de acetonitrilo 2,14 g (4,41 mmol) de 2',5'-didesoxi-3'-O-acetil-5'-yodo-5-(E)-bromoviniluridina y se mezclan con 2,08 g (13,73 mmol) de DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno). Tras agitar durante 18 horas a temperatura ambiente, la conversión es completa (control mediante CCF con ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Se vierte en tampón de fosfato y se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos y, tras la elaboración usual, se purifican por cromatografía en columna con ciclohexano/acetato de etilo 1:1 y cloroformo/acetona 8:1. Se obtienen 1,24 g (77,3%) de un sólido incoloro con punto de fusión 148°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,07 (s, 3H); 2,44 (m, 1H); 2,71 (m, 1H); 4,27 (dd, 1H); 4,47 (d, 1H); 5,78 (m, 1H); 6,37 (t, 1H); 6,88 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,90 (s, 1H), 11,70 (s, 1H) ppm.

9.4. 1-[2',5'-Didesoxi-β-D-glicero-pent-4-enofuranosil]-5-(E)-bromoviniluracilo

20 Se disuelven en 10 ml de metanol 0,86 g (2,41 mmol) de 1-[3'-O-acetil-2',5'-didesoxi-β-D-glicero-pent-4-enofuranosil]-5-(E)-bromoviniluracilo, y se mezclan con 15 ml de una disolución saturada de amoníaco en metanol. Al cabo de 7 horas la reacción ha terminado (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Se elimina el disolvente y se purifica el residuo por cromatografía en columna con cloroformo/metanol 15:1 y diclorometano/acetato de etilo 1:1. Se obtienen 210 mg (27,6%) de una sustancia incolora de punto de fusión 128°C (con descomposición).

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,21 (m, 1H); 2,48 (m, 1H); 4,16 (d, 1H); 4,31 (d, 1H); 4,72 (m, 1H); 5,56 (d, 1H); 6,39 (t, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,80 (s, 1H); 11,66 (s, 1H) ppm.

10. 5'-Ciano-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina como compuesto de referencia

10.1. 5'-Ciano-2',5'-didesoxi-5-etiluridina

30 Se disuelven en 50 ml de DMSO 2,54 g (6,93 mmol) de 5'-yodo-2',5'-didesoxi-5-etiluridina, y se añaden a ello 0,52 g (10,61 mmol) de cianuro de sodio. Al cabo de 18 horas la conversión es completa (control mediante CCF con acetato de etilo). Se vierte la preparación en disolución saturada de sal común y se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos y, tras la elaboración usual, se purifican por cromatografía en columna con acetato de etilo. Se obtienen 0,96 g (52,1%) de una sustancia incolora.

35 10.2. 3'-O-Acetil-5'-ciano-2',5'-didesoxi-5-etiluridina

40 Se disuelven en 15 ml de piridina 0,96 g (3,62 mmol) de 5'-ciano-2',5'-didesoxi-5-etiluridina, y se mezclan con 1,77 g (17,35 mmol) de anhídrido acético. Al cabo de 1 hora la conversión es completa (control mediante CCF con acetato de etilo). Se vierte la preparación en tampón de fosfato y se extrae varias veces con acetato de etilo. Se secan con sulfato de magnesio los extractos reunidos y, tras la elaboración usual, se purifican por cromatografía en columna con diclorometano/acetato de etilo. Se obtienen 0,82 g (73,7%) de una sustancia incolora.

10.3. 3'-O-acetil-5'-ciano-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

45 Se disuelven en 30 ml de cloroformo 0,82 g (2,67 mmol) de 3'-O-acetil-5'-ciano-2',5'-didesoxi-5-etiluridina y 0,01 g de AIBN (azo-bis-isobutironitrilo), y se calienta a ebullición. Se añade a ello, gota a gota, una disolución de 0,94 g (5,87 mmol) de bromo en 10 ml de cloroformo. Al cabo de 65 minutos la adición gota a gota ha terminado. Se calienta a reflujo durante 1 hora más, se deja enfriar hasta la temperatura ambiente, y se añaden 0,66 g (6,52 mmol) de trietilamina. Al cabo de 1 hora, se elimina por destilación el disolvente y se trata con acetato de etilo y tampón de fosfato el residuo. Se extrae varias veces con acetato de etilo la fase acuosa, y se secan con sulfato de magnesio las fases de acetato de etilo reunidas. Después de la elaboración normal, se efectúa purificación por cromatografía en columna con ciclohexano/acetato de etilo 2:3. Se obtienen 0,62 g (59,7%) de una sustancia incolora de punto de fusión 96°C.

50 ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 2,07 (s, 3H); 2,39 (m, 1H); 2,53 (m, 1H); 3,08 (m, 2H); 4,21 (m, 1H); 5,16 (m, 1H); 6,17 (t, 1H); 6,88 (d, 1H); 7,28 (d, 1H); 7,88 (s, 1H); 11,68 (s, 1H) ppm.

10.4. 5'-Ciano-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina

Se disuelven en 20 ml de metanol 0,41 g (1,07 mmol) de 3'-O-acetil-5'-ciano-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina, y se mezclan con 10 ml de una disolución saturada de cloruro de hidrógeno en metanol. Al cabo de 36 horas la conversión es completa (control mediante CCF con cloroformo/metanol 15:1). Tras eliminar por destilación el disolvente, se efectúa purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol 15:1). Se obtienen 0,35 g (95,9%) de una sustancia incolora con punto de fusión 177°C (con descomposición).

¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 2,15 (m, 1H); 2,29 (m, 1H); 2,99 (m, 2H); 3,92 (m, 1H); 4,18 (m, 1H); 5,55 (d, 1H); 6,19 (t, 1H); 6,91 (d, 1H); 7,29 (d, 1H); 7,80 (s, 1H); 11,63 (s, 1H) ppm.

11. 1-(2'-Desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindionas sustituidas como compuestos de referencia

11.1 1-(5'-Yodo-2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

11.1.1. 1-(2'-Desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

Se calientan a reflujo durante 1 hora 15,8 g (37,6 mmol) de 2,3'-anhidro-5'-O-benzoil-2'-desoxi-5-(E)-bromoviniluridina con 65,7 ml (132 mmol, 3,5 eq.) de disolución 2 M de hidróxido de sodio en 600 ml de una mezcla de etanol/agua (5/1). Tras enfriar la mezcla de reacción a la temperatura ambiente, se neutraliza con ácido clorhídrico concentrado y, a continuación, se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (acetato de etilo/metanol, 9/1 y cloroformo/metanol, 7/1) proporciona 10,9 g (32,7 mmol, 87%) de 1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona en forma de sólido blanco.

11.1.2. 1-(5'-Metilsulfonil-2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

Se disponen en 100 ml de piridina, a 0°C, 10,9 g (32,7 mmol) de 1-(2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona. Se disuelven en 50 ml de THF 3,94 g (34,4 mmol, 1,05 eq.) de cloruro de metilsulfonilo, y se añaden lentamente gota a gota. A continuación, se agita la mezcla de reacción a 0°C durante 3 horas más. Se vierte la preparación sobre 300 g de hielo, se ajusta a pH = 5 con ácido clorhídrico concentrado y se extrae la mezcla con 3 x 100 ml de acetato de etilo. Se lava la fase orgánica reunida con ácido clorhídrico 1 M y también disolución de NaCl, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Resultan 11,8 g (28,7 mmol) de 1-(5'-metilsulfonil-2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona en forma de sólido blanco. Se hace reaccionar el producto bruto sin purificación adicional.

11.1.3. 1-(5'-Yodo-2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona

Se calientan en 10 ml DMF, durante 20 horas, 0,50 g (1,22 mmol) de 1-(5'-metilsulfonil-2'-desoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona con 911 mg (6,08 mmol, 5,0 eq.) de yoduro de sodio. Se toma la mezcla de reacción en 50 ml de acetato de etilo, se lava con agua y disolución de NaCl, se seca con Na₂SO₄, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 9/1) proporciona 130 mg (293 μmol, 24%) de 1-(5'-yodo-2',5'-didesoxi-β-D-treo-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4-(1H,3H)-pirimidindiona en forma de un sólido ligeramente amarillento con un punto de fusión de 79-81°C.

¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 2,04 (d, 1H); 2,58 (m, 1H); 3,43-3,53 (m, 2H); 4,16 (m, 1H); 4,26 (m, 1H); 5,44 (d, 1H); 6,06 (dd, 1H); 6,93 (d, 1H); 7,24 (d, 1H); 7,98 (s, 1H); 11,57 (s, 1H) ppm.

12. 1-(2',3'-dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo como compuesto de referencia

12.1. 1-(2'-Desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo

Se suspenden en 200 ml de piridina 22,8 g (83,2 mmol) de 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo y se añaden 25,5 g (91,6 mmol) de cloruro de tritilo. Se agita la mezcla de reacción durante 24 horas a temperatura ambiente y, a continuación, se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. Se toma el residuo en 300 ml de acetato de etilo y se lava con ácido clorhídrico diluido, disolución de NaHCO₃ y disolución de NaCl. Se seca con Na₂SO₄ la fase orgánica, se filtra y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 9/1) proporciona 26,1 g (50,5 mmol, 61%) de 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo en forma de sólido blanco.

12.2. 2,3'-Anhidro-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo

Se disponen en 300 ml de DMF 26,1 g (50,5 mmol) de 1-(2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo y se añaden 19,9 g (75,7 mmol) de PPH₃. A continuación se disuelven en 50 ml de DMF 15,3 g (75,7 mmol) de azodicarboxilato de diisopropilo, y se añaden gota a gota. Al cabo de dos horas se elimina en un evaporador rotativo el disolvente, se toma el residuo en 1 l de éter dietílico y se agita vigorosamente durante

16 horas. Se filtra con succión el sólido resultante y se lava tres veces con 50 ml de éter dietílico. La recristalización en ciclohexano/acetato de etilo proporciona 25,5 g (50,5 mmol, 100%) de 2,3'-anhidro-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo en forma de sólido blanco.

12.3. 1-(2',3'-Dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo

- 5 Se disuelven en 600 ml de etanol 25,5 g (50,5 mmol) de 2,3'-anhidro-1-(2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo, se añaden 125 ml de agua y 62,5 ml (126 mmol) de disolución 2 M de NaOH y se calienta a reflujo durante 2 horas la mezcla de reacción. Se elimina en gran medida el etanol en un evaporador rotativo. Se neutraliza el residuo con ácido clorhídrico diluido y se extrae con acetato de etilo. Se lavan con disolución de NaCl las fases orgánicas reunidas, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 95/5) proporciona 19,6 g (39,2 mmol, 78%) de 1-(2',3'-dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo en forma de sólido blanco.

12.4 1-(2',3'-Dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo

- 15 Se disuelven en 50 ml de dioxano 5,00 g (10,0 mmol) de 1-(2',3'-dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-5'-O-tritil-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo, y se enfría a 0°C. Se añaden lentamente, gota a gota, 4,2 ml (20,0 mmol) de HCl 4,8 M en dioxano. Se retira el baño refrigerante y se agita la mezcla de reacción durante 2 horas. A continuación se elimina en un evaporador rotativo el disolvente. La purificación por cromatografía en columna (cloroformo/metanol, 9/1) proporciona 2,06 g (8,04 mmol, 80%) de 1-(2',3'-dideshidro-2'-desoxi-2'-fluoro-β-D-arabinofuranosil)-5-etiluracilo en forma de sólido blanco con un punto de fusión de 145-146°C.

- 20 ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆): 1,02 (t, 3H); 2,20 (q, 2H); 3,55-3,65 (m, 2H); 4,76-4,84 (m, 1H); 5,16 (t, 1H); 5,95-6,05 (m, 1H); 6,75-6,80 (m, 1H); 7,86 (s, 1H); 11,42 (s, 1H).

La Figura 12 muestra los resultados de otro compuesto según la invención. Las Figuras 9 a 11 muestran los resultados de compuestos de referencia.

- 25 La Figura 9 muestra los resultados de 5'-bromo-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

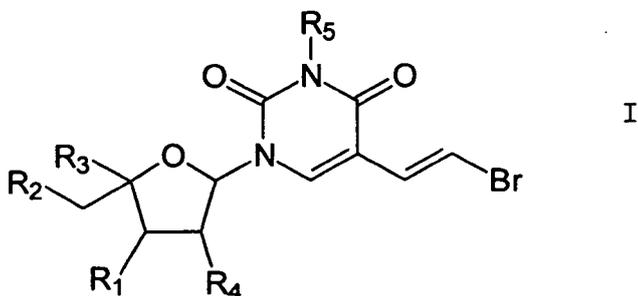
La Figura 10 muestra los resultados de 5'-azido-2',5'-didesoxi-5-(E)-bromoviniluridina en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

- 30 La Figura 11 muestra los resultados de 1-(3'-azido-2',3'-didesoxi-β-D-eritro-pentofuranosil)-5-(E)-(2-bromovinil)-2,4(1H,3H)-pirimidindiona en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

La Figura 12 muestra los resultados de 3'-Cl-BVDU en combinación con mitomicina C (MMC), comparados con MMC sola y MMC en combinación con BVDU.

REIVINDICACIONES

1. Nucleósidos de la fórmula general I

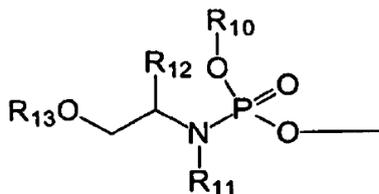


con

5 R₁ = halógeno,

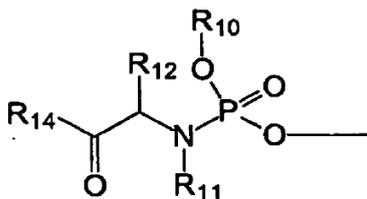
R₂ seleccionado del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno, en donde

el radical de profármaco está seleccionado del grupo consistente en



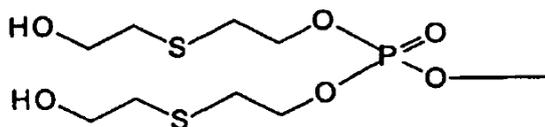
10 con

R₁₀ y R₁₁, de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₂ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralquileo, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₃ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

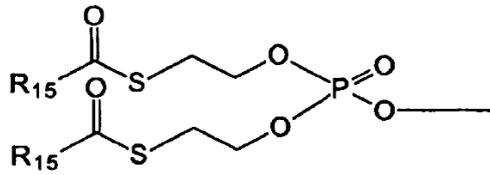


15 con

R₁₀ y R₁₁, de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₂ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralquileo, arilo, que también puede tener heteroátomos, R₁₃ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, R₁₄ = O-alquilo C₁-C₈, NH-alquilo C₁-C₈, N-(alquilo C₁-C₈)₂,

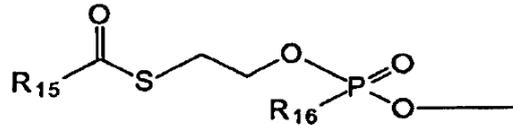


20



con

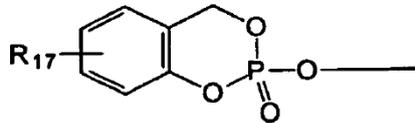
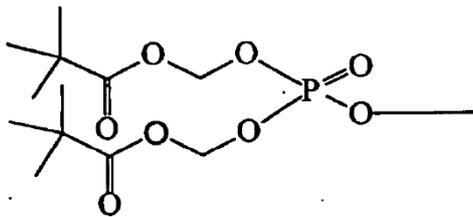
R₁₅ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,



5 con

R₁₅ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₁₆ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, O-arilo



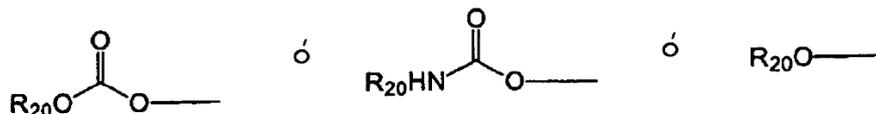
con

10 R₁₇ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, halógeno,



con

R₁₈ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo o heteroarilo, R₁₉ = alquil-CO-, aril-CO-, aminoácido o péptido,



15 con

R₂₀ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₃ = H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, alquileno C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₄ = H, halógeno, OR₈, N₃, NR₆R₇ o bien R₄ junto con R₁ representan un segundo enlace entre los átomos de C

adyacentes a R₁ y R₄,

R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo, estando excluidos los compuestos con los siguientes radicales:

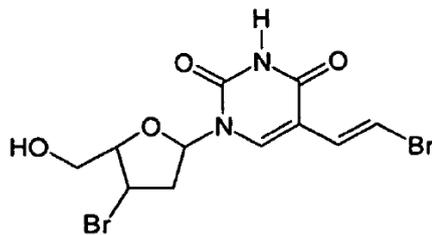
5 R₁ = F, R₂ = OH, R₃ = R₄ = R₅ = H,

R₁ = F, R₂ = O-acetilo, R₃ = R₄ = R₅ = H,

R₁ = F, R₂ = trifosfato, R₃ = R₄ = R₅ = H,

R₁ = Cl, R₂ = OH, R₃ = R₄ = R₅ = H.

2. Nucleósido según la reivindicación 1, caracterizado por la fórmula II:

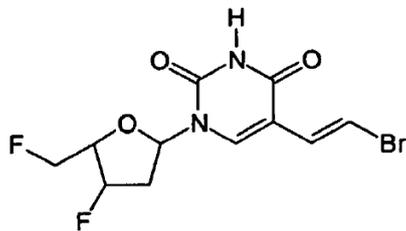


II

10

o

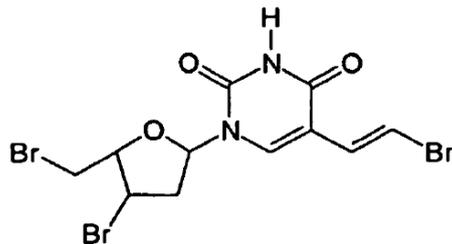
por la fórmula III:



III

15 o

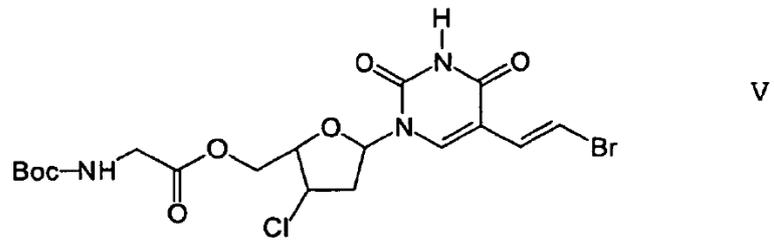
por la fórmula IV:



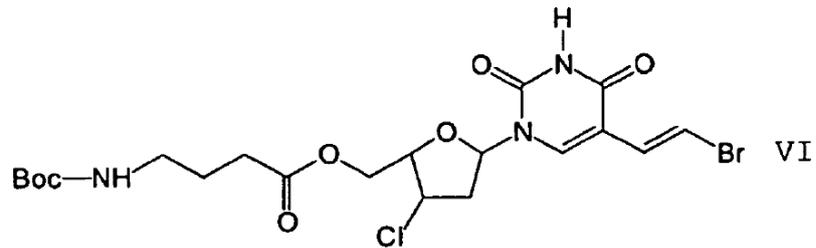
IV

o

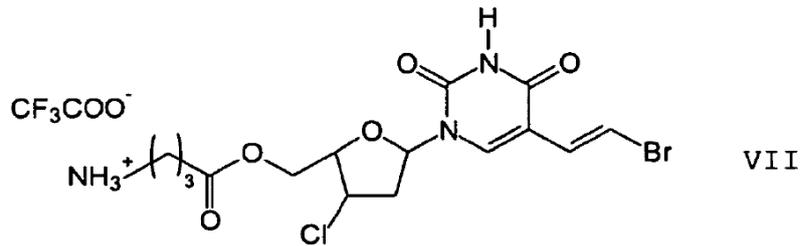
por la fórmula V:



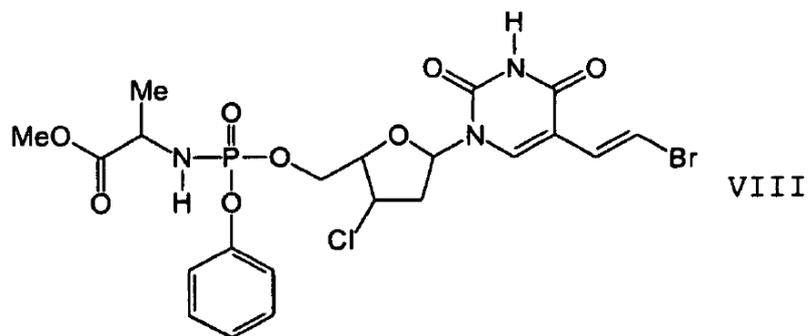
o
por la fórmula VI:



5 o
por la fórmula VII:

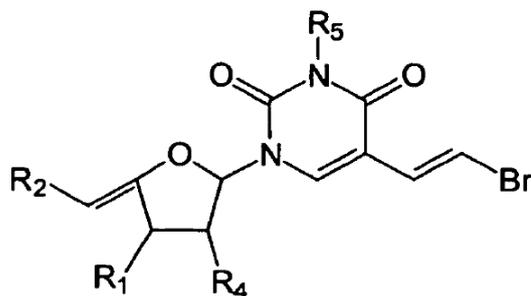


o
por la fórmula VIII:



10

3. Nucleósido de la fórmula general IX:



IX

con

R₁ y R₂, de manera independiente entre sí, seleccionados del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno,

5 R₄ = halógeno,

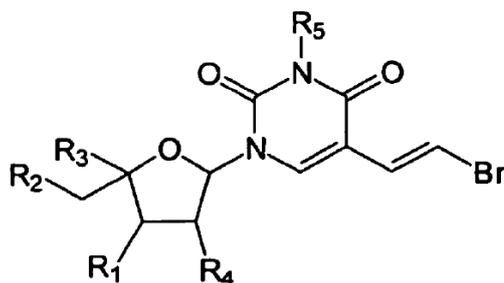
R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo.

4. Medicamento que contiene al menos un nucleósido según una de las reivindicaciones precedentes.

10 5. Medicamento según la reivindicación 4, caracterizado por que el medicamento contiene además al menos un citostático.

6. Uso de al menos un nucleósido de la fórmula general I



I

con

R₁ = halógeno,

15 R₂ seleccionado del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno,

R₃ = H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, alquilenilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₄ = H, halógeno, OR₈, N₃, NR₆R₇ o bien R₄ junto con R₁ representan un segundo enlace entre los átomos de C adyacentes a R₁ y R₄,

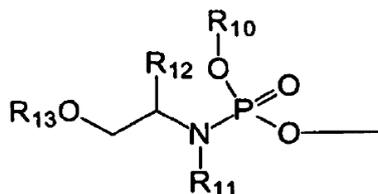
20 R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo,

así como al menos un citostático para preparar un medicamento para suprimir o reducir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos.

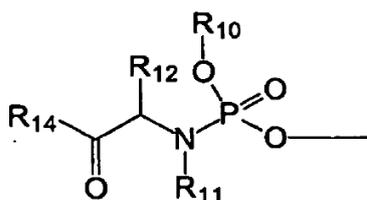
7. Uso según la reivindicación 6,

25 caracterizado por que el radical de profármaco está seleccionado del grupo consistente en



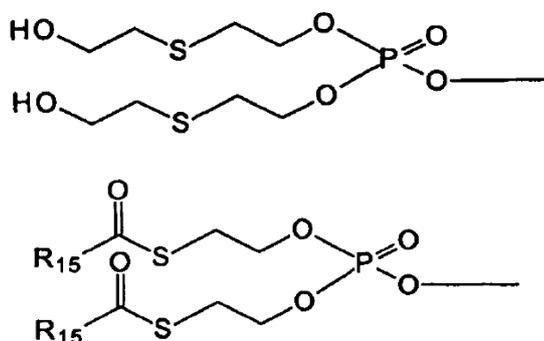
con

- 5 R_{10} y R_{11} , de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R_{12} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralquileno, arilo, que también puede tener heteroátomos, R_{13} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,



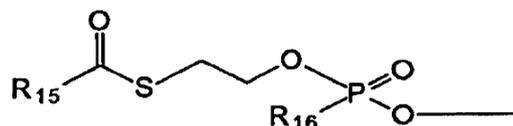
con

- 10 R_{10} y R_{11} , de manera independiente entre sí, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo, que también puede tener heteroátomos, R_{12} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, aralquileno, arilo, que también puede tener heteroátomos, R_{13} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, R_{14} = O-alquilo C₁-C₈, NH-alquilo C₁-C₈, N-(alquilo C₁-C₈)₂,



con

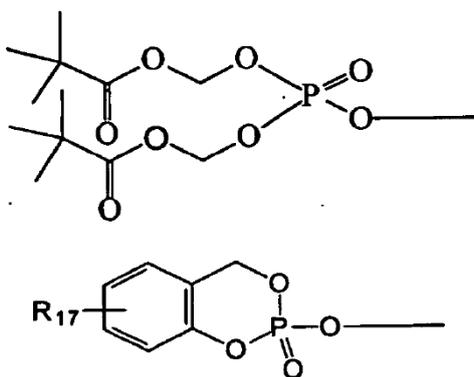
- 15 R_{15} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,



con

R_{15} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R_{16} = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, O-arilo



con

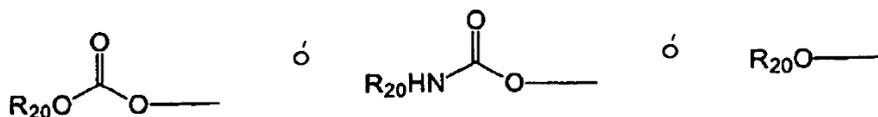
R₁₇ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, halógeno,



5

con

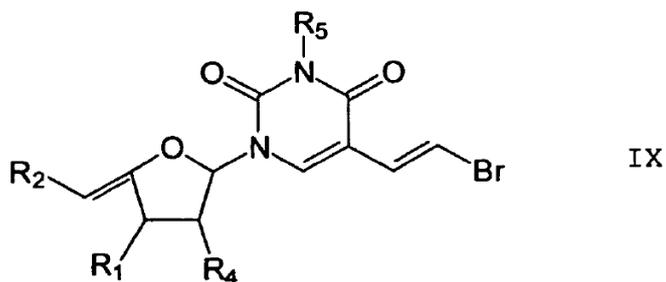
R₁₈ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, arilo o heteroarilo, R₁₉ = alquil-CO-, aril-CO- o aminoácido,



con

10 R₂₀ = alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado.

8. Uso de al menos un nucleósido de la fórmula general IX según la reivindicación 3,



con

15 R₁ y R₂, de manera independiente entre sí, seleccionados del grupo consistente en H, halógeno, OR₆, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno,

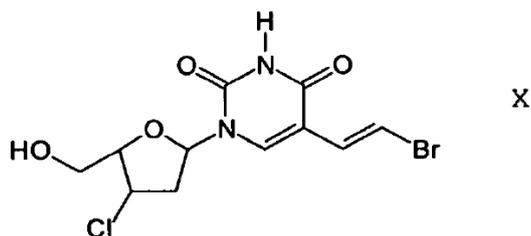
R₄ = halógeno,

R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo,

20 así como al menos un citostático para preparar un medicamento para suprimir o reducir el desarrollo de resistencia en el tratamiento con citostáticos.

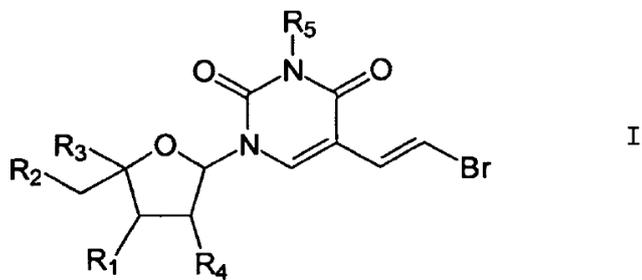
9. Uso según una de las reivindicaciones 6 o 7,
 caracterizado por que se emplean nucleósidos de la fórmula X



10. Uso según una de las reivindicaciones 6 a 9,

5 caracterizado por que se emplean el al menos un nucleósido y el al menos un citostático en una sola formulación o por que se emplean el al menos un nucleósido y el al menos un citostático en formulaciones separadas.

11. Uso de al menos un nucleósido de la fórmula general I



con

10 R₁ = halógeno,

R₂ seleccionado del grupo consistente en H, halógeno, OR₈, CN, N₃, NR₆R₇ y radicales de profármaco unidos a través de un átomo de oxígeno,

R₃ = H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado, alquilenilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado,

R₄ = H, halógeno, OR₈, N₃ o NR₆R₇,

15 R₅ = H, alquilo C₁-C₈ o arilo y

R₆, R₇ y R₈, de manera independiente entre sí, H, alquilo C₁-C₈ de cadena lineal o ramificado o acetilo,

así como al menos una sustancia activa para preparar un medicamento para terapia sin resistencia, contra enfermedades infecciosas causadas por bacterias, plasmodios o leishmanias.

12. Uso según la reivindicación 11,

20 caracterizado por que el al menos un nucleósido y el al menos un citostático se emplean en una sola formulación.

Figura 1

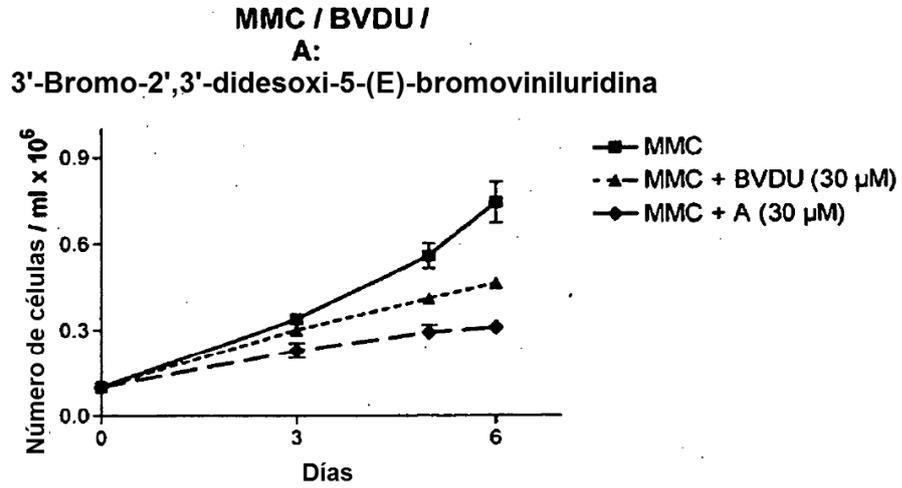


Figura 2

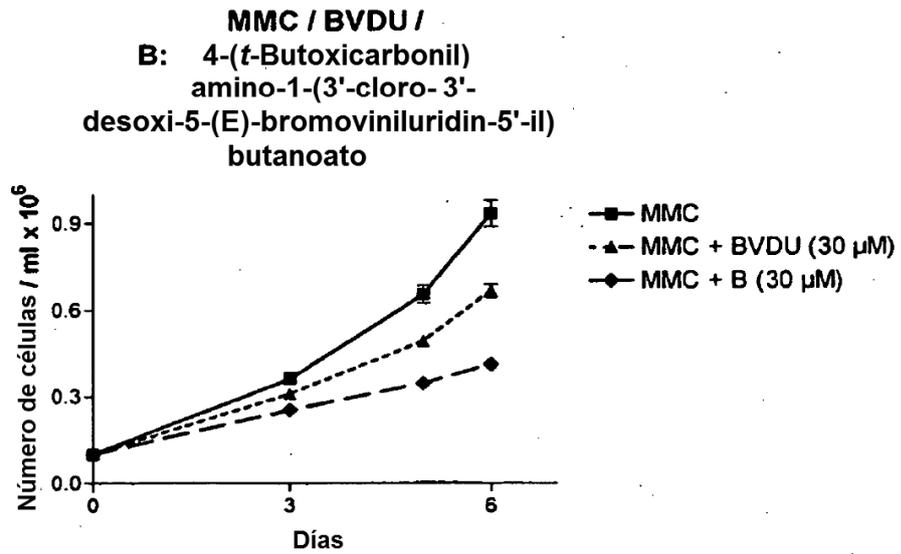


Figura 3

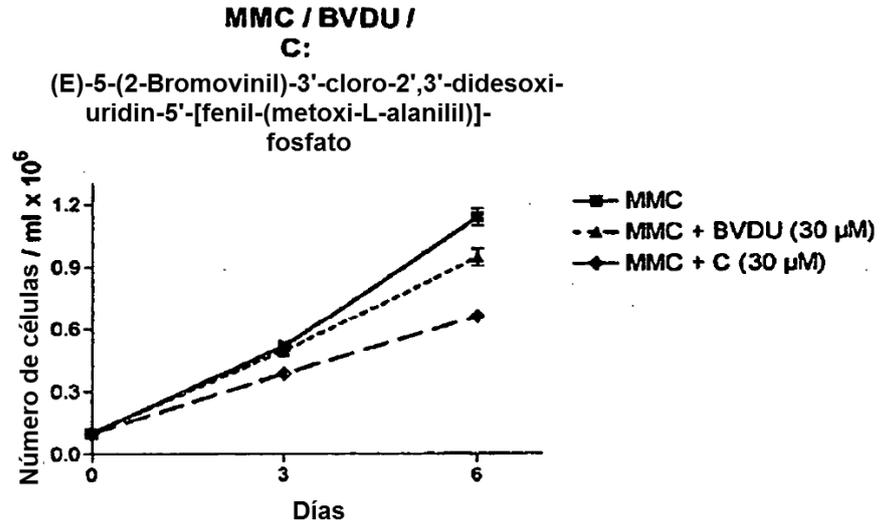


Figura 4 como referencia

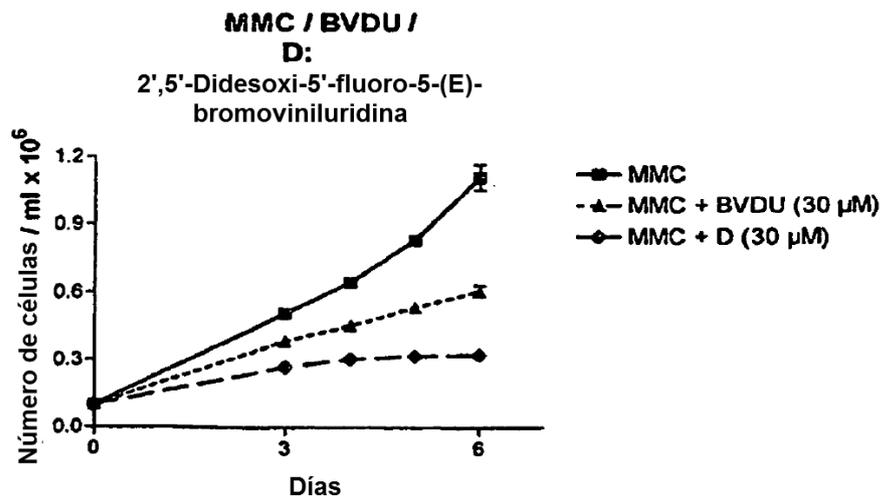


Figura 5 como referencia

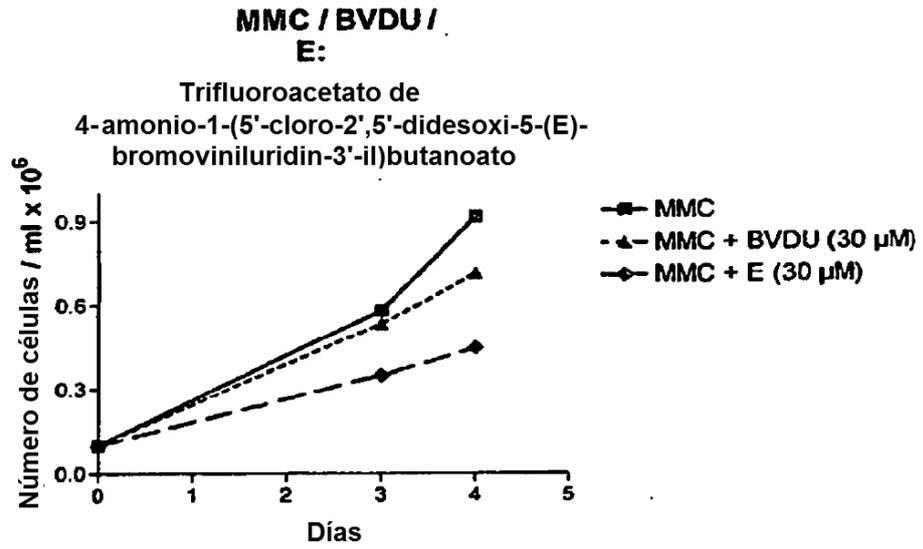


Figura 6 como referencia

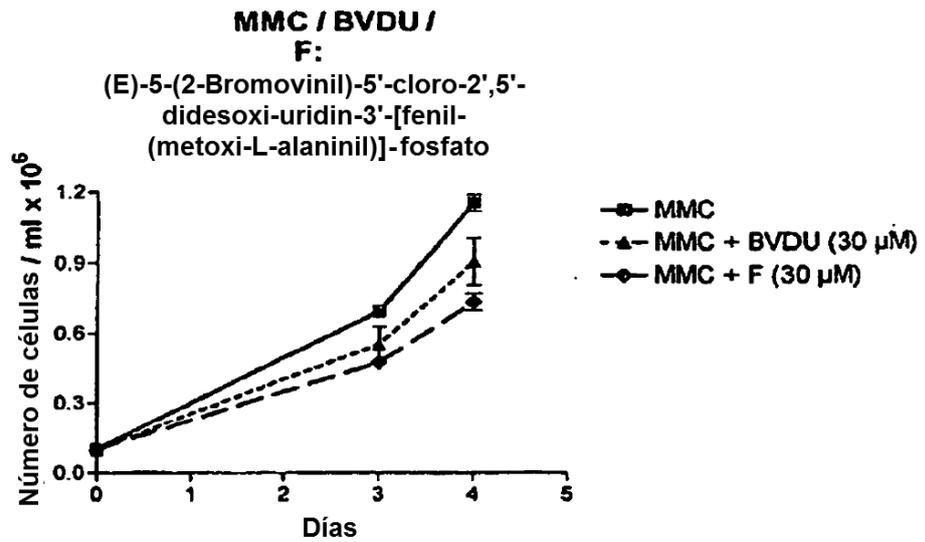


Figura 7

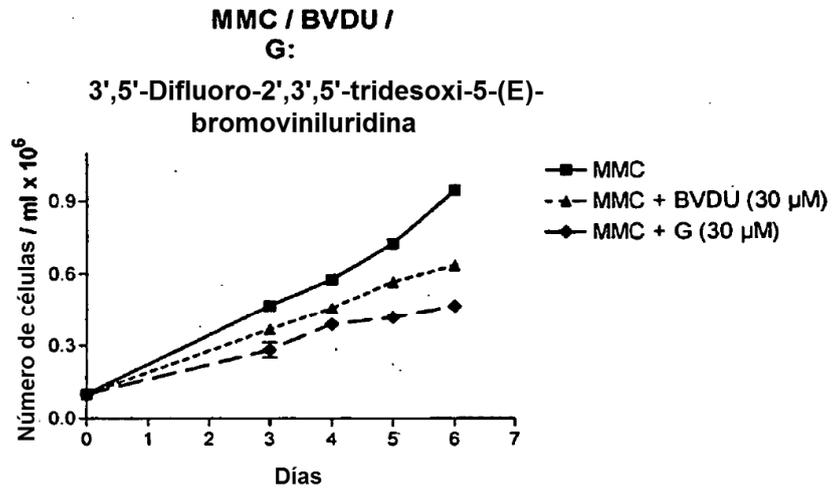


Figura 8

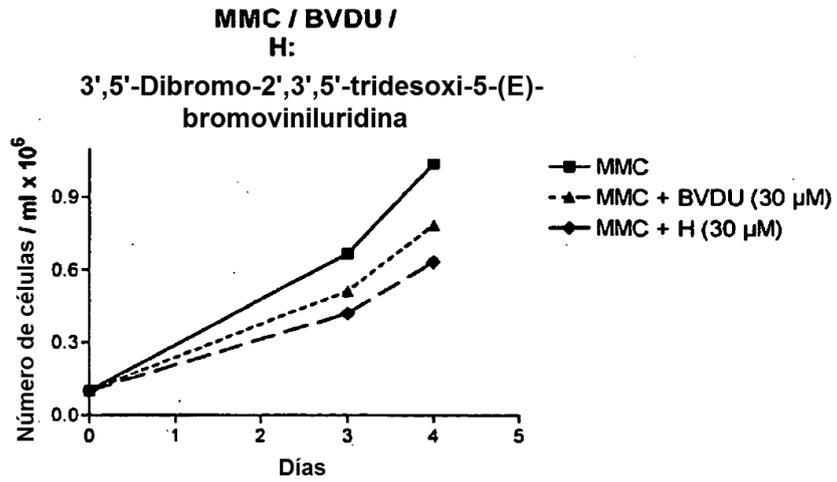


Figura 9 como referencia

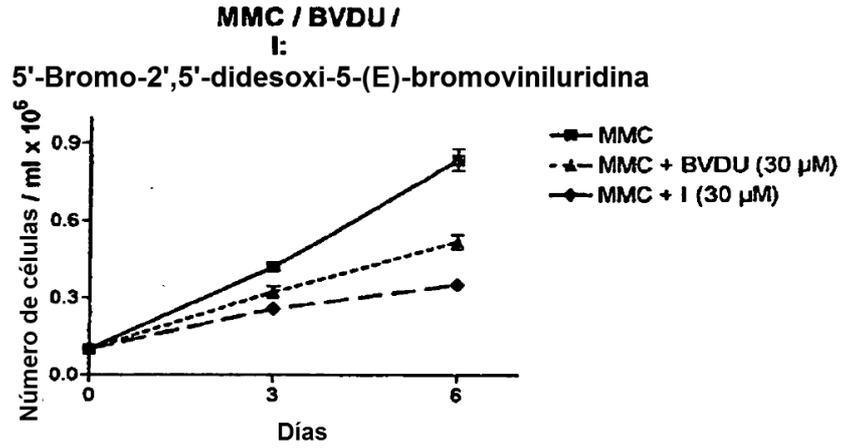


Figura 10 como referencia

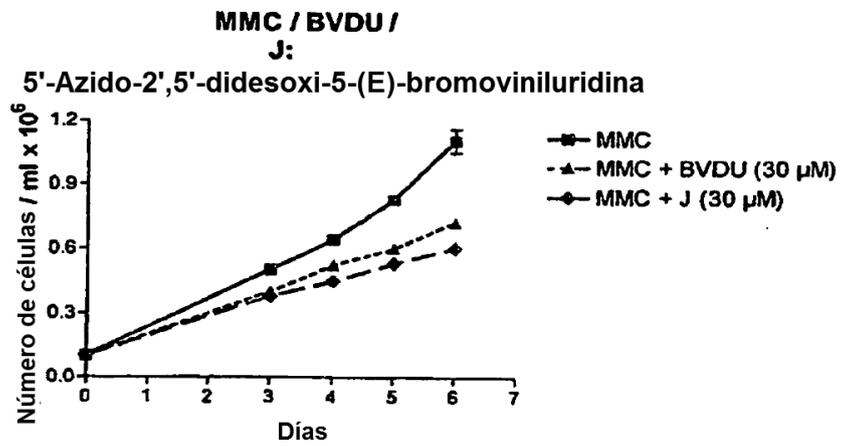


Figura 11 como referencia

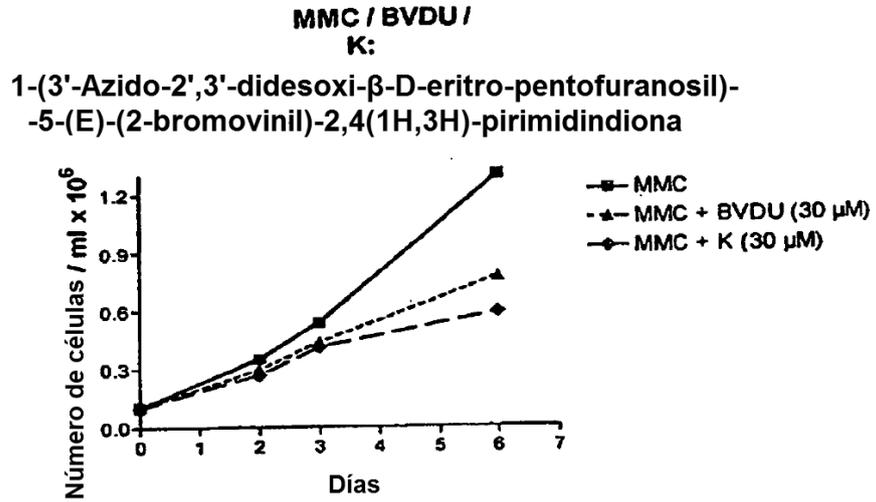


Figura 12

