

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 495**

51 Int. Cl.:

C07F 9/6561 (2006.01)
A61K 31/675 (2006.01)
A61K 31/683 (2006.01)
A61K 31/685 (2006.01)
A61K 31/688 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)
A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.12.2012 PCT/US2012/000586**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **27.06.2013 WO13095684**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012 E 12859248 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2019 EP 2794624**

54 Título: **Análogos de guanina como sustratos de telomerasa y afectores de la longitud de los telómeros**

30 Prioridad:

22.12.2011 US 201161579575 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.12.2019

73 Titular/es:

**GERON CORPORATION (100.0%)
149 Commonwealth Drive
Menlo Park, CA 94025, US**

72 Inventor/es:

**GRYAZNOV, SERGEI, M.;
PRUZAN, RONALD, A. y
PONGRACZ, KRISZTINA**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 734 495 T3

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

DESCRIPCIÓN

Análogos de guanina como sustratos de telomerasa y afectores de la longitud de los telómeros

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros. De manera más específica, la invención proporciona análogos de nucleótidos que se incorporan a los telómeros mediante la telomerasa, inhibiendo así el alargamiento de los telómeros. Los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades de proliferación celular.

Antecedentes

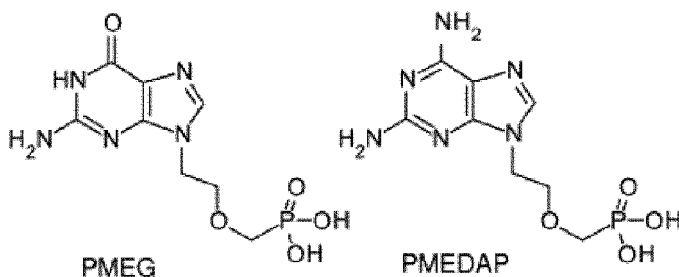
La telomerasa es una ribonucleoproteína que cataliza la adición de secuencias repetidas teloméricas a los extremos de los cromosomas que causan el alargamiento del telómero. Véase Blackburn, 1992, Ann. Rev. Biochem., 61: 113-129. Existe una extensa bibliografía que describe la conexión entre los telómeros, la telomerasa, la senescencia celular y el cáncer (para una revisión general, véase Oncogene, vol. 21, January 2002, que es un tema completo de la revista centrada en la telomerasa).

Los genes que codifican tanto la proteína como los componentes del ARN de la telomerasa humana se han clonado y secuenciado (véanse las patentes de Estados Unidos n.º 6.261.836 y 5.583.016, respectivamente) y se ha realizado un gran esfuerzo en la búsqueda de inhibidores de la telomerasa. Los inhibidores de la telomerasa identificados hasta la fecha incluyen compuestos de moléculas pequeñas y oligonucleótidos. Varias publicaciones describen el uso de oligonucleótidos para inhibir la telomerasa, ya sea dirigida contra el ARNm que codifica el componente proteico de la telomerasa (cuya forma humana se conoce como transcriptasa inversa de la telomerasa humana o hTERT) o el componente de ARN de la holoenzima telomerasa (la forma humana de la cual se conoce como ARN telomerasa humana o hTR). En general, se cree que los oligonucleótidos dirigidos al ARNm de hTERT actúan como fármacos antisentido convencionales en el sentido de que se unen al ARNm, dando como resultado la destrucción del ARNm y, por lo tanto, impidiendo la producción de la proteína hTERT (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 6.444.650). Ciertos oligonucleótidos que están dirigidos a la hTR están diseñados para unirse a las moléculas de hTR presentes en la holoenzima de la telomerasa y, por lo tanto, interrumpir la función de la enzima (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 6.548.298).

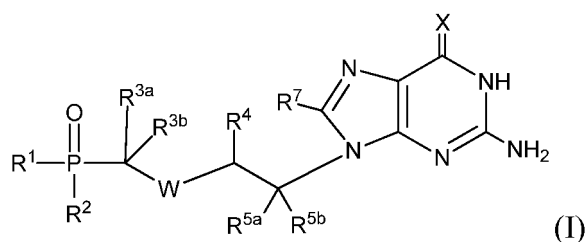
Dada la estrecha conexión entre la telomerasa y los trastornos de proliferación celular como el cáncer, lo que se necesita, por lo tanto, son compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros en células proliferativas y usos de los mismos para tratar enfermedades.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, se hace referencia a varias patentes, solicitudes de patentes y otros tipos de publicaciones (por ejemplo, artículos de revistas).

Miroslav Hajek et al., European Journal of Pharmacology, 2010, Vol. 643, pp. 6 -12, describen estudios de la capacidad de PMEG y PMEDAP (que se muestra a continuación) para inducir el acortamiento de los telómeros y la inhibición de la telomerasa tanto a nivel transcripcional como a nivel de actividad en células de leucemia linfoblástica T CCRF-CEM y MOLT-4. Los autores descubrieron que PMEG y PMEDAP tienen diferentes efectos en diferentes líneas celulares: específicamente, los autores descubrieron que PMEG y PMEDAP inducen el acortamiento de telómeros en células CCRF-CEM, pero inducen el alargamiento de los telómeros en células MOLT-4.

50 **Sumario de la invención**

Un primer aspecto de la invención es un compuesto de fórmula (I):



o una sal, hidrato, solvato o tautómero del mismo;
en la que:

5

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre $-NR^{1a}R^{1b}$ y $-OR^{1c}$;

R^{1a} y R^{1b} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, poliamina y $-CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}$, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina;

10

R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo y heteroarilalquilo sustituido; en el que alquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo, si están sustituidos, están independientemente sustituidos con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina;

15

R^{1e} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;

R^{1c} se selecciona entre hidrógeno, alquilo y arilo; en el que al menos uno de R^1 y R^2 es $-NR^{1a}R^{1b}$;

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y halo;

W es O, S o NH;

20

R^4 se selecciona entre $-OH$, $-NH_2$, N_3 , $-CH=CH_2$, y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-OH$, $-NH_2$, N_3 o halógeno;

R^{5a} y R^{5b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, $-OH$, $-NH_2$, N_3 , $-CH=CH_2$, y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-OH$, $-NH_2$, N_3 o halógeno;

R^7 es hidrógeno o flúor; y

X es O, S o NH.

25

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es el enantiómero (R) enriquecido o aislado en el estereocentro vehículo de R^4 .

En una realización, R^4 es $-OH$.

30

En una realización, R^4 es alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-OH$, $-NH_2$ o N_3 .

En una realización, R^4 es alquilo C_{1-2} .

35

En una realización:

R^4 se selecciona de entre $-NH_2$ y N_3 ; o

R^4 es $-CH=CH_2$.

40

En una realización:

R^1 es diferente de R^2 ; o

uno de R^1 y R^2 lleva una carga positiva y el otro lleva una carga negativa.

45

En una realización, R^1 es $-NR^{1a}R^{1b}$ y R^2 es OR^{1c} .

En una realización:

50

uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_{1-20} ; y R^2 es $-OH$; o

uno de R^{1a} y R^{1b} es una poliamina; y R^2 es $-OH$; o

uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(CH_2)_nNH(CH_2)_nNHR^x$; en el que R^x es hidrógeno o $-(CH_2)_nNH_2$; y n es independientemente un número de 2 a 4; o

uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(CH_2)_nNHR^x$; en el que R^x es hidrógeno o $-(CH_2)_nNH_2$; y n es independientemente un número de 2 a 4; o

55

uno de R^{1a} y R^{1b} es $-CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}$, y R^2 es OH.

En una realización:

uno de R^{1a} y R^{1b} es -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}, y R² es OH;
y:

- 5 R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido; o
R^{1d} es una cadena lateral de aminoácidos cargada positivamente; o
-CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e} es un aminoácido seleccionado de lisina, arginina e histidina.

En una realización:

- 10 R^{3a} y R^{3b} son hidrógeno; o
uno de R^{3a} y R^{3b} es halo.

En una realización, W es O.

- 15 En una realización, R^{5a} y R^{5b} son hidrógeno.

En una realización, R⁷ es hidrógeno.

- 20 En una realización, R⁷ es flúor.

En una realización, X es O.

- 25 Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de la invención es un procedimiento no terapéutico para inhibir el alargamiento del telómero que comprende poner en contacto una célula (por ejemplo, una célula cancerosa), *in vitro*, con un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto.

- 30 Un cuarto aspecto de la invención es un procedimiento no terapéutico para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o tejido, *in vitro*, con un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto.

- 35 Un quinto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en un procedimiento de tratamiento de un trastorno de proliferación celular en un individuo, opcionalmente en el que el trastorno proliferativo celular es:

cáncer;
cáncer metastásico; o

- 40 un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro o retina, o un tumor hematológico (por ejemplo, mieloma, leucemia y linfoma).

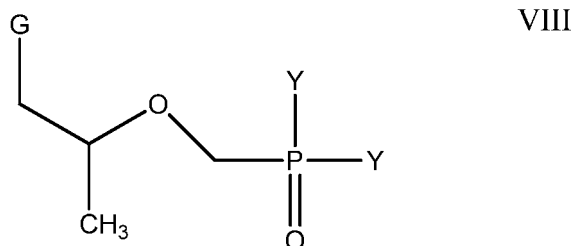
- 45 En una realización del quinto aspecto, el compuesto o composición farmacéutica se administra por las vías oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica.

Descripción

- 50 La presente invención se refiere a, entre otros, análogos de fosfometoxi guanosina, incluyendo profármacos, adecuados para su uso en la administración oral eficiente de tales análogos, así como a los usos de análogos de fosfometoxi-guanosina para la inhibición del alargamiento de la cadena de telómeros y el tratamiento de trastornos de proliferación celular en individuos que lo necesitan.

- 55 Las composiciones y procedimientos descritos en el presente documento inhiben la extensión de los telómeros por la telomerasa. Los compuestos y procedimientos también inhiben la proliferación de células cancerosas.

En el presente documento se describen compuestos que tienen la fórmula (VIII):



5 en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, Y independientemente es -OH, -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂; n independientemente es 2-4; con la condición de que al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; y las sales, hidratos, tautómeros y solvatos de los mismos. En algunos compuestos, G es guanina-9-ilo.

10 En algunos compuestos, al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³, R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂ y n es, independientemente, 2-4.

15 En algunos compuestos, al menos un Y es -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH₂ o -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃NH₂. En algunos compuestos, un Y es -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH₂ y el otro Y es -OH. En algunos compuestos, un Y es -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃NH₂ y el otro Y es -OH. En algunos compuestos, ambos Y son -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH₂. En algunos compuestos, ambos Y son -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃NH₂.

En algunos compuestos, al menos un Y es -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³, R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂ y n es, independientemente, 2-4.

20 El compuesto de fórmula VIII puede ser el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula VIII puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado.

En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

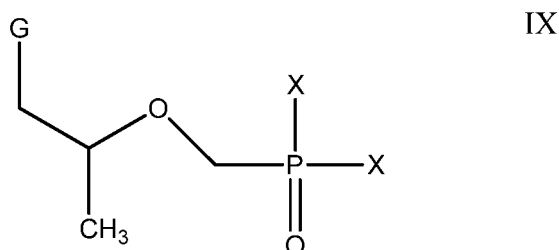
25 En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprenden poner en contacto una célula con los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII. La célula puede ser una célula cancerosa.

30 En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o el tejido con los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII.

35 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII al paciente. El cáncer puede ser cáncer metastásico. El cáncer puede ser un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma).

40 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar a un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII en el que el procedimiento implica administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica del compuesto o la composición farmacéutica.

45 En el presente documento también se describen procedimientos que utilizan compuestos de fórmula (IX):



en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, X independientemente es -OH, un monofosfato, un difosfato o $-OCH(R^1)OC(O)OR^1$, R^1 es independientemente H o alquilo C_1-C_5 ; y las sales, hidratos, sus tautómeros y solvatos; en condiciones en las que se inhibe el alargamiento del telómero. En algunos compuestos, al menos un X es $-OCH_2OC(O)OR^1$ y R^1 es alquilo C_1-C_5 . En algunos compuestos, un X es -OH y el otro X es -
 5 $OCH_2OC(O)OR^1$ y R^1 es alquilo C_1-C_5 . En algunos compuestos, un X es -OH y el otro X es $-OCH_2OC(O)OCH(CH_3)_2$. En algunos compuestos, ambos X son $-OCH_2OC(O)OCH(CH_3)_2$. En algunos compuestos, un X es -OH y el otro X es difosfato. Un compuesto específico de Fórmula IX es el éster de diisopropiloxi 9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula VIII es el éster diisopropiloxi de (R)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto
 10 específico de Fórmula IX es éster de (S)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina diisopropiloxi, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula IX es 9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; PMPGpp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula IX es (R)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; (R)-PMPGpp o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula IX es (S)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; (S)-PMPGpp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
 15

El compuesto de Fórmula IX puede ser el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula IX puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado.

20 En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprenden poner en contacto una célula con los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula IX. La célula puede ser una célula cancerosa.

25 En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o el tejido con los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula IX.

30 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula IX al paciente. El cáncer puede ser cáncer metastásico. El cáncer puede ser un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma).

35 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar a un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula IX en el que el procedimiento implica administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica del compuesto o la composición farmacéutica.

40 En el presente documento también se describe el uso de los compuestos de Fórmula VIII en medicina.

En el presente documento también se describe el uso de los compuestos de Fórmula VIII y Fórmula IX para tratar el cáncer.

45 Los compuestos descritos en el presente documento inhiben el alargamiento o la extensión de los telómeros en las células por la telomerasa, incluyendo células cancerosas, cuyo efecto resultante es inhibir la proliferación de las células. Por consiguiente, una aplicación principal de los compuestos descritos en el presente documento es como agentes terapéuticos contra el cáncer, y las formulaciones farmacéuticas de los compuestos se describen en el presente documento que pueden utilizarse de esta manera.
 50

Se muestra que los compuestos descritos en el presente documento, incluyendo estos compuestos de ejemplo, tienen propiedades superiores de absorción celular, en comparación con los nucleótidos no modificados correspondientes y, por lo tanto, son inhibidores más efectivos del alargamiento de los telómeros. Como consecuencia de estas propiedades, los compuestos descritos en el presente documento son inhibidores altamente efectivos de la
 55 proliferación de células cancerosas.

Se ha descubierto que los compuestos descritos en el presente documento actúan como sustratos para la enzima telomerasa y compiten con éxito con dGTP por el sitio de unión a nucleótidos de la enzima telomerasa. Los compuestos no inhiben la actividad de la enzima telomerasa. Más bien, los compuestos se incorporan en el telómero por la enzima telomerasa, terminando así la cadena del telómero. Una vez incorporado, la enzima telomerasa no puede unir otros dNTP de origen natural, tal como dGTP o dTTP al telómero. De esta manera, el alargamiento de los telómeros de los cromosomas en células que expresan telomerasa se detiene o inhibe. El fallo de las células para alargar sus telómeros pondrá a las células en crisis o apoptosis.
 60

65 Los compuestos descritos en el presente documento pueden usarse en procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros. Tales procedimientos comprenden poner en contacto una célula o tejido con un compuesto descrito

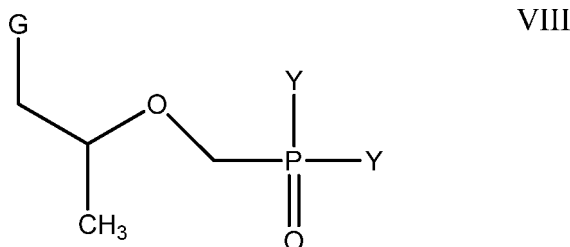
en el presente documento.

Los compuestos descritos en el presente documento también se pueden usar para inhibir el alargamiento de los telómeros en células que expresan telomerasa, inhibiendo así la proliferación de tales células. Tales procedimientos comprenden poner en contacto una célula o células que tienen actividad telomerasa con un compuesto descrito en el presente documento. Las células tratadas de esta manera, que pueden ser células *in vitro*, o células *in vivo*, o células *ex vivo*, generalmente sufrirá acortamiento de los telómeros y dejará de proliferar. Dado que las células cancerosas requieren el alargamiento de los telómeros para la proliferación a largo plazo, los compuestos descritos en el presente documento son particularmente útiles para inhibir el crecimiento de células cancerosas y pueden usarse en aplicaciones terapéuticas para tratar el cáncer.

En el presente documento también se describen compuestos como se describen en el presente documento para su uso en medicina y, en particular, para su uso en el tratamiento del cáncer.

En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto como se describe en el presente documento formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se describen compuestos que comprenden la fórmula (VIII),



en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, Y independientemente es -OH, -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂; n independientemente es 2-4; con la condición de que al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; y las sales, hidratos, tautómeros y solvatos de los mismos. En algunos compuestos, G es guanina-9-ilo. En algunos compuestos, al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³, R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂ y n es, independientemente, 2-4. En algunos compuestos, al menos un Y es -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH₂ o -NH(CH₂)₃NH(CH₂)₄NH(CH₂)₃NH₂. En algunos compuestos, al menos un Y es -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³, R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂ y n es, independientemente, 2-4. En algunos compuestos, el compuesto de fórmula VIII es el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula VIII puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado.

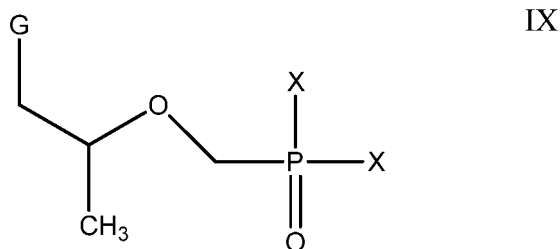
En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los compuestos desvelados en el presente documento con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprenden poner en contacto una célula con cualquiera de los compuestos o las composiciones farmacéuticas desveladas en el presente documento. En algunas realizaciones, la célula es una célula cancerosa.

En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o el tejido con cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento.

En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente administrando al paciente una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer metastásico. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma). En algunas realizaciones, de cualquiera de las realizaciones desveladas en el presente documento, el procedimiento implica administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica.

En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprenden poner en contacto una célula con un compuesto de fórmula (IX)



en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, X independientemente es -OH, un monofosfato, un difosfato o -OCH(R¹)OC(O)OR¹, R¹ es independientemente H o alquilo C₁-C₅; y las sales, hidratos, sus tautómeros y solvatos; en condiciones en las que se inhibe el alargamiento del telómero. En algunos compuestos, al menos un X es -OCH₂OC(O)OR₁ y R₁ es alquilo C₁-C₅. En algunos compuestos, un X es -OH y el otro X es -OCH₂OC(O)OR¹ y R¹ es alquilo C₁-C₅. El compuesto de fórmula IX puede ser 9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto de fórmula IX puede ser el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula IX puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado. La célula puede ser una célula cancerosa. El cáncer puede ser cáncer metastásico. El cáncer puede ser un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma). El procedimiento puede implicar administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica.

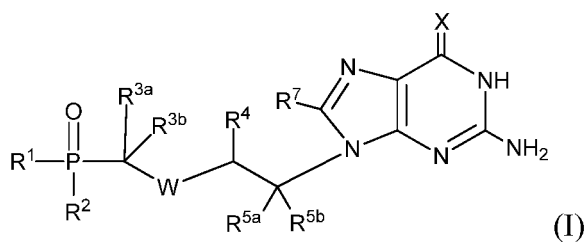
En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido, que comprenden poner en contacto la célula o el tejido con cualquiera de los compuestos desvelados en el presente documento.

En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente administrando una cantidad eficaz del compuesto de cualquiera de los compuestos desvelados en el presente documento al paciente.

También se describen en el presente documento usos de cualquiera de los compuestos proporcionados en el presente documento en medicina.

También se describen en el presente documento usos de cualquiera de los compuestos proporcionados en el presente documento para tratar el cáncer.

En el presente documento se describen compuestos que comprenden la fórmula (I):



en la que

R¹ y R² se seleccionan independientemente de entre -NR^{1a}R^{1b} y OR^{1c}; en la que

R^{1a} y R^{1b} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo C₁₋₂₀ opcionalmente sustituido, poliamina y -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C₁₋₇, oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina; en la que

R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo, en la que alquilo y arilo, si está sustituido, están independientemente sustituidos con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C₁₋₇, oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina; y R^{1e} es hidrógeno o alquilo C₁₋₆;

R^{1c} se selecciona entre hidrógeno, alquilo y arilo;

en el que al menos uno de R¹ y R² es -NR^{1a}R^{1b};

R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y halo;

W es O, S o NH;

5 R⁴ se selecciona de entre -OH, -NH₂, N₃, -CH=CH₂, y alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con -OH, -NH₂, N₃ o halógeno;

R^{5a} y R^{5b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, -OH, -NH₂, N₃, -CH=CH₂, y alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con -OH, -NH₂, N₃ o halógeno;

R⁷ es hidrógeno o flúor; y

10 X es O, S o NH;

y sales, hidratos, solvatos y tautómeros, de los mismos.

En algunas realizaciones, R¹ es diferente de R². En algunas realizaciones, uno de R¹ y R² lleva una carga positiva y el otro lleva una carga negativa. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) es el enantiómero (R) enriquecido o aislado en el estereocentro vehículo de R⁴.

15

En algunas realizaciones, R¹ es -NR^{1a}R^{1b} y R² es OR^{1c}. En algunas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C₁₋₂₀; y R² es OH. En algunas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es una poliamina; y R² es OH. En algunas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es -(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR^x; en el que R^x es hidrógeno o -(CH₂)_nNH₂; y n es, independientemente, un número de 2 a 4. En algunas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es -(CH₂)_nNHR^x; en el que R^x es hidrógeno o -(CH₂)_nNH₂; y n es, independientemente, un número de 2 a 4. En algunas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}, y R² es OH. En algunas realizaciones, R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido y heteroarilo. En algunas realizaciones, en las que R^{1d} es una cadena lateral de aminoácido cargada positivamente. En algunas realizaciones, en las que donde -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e} es un aminoácido seleccionado de lisina, arginina e histidina.

20

25

En algunas realizaciones, R^{3a} y R^{3b} son hidrógeno. En algunas realizaciones, uno de R^{3a} y R^{3b} es halo. En algunas realizaciones, W es O. En algunas realizaciones, R⁴ es -OH. En algunas realizaciones, R⁴ se selecciona de entre -NH₂ y N₃. En algunas realizaciones, R⁴ es -CH=CH₂. En algunas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂. En algunas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que el alquilo está sustituido con -OH, -NH₂ o N₃. En algunas realizaciones, R^{5a} y R^{5b} son hidrógeno. En algunas realizaciones, R⁷ es hidrógeno. En algunas realizaciones, R⁷ es flúor. En algunas realizaciones, X es O.

30

En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden cualquiera de los compuestos de Fórmula (I) con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

35

En el presente documento también se describe un procedimiento para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprende poner en contacto una célula con cualquiera de los compuestos de Fórmula (I) o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I). En algunas realizaciones, la célula es una célula cancerosa.

40

En el presente documento también se describe un procedimiento para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido, que comprende poner en contacto la célula o el tejido con cualquiera de los compuestos de Fórmula (I) o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I).

45

También se describe en el presente documento un procedimiento para tratar un trastorno de proliferación celular en un individuo administrando una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos de Fórmula (I) o composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I). En algunas realizaciones, el trastorno de proliferación celular es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer metastásico. En algunas realizaciones, el cáncer es un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma). En algunas realizaciones, el compuesto o composición farmacéutica se administra por las vías oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica.

50

55 Breve descripción de los dibujos

La **figura 1** es una fotografía de un gel de poli(acrilamida) al 15 % que contiene urea 7 M que muestra los productos de extensión del cebador en presencia de compuestos. Las reacciones que contienen dGTP 50 o 100 μM, (carriles 1 y 2) muestran una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 8-11 contienen concentraciones crecientes de PMPGpp (n.º ID 142692) además de dGTP 50 μM. El carril 12 contiene solo PMPGpp 50 μM de (n.º ID 142692). Los carriles 3-7 muestran una comparación utilizando el terminador de cadena conocido, 3'-azido-dGTP.

60

La **figura 2A** muestra que las células U87 gb se trataron con éster de PMPG diisopropiloxi (n.º ID 142715) (carril 4), 2' desoxi, 3' fenilamida C6, 5' tiofosfato de guanosina (carril 3), 2' desoxi, 3' azido, 5' tiofosfato de guanosina (carril 2) o sin tratar (carril 1).

65

La **figura 2B** muestra células Caki 1 tratadas durante cinco semanas con éster de PMPG diisopropiloxi 10 μM o

20 μM (N.º ID 142715) (carriles 3 y 4) en comparación con células no tratadas o tratadas con DMSO (carriles 1 y 2).

La **Figura 2C** muestra el tratamiento de las células A549 durante siete semanas usando éster de PMPG diisopropiloxi 10 μM o 20 μM (N.º de ID 142715) (carriles 3 y 4) en comparación con células no tratadas o tratadas con DMSO (carriles 1 y 2).

La **Figura 3A** muestra las curvas de crecimiento de las células de glioblastoma U87 tratadas con éster de PMPG diisopropiloxi 10 μM o 20 μM (n.º ID 142715) durante 47 días.

La **Figura 3B** muestra células de glioblastoma U87 tratadas con éster de PMPG diisopropiloxi 10 μM o 20 μM (N.º de ID 142715) durante cinco semanas y luego se sembraron en números de células iguales (75.000/pocillo). Se tomaron fotos 6 días después de la siembra.

La **Figura 4A** es una fotografía de un gel resultante de un ensayo de extensión de cebador ejecutado en modo de competición. De izquierda a derecha, los carriles 1 y 2 (marcados con "-") muestran una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 3-8 contienen concentraciones crecientes de difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico (R-PMPGpp) (n.º de ID (142692), de 0,25 μM a 50 μM .

La **Figura 4B** muestra la actividad de inhibición de la telomerasa del difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico (R-PMPGpp) (n.º ID 142692). El porcentaje de actividad se determinó en función de los valores obtenidos mediante el análisis PhosphorImager de la intensidad de las bandas de gel en la Figura 4A.

La **Figura 5** muestra un ensayo Ex Vivo TRAP con un profármaco DE PMPG (n.º DE ID 142715). Se muestran los resultados de dos ensayos independientes para el mismo compuesto.

La **Figura 6** muestra las curvas de crecimiento de las células Caki-1 tratadas con el profármaco PMPG 10 μM o 20 μM éster diisopropiloxi de ácido [R-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico] (n.º de ID 142715).

La **Figura 7** muestra las curvas de crecimiento para las células A549 tratadas con el profármaco PMPG 10 μM o 20 μM de éster diisopropiloxi de ácido [R-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico (n.º de ID 142715) comparado con Imetelstat 5 μM o 10 μM (163 I).

La **Figura 8A** es una fotografía de un gel resultante de un ensayo de extensión de cebadores. De izquierda a derecha, el carril 1 (marcado con "-") muestra una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 2-5 contienen concentraciones crecientes de difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico (R-PMPGpp) (n.º de ID 142692), de 0,4 μM a 50 μM . Los carriles 6-9 contienen de 0,4 μM a 50 μM de PMIBeGpp (n.º DE ID 142810).

La **Figura 8B** muestra la inhibición de la dosis de telomerasa de respuesta a la dosis para R-PMPGpp (n.º de ID 142692) en comparación con PMIBeGpp (n.º de ID 142810). El porcentaje de actividad se determinó en función de los valores obtenidos mediante el análisis PhosphorImager de la intensidad de las bandas de gel en la Figura 8A.

La **Figura 9** muestra las curvas de crecimiento para las células Caki-1 tratadas con éster diisopropiloxi de PMIBeG 10 o 20 μM (n.º de ID 142820) o ácido libre de PMPG (N.º de ID 142693).

La **Figura 10** muestra el gel resultante de un ensayo de fragmentos de repetición de telómeros utilizando células A549. El carril 1 es una escalera de 21,2 kb a 1,9 kb. Los carriles 2 y 3 tienen 10 μM y 5 μM , respectivamente, de ácido libre de PMPG (n.º DE ID 142693). Los carriles 4 a 6 tienen 10 μM , 5 μM y 2,5 μM , respectivamente, del profármaco PMPG (n.º de ID 142715). El carril 7 tiene 2 μM de Imetelstat (163 I). El carril 8 tiene 2 μM de un apareamiento incorrecto. Los carriles 9 y 10 tienen 20 μM y 10 μM , respectivamente, del ácido libre de PMIBeG [(((2 - ((2-amino-6-oxo-1H-purin-9 (6H)-il)metil)alil)oxi)metil) fosfónico] (n.º DE ID 142811). Las cantidades indicadas de cada compuesto se añadieron a las células A549. Después de aproximadamente 70 duplicaciones de población, se cosecharon las células y las longitudes de los telómeros se determinaron utilizando TRF.

La **Figura 11** muestra la gráfica de las curvas de crecimiento ajustadas (día de Imetelstat < 41) obtenidas cuando se inyectaron células Caki-1 de pase bajo por vía subcutánea en el flanco de ratones SCID sin pelo exogámicos (SHO) que recibieron 30 mg/kg de vehículo (PBS con 0,4 % de Tween 20), Imetelstat, ácido libre de PMPG (N.º de ID 142693) o profármaco de PMPG (N.º de ID 142715) mediante inyección intraperitoneal.

Descripción detallada

La presente invención se refiere a, entre otros, compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros. De manera más específica, la invención proporciona análogos de nucleótidos que se incorporan a los telómeros mediante la telomerasa, inhibiendo así el alargamiento de los telómeros. Los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer y otras enfermedades de proliferación celular.

I. Técnicas generales

La práctica de la invención empleará, salvo que se indique lo contrario, técnicas convencionales en química de ácidos nucleicos, biología molecular, microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que son bien conocidas por los expertos en la materia. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía, tales como, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, segunda edición (Sam Brook et al., 1989) y Molecular Cloning: A Laboratory Manual, tercera edición (Sam Brook y Russel, 2001), (conjuntamente denominado en el presente documento "Sambrook"); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987, incluyendo los suplementos hasta 2001); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994). Los ácidos nucleicos pueden sintetizarse *in vitro* mediante técnicas de síntesis química bien conocidas, como se describe en, por ejemplo, Carruthers (1982) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 47:411-418; Adams (1983) J. Am. Chem. Soc. 105:661; Belousov (1997) Nucleic Acids Res. 5

25:3440-3444; Frenkel (1995) Free Radic. Biol. Med. 19:373-380; Blommers (1994) Biochemistry 33:7886-7896; Narang (1979) Meth. Enzymol. 68:90; Brown (1979) Meth. Enzymol. 68:109; Beaucauge (1981) Tetra. Lett. 22:1859; Komberg y Baker, DNA Replication, 2ª Ed. (Freeman, San Francisco, 1992); Scheit, Nucleotide Analogs (John Wiley, Nueva York, 1980); Uhlmann y Peyman, Chemical Reviews, 90:543-584, 1990).

5 Salvo que se indique lo contrario, los procedimientos y técnicas de las presentes realizaciones se realizan generalmente de acuerdo con procedimientos convencionales ya conocidos en la técnica y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se mencionan y analizan a lo largo de la presente memoria descriptiva. Véase, por ejemplo, Loudon, Organic Chemistry, 4ª edición, New York: Oxford University Press, 2002, pp. 10 360-361, 1084-1085; Smith y March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 5ª edición, Wiley-Interscience, 2001.

II. Definiciones

15 Los siguientes términos tienen los siguientes significados a menos que se indique otra cosa. Cualquier término sin definir tiene su significado reconocido en la técnica.

El término "**saturado**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a compuestos y/o grupos que no tienen dobles enlaces carbono-carbono ni triples enlaces carbono-carbono.

20 El término "**insaturado**", como se utiliza en el presente documento, pertenece a compuestos y/o grupos que tienen al menos un doble enlace carbono-carbono o triple enlace carbono-carbono.

25 El término "**cíclico**" como se utiliza en el presente documento, pertenece a compuestos y/o grupos que tienen un anillo, o dos o más anillos (por ejemplo, espiro, fusionado, en puente).

El término "**anillo**" como se utiliza en el presente documento, pertenece a un anillo cerrado de 3 a 10 átomos unidos covalentemente, más preferentemente de 3 a 8 átomos unidos covalentemente.

30 La frase "**opcionalmente sustituido**" como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo principal que puede estar no sustituido o que puede estar sustituido.

A menos que se especifique de otro modo, el término "**sustituido**", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un grupo principal que porta uno o más sustituyentes. El término "sustituyente" se usa en el presente documento en el sentido convencional y se refiere a un resto químico que está unido covalentemente a, colgado o, si es apropiado, fusionado a, un grupo principal.

Los sustituyentes se describen con más detalle a continuación.

40 **Alquilo C₁₋₇**: La expresión "alquilo C₁₋₇", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido eliminando un átomo de hidrógeno de un compuesto de hidrocarburo C₁₋₇ que tiene de 1 a 7 átomos de carbono, que puede ser alifático o alicíclico, o una combinación de los mismos, y que puede estar saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado. La expresión "alquilo C₂₋₄" (y similares), como se utiliza en el presente documento, pertenece a restos análogos que tienen de 2 a 4 átomos de carbono. Los ejemplos son -CH₂CH₃; 45 -CH₂CH₂CH₃; -CH(CH₃)₂; -CH₂CH₂CH₂CH₃; -CH₂CH(CH₃)₂; -CH(CH₃)CH₂CH₃; -C(CH₃)₃; -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃; -CH₂CH₂CH(CH₃)₂; -CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃; -CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃; -CH(CH₂CH₃)₂; -C(CH₃)₂CH₂CH₃; -CH(CH₃)CH(CH₃)₂; -CH₂C(CH₃)₃; ciclopropilo; ciclobutilo; ciclopropilmetilo; ciclobutilmetilo; 1-ciclopropil-1-etilo; 2-ciclopropil-1-etilo; y ciclopentilo.

50 **Alquilo C_{1-n}**: La expresión "alquilo C_{1-n}", como se utiliza en el presente documento, pertenece a un resto monovalente obtenido eliminando un átomo de hidrógeno de un compuesto de hidrocarburo C_{1-n} que tiene de 1 a n átomos de carbono, que puede ser alifático o alicíclico, o una combinación de los mismos, y que puede estar saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado, en el que n es un número mayor que uno. Asimismo, **alquilo C₁₋₂₀**: La expresión "alquilo C₁₋₂₀", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido eliminando un átomo de hidrógeno de un compuesto de hidrocarburo C₁₋₂₀ que tiene de 1 a 20 átomos de carbono, que puede ser alifático o alicíclico, o una combinación de los mismos, y que puede estar saturado, parcialmente insaturado o completamente insaturado.

60 Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ lineales saturados (no sustituidos) incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo y n-pentilo (amilo).

Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ ramificados saturados (no sustituidos) incluyen, pero sin limitación, iso-propilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo y neo-pentilo.

65 Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ alicíclicos (carbocíclicos) saturados (también denominados grupos "cicloalquilo C₃₋₇") incluyen, pero sin limitación, grupos no sustituidos, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo,

así como grupos sustituidos (por ejemplo, grupos que comprenden tales grupos), tales como metilciclopropilo, dimetilciclopropilo, metilciclobutilo, dimetilciclobutilo, metilciclopentilo, dimetilciclopentilo, metilciclohexilo, dimetilciclohexilo, ciclopropilmetilo y ciclohexilmetilo.

- 5 Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ insaturados (no sustituidos) que tienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono (también denominados grupos "alqueno C₂₋₇") incluyen, pero sin limitación, etenilo (vinilo, --CH=CH₂), 2-propenilo (alilo, --CH=CH=CH₂), isopropenilo (--C(CH₃)=CH₂), butenilo, pentenilo, y hexenilo.

- 10 Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ insaturados (no sustituidos) que tienen uno o más triples enlaces carbono-carbono (también denominados grupos "alquino C₂₋₇") incluyen, pero sin limitación, etinilo (etinilo) y 2-propinilo (propargilo).

- 15 Los ejemplos de grupos alquilo C₁₋₇ insaturados alicíclicos (carbocíclicos) que tienen uno o más dobles enlaces carbono-carbono (también denominados grupos "cicloalqueno C₃₋₇") incluyen, pero sin limitación, grupos no sustituidos, tales como ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo y ciclohexenilo, así como grupos sustituidos (por ejemplo, grupos que comprenden tales grupos), tales como ciclopropenilmetilo y ciclohexenilmetilo.

- 20 Heterociclilo C₃₋₂₀: El término "heterociclilo C₃₋₂₀", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo en el anillo de un compuesto heterocíclico C₃₋₂₀, teniendo dicho compuesto un anillo o dos o más anillos (por ejemplo, espiro, condensado, en puente) y teniendo de 3 a 20 átomos en el anillo, átomos, de los cuales de 1 a 10 son heteroátomos en el anillo y en el que al menos uno de dicho(s) anillo(s) es un anillo heterocíclico. Preferentemente, cada anillo tiene de 3 a 7 átomos en el anillo, de los que de 1 a 4 son heteroátomos en el anillo. "C₃₋₂₀" indica átomos en el anillo, ya sean átomos de carbono o heteroátomos.

- 25 Los ejemplos de grupos heterociclilo monocíclicos (no aromático) incluyen, pero sin limitación, los procedentes de:

- 30 N₁: aziridina (C₃), azetidina (C₄), pirrolidina (tetrahidropirrol) (C₅), pirrolina (por ejemplo, 3-pirrolina, 2,5-dihidropirrol) (C₅), 2H-pirrol o 3H-pirrol (isopirrol, isoazol) (C₅), piperidina (C₆), dihidropiridina (C₆), tetrahidropiridina (C₆), azepina (C₇);

- O₁: oxirano (C₃), oxetano (C₄), oxolano (tetrahidrofurano) (C₅), oxol (dihidrofurano) (C₅), oxano (tetrahidropirano) (C₆), dihidropirano (C₆), pirano (C₆), oxepina (C₇); S₁: tiorano (C₃), tietano (C₄), tiolano (tetrahidrotiofen) (C₅), tiano (tetrahidrotiopiran) (C₆), tiepano (C₇);

- 35 O₂: dioxolano (C₅), dioxano (C₆), y dioxepano (C₇);

- O₃: trioxano (C₆);

- N₂: imidazolidina (C₅), pirazolidina (diazolidina) (C₅), imidazolina (C₅), pirazolina (dihidropirazol) (C₅), piperazina (C₆);

- N₁O₁: tetrahidrooxazol (C₅), dihidrooxazol (C₅), tetrahidroisoxazol (C₅), dihidroisoxazol (C₅), morfolina (C₆), tetrahidrooxazina (C₆), dihidrooxazina (C₆), oxazina (C₆);

- 40 N₁S₁: tiazolina (C₅), tiazolidina (C₅), tiomorfolina (C₆);

- N₂O₁: oxadiazina (C₆);

- O₁S₁: oxatiol (C₅) y oxatiano (tioxano) (C₆); y,

- N₁O₁S₁: oxatiazina (C₆).

- 45 Los ejemplos de grupos heterociclilo monocíclicos sustituidos (no aromáticos) incluyen sacáridos, en forma cíclica, por ejemplo, furanosas (C₅), tales como arabinofurano, xilofurano, ribofurano y xilofurano, y piranosas (C₆), tales como alopirano, altropirano, glucopirano, manopirano, gulopirano, idopirano, galactopirano y talopirano.

- 50 Los ejemplos de grupos heterociclilo que también son grupos heteroarilo se describen a continuación con grupos arilo.

- 55 Arilo C₅₋₂₀: El término "arilo C₅₋₂₀", como se utiliza en el presente documento, se refiere a un resto monovalente obtenido mediante la eliminación de un átomo de hidrógeno de un átomo en el anillo aromático de un compuesto aromático C₅₋₂₀, teniendo dicho compuesto un anillo o dos o más anillos (por ejemplo, fusionados) y teniendo de 5 a 20 átomos de anillo y en el que al menos uno de dicho(s) anillo(s) es un anillo aromático. Preferentemente, cada anillo tiene de 5 a 7 átomos en el anillo.

- 60 Los átomos en el anillo pueden ser todos átomos de carbono, como en "grupos carboarilo", en cuyo caso, convenientemente, se puede hacer referencia al grupo como grupo "carcararilo C₅₋₂₀".

- Los ejemplos de grupos carboarilo incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de benceno (es decir fenilo) (C₆), naftaleno (C₁₀), azuleno (C₁₀), antraceno (C₁₄), fenantreno (C₁₄), naftaceno (C₁₈), y pireno (C₁₆).

- 65 Los ejemplos de grupos arilo que comprenden anillos condensados, siendo al menos uno de los cuales un anillo aromático, incluyen, pero sin limitación, grupos derivados de indeno (C₉), isoindeno (C₉), y fluoreno (C₁₃).

Como alternativa, los átomos en el anillo pueden incluir uno o más heteroátomos, incluyendo, pero sin limitaciones, oxígeno, nitrógeno y azufre, como en "grupos heteroarilo". En este caso, convenientemente se puede hacer referencia al como un grupo "heteroarilo C₅₋₂₀", en el que "C₅₋₂₀" indica átomos en el anillo, ya sean átomos de carbono o heteroátomos. Preferentemente, cada anillo tiene de 5 a 7 átomos en el anillo, de los que de 0 a 4 son heteroátomos en el anillo.

Los ejemplos de grupos heteroarilo monocíclicos incluyen, pero sin limitación, los procedentes de:

N₁ pirrol (azol) (C₅), piridina (azina) (C₆);

O₁: furano (oxol) (C₅);

S₁: tiofeno (tiol) (C₅);

N₁O₁: oxazol (C₅), isoxazol (C₅), isoxazina (C₆);

N₂O₁: oxadiazol (furazano) (C₅);

N₃O₁: oxatriazol (C₅);

N₁S₁: tiazol (C₅), isotiazol (C₅); N₂: imidazol (1,3-diazol) (C₅), pirazol (1,2-diazol) (C₅), piridazina (1,2-diazina) (C₆), pirimidina (1,3-diazina) (C₆) (por ejemplo, citosina, timina, uracilo), pirazina (1,4-diazina) (C₆);

N₃: triazol (C₅), triazina (C₆); y, N₄: tetrazol (C₅).

El alquilo C₁₋₇ anterior, heterociclilo C₃₋₂₀ y arilo C₅₋₂₀, bien solos o como parte de otro sustituyente, opcionalmente pueden ellos mismos estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre ellos mismos y los sustituyentes adicionales enumerados a continuación.

Hidrógeno: --H. Tenga en cuenta que si el sustituyente en una posición particular es hidrógeno, puede ser conveniente hacer referencia al compuesto como "no sustituido" en esa posición.

Halo: --F, --Cl, --Br y --I.

Hidroxi: --OH.

Éter: --OR, donde R es un sustituyente de éter, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇ (también denominado como grupo alcoxi C₁₋₇ descrito más adelante), un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ (también denominado grupo heterociclioxi C₃₋₂₀), o un grupo arilo C₅₋₂₀ (también denominado grupo ariloxi C₅₋₂₀), preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇.

alcoxi C₁₋₇: --OR, en el que R es un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos alcoxi C₁₋₇ incluyen, pero sin limitación, --OCH₃ (metoxi), --OCH₂CH₃ (etoxi) and-OC(CH₃)₃ (*tert*-butoxi).

Oxo (ceto, -ona): =O.

Formilo (carbaldehído, carboxaldehído): --C(=O)H.

Acilo (ceto): --C(=O)R, donde R es un sustituyente de acilo, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇ (también denominado alquilacilo C₁₋₇ o alcanóilo C₁₋₇), un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ (también denominado heterocicliacilo C₃₋₂₀) o un grupo arilo C₅₋₂₀ (también denominado arilacilo C₅₋₂₀), preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos acilo incluyen, pero sin limitación, --C(=O)CH₃ (acetilo), --C(=O)CH₂CH₃ (propionilo), --C(=O)C(CH₃)₃ (butirilo) y -C(=O)Ph (benzoílo, fenona).

Carboxi (ácido carboxílico): --COOH.

Éster (carboxilato, éster de ácido carboxílico, oxicarbonilo): --C(=O)OR, donde R es un sustituyente de éster, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇, un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos éster incluyen, pero sin limitación, --C(=O)OCH₃, --C(=O)OCH₂CH₃, --C(=O)OC(CH₃)₃ y --C(=O)OPh. Aciloxi (éster inverso): --OC(=O)R, donde R es un sustituyente de aciloxi, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇, un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos aciloxi incluyen, pero sin limitaciones, --OC(=O)CH₃ (acetoxi), --OC(=O)CH₂CH₃, --OC(=O)C(CH₃)₃, --OC(=O)Ph y -OC(=O)CH₂Ph.

Oxicarbonilo: --OC(=O)OR, donde R es un sustituyente de éster, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇, un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos éster incluyen, pero sin limitación, --OC(=O)OCH₃, --OC(=O)OCH₂CH₃, --OC(=O)OC(CH₃)₃ y --OC(=O)OPh.

Amido (carbamoílo, carbamilo, aminocarbonilo, carboxamida): --C(=O)NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente sustituyentes amino, como se define para los grupos amino. Los ejemplos de grupos amido incluyen, pero sin limitación, --C(=O)NH₂, --C(=O)NHCH₃, --C(=O)N(CH₃)₂, --C(=O)NHCH₂CH₃ y --C(=O)N(CH₂CH₃)₂, así como grupos amido en los que R₁ y R₂, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman una estructura heterocíclica como en, por ejemplo, piperidincarbonilo, morfolinocarbonilo, tiomorfolincarbonilo y piperazincarbonilo.

Acilamido (acilamino): --NR₁C(=O)R₂, en el que R₁ es un sustituyente de amida, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇, un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente, un grupo alquilo C₁₋₇ y R₂ es un sustituyente acilo, por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₇, un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente un grupo alquilo C₁₋₇. Los ejemplos de grupos acilamido incluyen, pero sin limitación, --NHC(=O)CH₃, --NHC(=O)CH₂CH₃ y --NHC(=O)Ph. R₁ y R₂ pueden formar juntos una estructura cíclica, como en, por ejemplo, succinimidilo, maleimidilo y ftalimidilo, tetrazolilo: (un anillo aromático de cinco miembros que tiene cuatro átomos de nitrógeno y un átomo de carbono).

Amino: --NR₁R₂, en el que R₁ y R₂ son independientemente sustituyentes amino, por ejemplo, hidrógeno, un grupo alquilo C₁₋₇ (también denominado alquilacilo C₁₋₇ o dialquilamino C₁₋₇), un grupo heterociclilo C₃₋₂₀ o un grupo arilo C₅₋₂₀, preferentemente H o un grupo alquilo C₁₋₇, o, en el caso de un grupo amino "cíclico", R₁ y R₂, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterocíclico que tiene de 4 a 8 átomos en el anillo.

Los ejemplos de grupos amino incluyen, pero sin limitación, $--NH_2$, $--NHCH_3$, $--NHC(CH_3)_2$, $--N(CH_3)_2$, $--N(CH_2CH_3)_2$ y $--NHPH$. Los ejemplos de grupos amino cíclicos incluyen, pero sin limitación, aziridino, azetidino, pirrolidino, piperidino, piperazino, morfolino y tiomorfolino.

5 **Poliamina** se refiere a polímeros que tienen una funcionalidad amina en la unidad monomérica, ya sea incorporada en la estructura, como en las polialquileniminas, o en un grupo colgante como en las polivinilaminas.

10 Como se ha mencionado anteriormente, un grupo alquilo C_{1-7} puede estar sustituido con, por ejemplo, hidroxilo (también denominado un grupo hidroxialquilo C_{1-7}), alcoxi C_{1-7} (también denominado un grupo alquilalcoxi C_{1-7}), amino (también denominado un grupo aminoalquilo C_{1-7}), halo (también denominado un grupo haloalquilo C_{1-7}), carboxi (también denominado un grupo carboxialquilo C_{1-7}), y arilo C_{5-20} (también denominado un grupo aril C_{5-20} alquilo $-C_{1-7}$).

15 De forma similar, un grupo arilo C_{5-20} puede estar sustituido con, por ejemplo, hidroxilo (también denominado un grupo hidroxiarilo C_{5-20}), halo (también denominado un grupo haloarilo C_{5-20}), amino (también denominado un grupo aminoarilo C_{5-20} , por ejemplo, como en anilina), alquilo C_{1-7} (también denominado un grupo alquil C_{1-7} arilo- C_{5-20} , por ejemplo, como en tolueno), y alcoxi C_{1-7} (también denominado un grupo alcoxi C_{1-7} arilo C_{5-20} , por ejemplo, como en anisol).

20 Incluidos en lo anterior se encuentran las formas iónicas, de sal y protegidas bien conocidas de estos sustituyentes. Por ejemplo, una referencia al ácido carboxílico ($--COOH$) también incluye la forma (carboxilato) aniónica ($--COO^-$), una sal o un solvato de la misma, así como las formas protegidas convencionales. De forma similar, una referencia a un grupo amino incluye la forma protonada ($--N+HR^1R^2$), una sal o un solvato del grupo amino, por ejemplo, una sal de clorhidrato, así como las formas protegidas convencionales de un grupo amino. De forma similar, una referencia a un grupo hidroxilo también incluye la forma aniónica ($--O^-$), una sal o un solvato de la misma, así como formas protegidas convencionales de un grupo hidroxilo.

25 Además de la divulgación del presente documento, en una determinada realización, un grupo que está sustituido tiene 1, 2, 3 o 4 sustituyentes, 1, 2 o 3 sustituyentes, 1 o 2 sustituyentes, o 1 sustituyente.

30 Se entiende que en todos los grupos sustituidos definidos anteriormente, los polímeros resultado de la definición de sustituyentes con sustituyentes adicionales para los mismos (por ejemplo, arilo sustituido que tiene un grupo arilo sustituido como un sustituyente que se sustituye con un grupo arilo sustituido, que está además sustituido con un grupo arilo sustituido, etc.) no están destinados a su inclusión en el presente documento. En dichos casos, el número máximo de tales sustituciones es tres. Por ejemplo, las sustituciones en serie de los grupos arilo sustituidos contemplados específicamente en el presente documento se limitan a aril-(arilo sustituido)-arilo sustituido.

35 A menos que se indique otra cosa, la nomenclatura de los sustituyentes que no se definen explícitamente en el presente documento se obtiene nombrando la porción terminal de la funcionalidad seguida por la funcionalidad adyacente hacia el punto de unión. Por ejemplo, el sustituyente "arilalquiloalcoxycarbonilo" se refiere al grupo (aril)-(alquil)-O-C(O)-.

40 En cuanto a cualquiera de los grupos desvelados en el presente documento que contienen uno o más sustituyentes, se entiende, por supuesto, que dichos grupos no contienen patrones de sustitución o sustitución que sean estéticamente no prácticos y/o sintéticamente no factibles. Además, los compuestos objeto incluyen todos los isómeros estereoquímicos que surgen de la sustitución de estos compuestos.

45 Tal como se utiliza en el presente documento, una "dosificación eficaz" o "cantidad eficaz" de fármaco, compuesto, o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para efectuar resultados beneficiosos o deseados. Para uso profiláctico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados tales como la eliminación o la reducción del riesgo, la disminución de la gravedad, o el retraso del inicio de la enfermedad, incluyendo los síntomas bioquímicos, histológicos y/o de comportamiento de la enfermedad, sus complicaciones y los fenotipos patológicos intermedios que se presentan durante el desarrollo de la enfermedad. Para uso terapéutico, los resultados beneficiosos o deseados incluyen resultados clínicos tales como la disminución de uno o más síntomas resultantes de la enfermedad, aumentar la calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad, reducir la dosis de otras medicaciones necesarias para tratar la enfermedad, potenciar el efecto de otra medicación tal como dirigir, o retrasar la progresión de la enfermedad, y/o prolongar la supervivencia. En el caso de cáncer o tumor, una cantidad eficaz del medicamento puede tener el efecto de reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la infiltración de células cancerosas en órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar hasta cierto punto y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, hasta cierto punto, el crecimiento tumoral; y/o aliviar en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el trastorno. Se puede administrar una cantidad eficaz en una o más administraciones. Para los fines de la presente descripción, una dosificación eficaz de fármaco, compuesto, o composición farmacéutica es una cantidad suficiente para llevar a cabo el tratamiento profiláctico o terapéutico tanto directa como indirectamente. Como se entiende en el contexto clínico, una dosificación eficaz de un fármaco, compuesto o composición farmacéutica puede conseguirse o no junto con otro fármaco, compuesto, o composición farmacéutica. Por lo tanto, se puede considerar una "dosificación eficaz" en el contexto de la administración de uno o más agentes terapéuticos, y se puede considerar que un único agente se administra en una cantidad eficaz si, junto con uno o más de otros agentes, puede darse o se consigue un resultado deseable.

Tal como se utiliza en el presente documento, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento además de otra modalidad de tratamiento. Como tal, "junto con" se refiere a la administración de una modalidad de tratamiento antes, durante o después de la administración de otra modalidad de tratamiento al individuo.

5 Tal como se utiliza en el presente documento, "tratamiento" o "tratar" es una solución para obtener resultados beneficiosos o deseados incluyendo preferentemente resultados clínicos. Para los fines de la presente descripción, los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen, pero sin limitación, uno o más de los siguientes: reducir la proliferación de (o destruir) células cancerosas, disminuir los síntomas resultantes de la enfermedad, aumentar la
10 calidad de vida de aquellos que padecen la enfermedad, reducir la dosis de otras medicaciones necesarias para tratar la enfermedad, retrasar la progresión de la enfermedad, y/o prolongar la supervivencia de los individuos.

15 Tal como se utiliza en el presente documento, "retrasar el desarrollo de una enfermedad" significa diferir, impedir, ralentizar, retardar, estabilizar y/o posponer el desarrollo de la enfermedad (como el cáncer). Este retraso puede ser de diferentes períodos de tiempo, dependiendo de los antecedentes de la enfermedad y/o del individuo que se trate. Como es evidente para un experto en la materia, un retraso suficiente o significativo puede, en efecto, incluir la prevención, en el sentido de que el individuo no desarrolla la enfermedad. Por ejemplo, un cáncer en etapa tardía, tal como el desarrollo de metástasis, puede retrasarse.

20 Un "individuo" o un "sujeto" o un "paciente" es un mamífero. Los mamíferos también incluyen, pero sin limitación, animales de granja, animales para el deporte, mascotas (tales como gatos, perros, caballos), primates, ratones y ratas. En algunas realizaciones, un individuo es un ser humano.

25 Tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", "una", y "el" o "la", incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por ejemplo, la referencia a un "anticuerpo" es una referencia de uno a muchos anticuerpos, tales como cantidades molares, e incluyen equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica, y así sucesivamente.

30 La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluye (y describe) realizaciones que se refieren a ese valor o parámetro per se. Por ejemplo, una descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X."

35 Se entiende que aspectos y variaciones de la divulgación descrita en el presente documento incluyen "que consiste en" y/o "que consiste esencialmente en" aspectos y variaciones.

40 Salvo que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la materia a la cual pertenece la presente invención. Aunque también pueden usarse en la puesta en práctica o el ensayo de la presente invención cualquier procedimiento y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, ahora se describen los procedimientos y materiales preferidos.

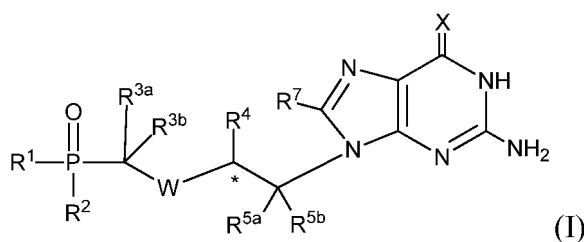
45 La nomenclatura usada en el presente documento para nombrar los presentes compuestos se ilustra en los ejemplos del presente documento. Esta nomenclatura generalmente se ha derivado utilizando el software AutoNom disponible comercialmente.

50 Se apreciará que determinadas características de la divulgación, que son, para mayor claridad, se describen en el contexto de realizaciones separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una única realización. Por el contrario, varias características de la divulgación, que son, para mayor brevedad, se describen en el contexto de una única realización, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Todas las combinaciones de las realizaciones que pertenecen a los grupos químicos representados por las variables están abarcadas específicamente por la presente divulgación y se divulgan en el presente documento como si se hubiesen divulgado de manera individual y explícita todas y cada una de las combinaciones, en la medida en que tales combinaciones incluyen compuestos que son compuestos estables (es decir, compuestos que pueden aislarse, caracterizarse y probarse para determinar la actividad biológica). Además, también se encuentran abarcadas por la
55 presente divulgación todas las subcombinaciones de los grupos químicos enumerados en las realizaciones que describen dichas variables y se divulgan en el presente documento como si se hubiesen divulgado de manera individual y explícita todas y cada una de dichas subcombinaciones de grupos químicos.

60 III. *Compuestos*

A. *Fórmula I*

La presente divulgación proporciona un compuesto de Fórmula (I):



(I)

en la que

- 5 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de entre $-NR^{1a}R^{1b}$ y OR^{1c} ; en la que R^{1a} y R^{1b} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, poliamina y $-\text{CH}(R^{1d})-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{1e}$, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina; en la que
- 10 R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo, en la que alquilo y arilo, si está sustituido, están independientemente sustituidos con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina; y R^{1e} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
- 15 R^{1c} se selecciona entre hidrógeno, alquilo y arilo; en el que al menos uno de R^1 y R^2 es $-NR^{1a}R^{1b}$; R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y halo; W es O, S o NH;
- 20 R^4 se selecciona entre $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$, y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 o halógeno; R^{5a} y R^{5b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$, y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en el que alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 o halógeno; R^7 es hidrógeno o flúor; y
- 25 X es O, S o NH; y sales, hidratos, solvatos y tautómeros, de los mismos.
- En determinadas realizaciones, R^1 es diferente de R^2 . En determinadas realizaciones, uno de R^1 y R^2 lleva una carga positiva y el otro lleva una carga negativa. En determinadas realizaciones, el compuesto de Fórmula (I) es un zwitterion.
- 30 En determinadas realizaciones, el compuesto de fórmula (I) es el enantiómero (R) enriquecido o aislado en el estereocentro vehículo de R^4 .
- En la Fórmula (I), R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de entre $-NR^{1a}R^{1b}$ y OR^{1c} ; en el que al menos uno de R^1 y R^2 es $-NR^{1a}R^{1b}$. En determinadas realizaciones, R^1 es $-NR^{1a}R^{1b}$ y R^2 es OR^{1c} . En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_{1-20} ; y R^2 es OH. En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es una poliamina; y R^2 es OH.
- 40 En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es hidrógeno. En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_{1-20} . En ciertos casos, uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_{5-20} , alquilo C_{10-20} , alquilo C_{15-20} , alquilo C_{1-15} , Ci-ialquilo, alquilo C_{1-5} o alquilo C_{5-15} . En ciertos casos, uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_8 , alquilo- C_9 , Cioalquilo, alquilo C_{11} o alquilo C_{12} .
- En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{NHR}^x$; en el que R^x es hidrógeno o $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$; y n es, independientemente, un número de 2 a 4. En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(\text{CH}_2)_n\text{NHR}^x$; en el que R^x es hidrógeno o $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$; y n es, independientemente, un número de 2 a 4. En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$, en el que n es un número de 2 a 4.
- 50 En determinadas realizaciones, uno de R^{1a} y R^{1b} es $-\text{CH}(R^{1d})-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{1e}$, y R^2 es OH. En ciertos casos, R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo. En ciertos casos, R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido y heteroarilo. En ciertos casos, R^{1d} es alquilo o alquilo sustituido.
- En ciertos casos, R^{1d} es una cadena lateral de aminoácido. En ciertos casos, $-\text{CH}(R^{1d})-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{1e}$ es un aminoácido seleccionado de alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. En ciertos casos, R^{1d} es una cadena lateral de aminoácidos cargada positivamente. En ciertos casos, $-\text{CH}(R^{1d})-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{1e}$ es un

aminoácido seleccionado de lisina, arginina e histidina.

5 Aminoácido se refiere a los aminoácidos naturales (codificados genéticamente) o no naturales o sintéticos y sus derivados comunes, conocido para los expertos en la técnica. Cuando se aplica a los aminoácidos, "natural" se refiere a los 20 aminoácidos codificados genéticamente en su configuración natural. Los "aminoácidos no naturales" se han modificado después de la síntesis de proteínas y/o tienen una estructura química en su cadena o cadenas laterales diferentes de la de los aminoácidos estándar. Los aminoácidos no naturales se pueden sintetizar químicamente o están disponibles comercialmente.

10 En determinadas realizaciones, R^{1e} es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R^{1e} es alquilo C₁₋₆.

En determinadas realizaciones, R^{1c} es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R^{1c} es alquilo. En determinadas realizaciones, R^{1c} es arilo.

15 En la Fórmula (I), R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno y halo. En determinadas realizaciones, R^{3a} y R^{3b} son hidrógeno. En determinadas realizaciones, uno de R^{3a} y R^{3b} es halo.

En la Fórmula (I), W es O, S o NH. En determinadas realizaciones, W es O. En determinadas realizaciones, W es S. En determinadas realizaciones, W es NH.

20 En la Fórmula (I), R⁴ se selecciona entre -OH, -NH₂, N₃, -CH=CH₂, y alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que el alquilo está sustituido con -OH, -NH₂, N₃, o halógeno. En determinadas realizaciones, R⁴ es -OH. En determinadas realizaciones, R⁴ es NH₂ o N₃. En determinadas realizaciones, R⁴ es -CH=CH₂. En determinadas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂. En determinadas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂ sustituido, en la que alquilo está sustituido con -OH. En determinadas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂ sustituido, en el que alquilo está sustituido con -NH₂ o N₃. En determinadas realizaciones, R⁴ es alquilo C₁₋₂ sustituido, en el que el alquilo está sustituido con halógeno.

30 En la Fórmula (I), R^{5a} y R^{5b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, -OH, -NH₂, N₃, -CH=CH₂, y alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en la que alquilo está sustituido con -OH, -NH₂, N₃, o halógeno. En determinadas realizaciones, R^{5a} y R^{5b} son hidrógeno. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} es -OH. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} se selecciona de entre -NH₂, y N₃. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} es -CH=CH₂. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} es alquilo C₁₋₂. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} es alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que el alquilo está sustituido con -OH, -NH₂ o N₃. En determinadas realizaciones, uno de R^{5a} y R^{5b} es alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido, en el que el alquilo está sustituido con halógeno.

40 En determinadas realizaciones, R^{5a} es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R^{5a} es -OH. En determinadas realizaciones, R^{5a} es NH₂ o N₃. En determinadas realizaciones, R^{5a} es -CH=CH₂. En determinadas realizaciones, R^{5a} es alquilo C₁₋₂. En determinadas realizaciones, R^{5a} es alquilo C₁₋₂ sustituido, en la que alquilo está sustituido con -OH. En determinadas realizaciones, R^{5a} es alquilo C₁₋₂ sustituido, en el que alquilo está sustituido con -NH₂ o N₃.

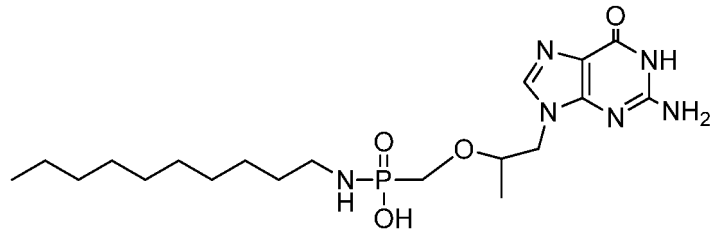
45 En determinadas realizaciones, R^{5b} es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R^{5b} es -OH. En determinadas realizaciones, R^{5b} es NH₂ o N₃. En determinadas realizaciones, R^{5b} es -CH=CH₂. En determinadas realizaciones, R^{5b} es alquilo C₁₋₂. En determinadas realizaciones, R^{5b} es alquilo C₁₋₂ sustituido, en la que alquilo está sustituido con -OH. En determinadas realizaciones, R^{5b} es alquilo C₁₋₂ sustituido, en el que alquilo está sustituido con -NH₂ o N₃.

En la Fórmula (I), R⁷ es hidrógeno o flúor. En determinadas realizaciones, R⁷ es hidrógeno. En determinadas realizaciones, R⁷ es flúor.

50 En la Fórmula (I), X es O, S o NH. En determinadas realizaciones, X es O. En determinadas realizaciones, X es S. En determinadas realizaciones, X es NH.

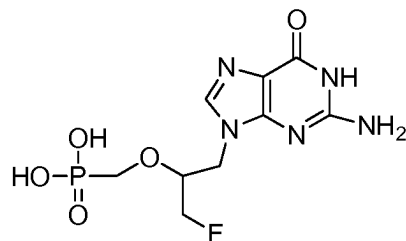
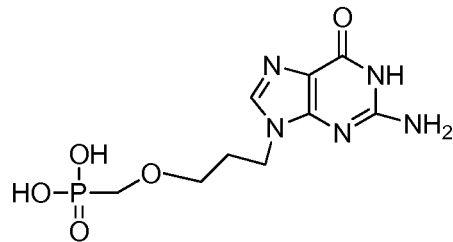
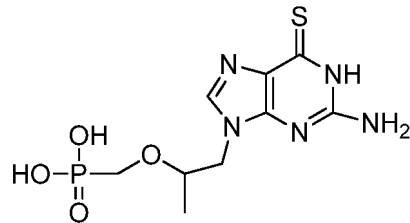
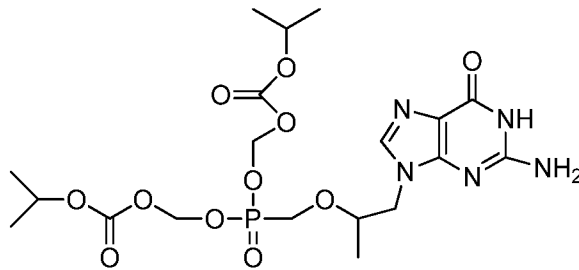
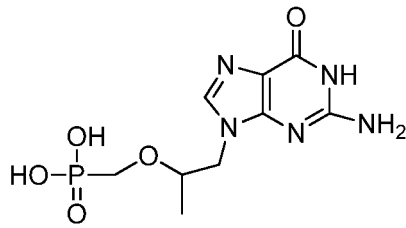
La presente divulgación proporciona compuestos como se muestra en las Tablas 9 y 10 y su uso en los procedimientos descritos en el presente documento.

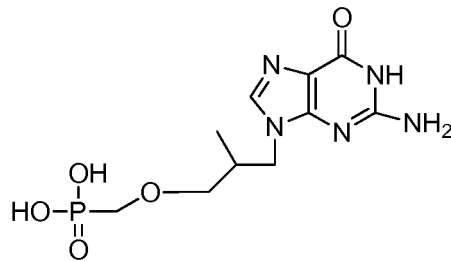
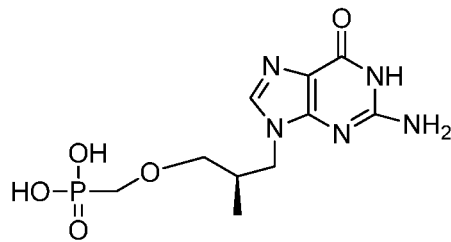
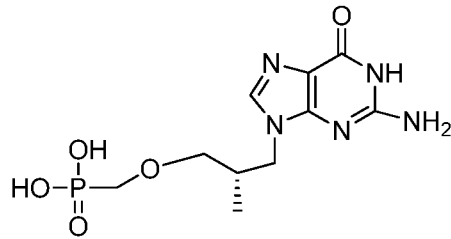
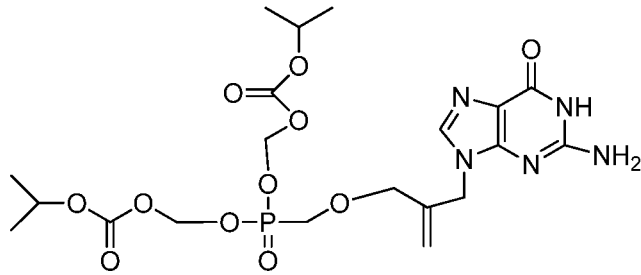
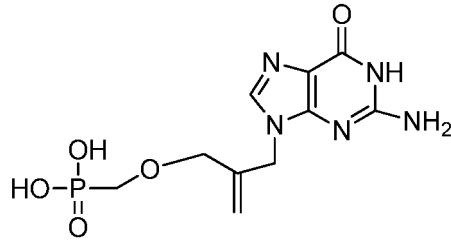
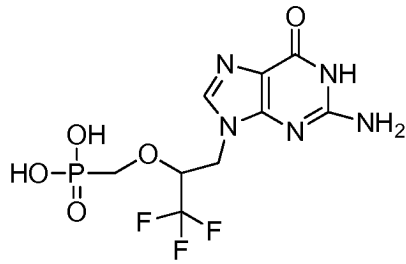
55 La presente divulgación proporciona compuestos de la siguiente fórmula y su uso en los procedimientos descritos en el presente documento:

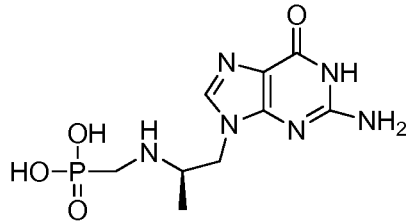
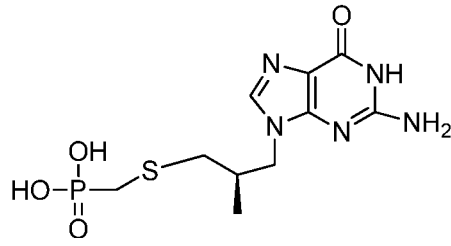


La presente divulgación proporciona compuestos de las siguientes fórmulas y su uso en los procedimientos descritos en el presente documento:

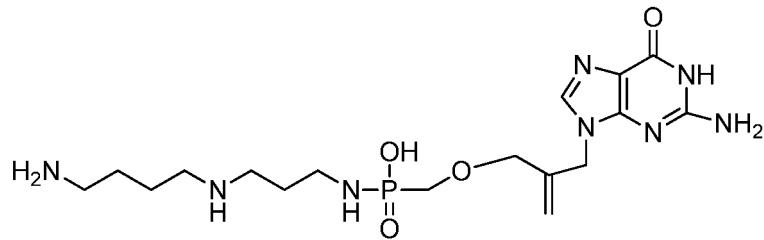
5



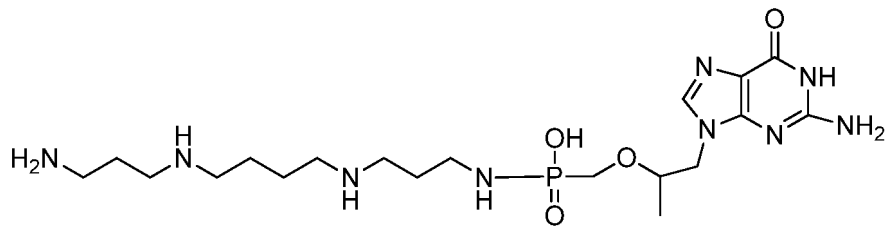
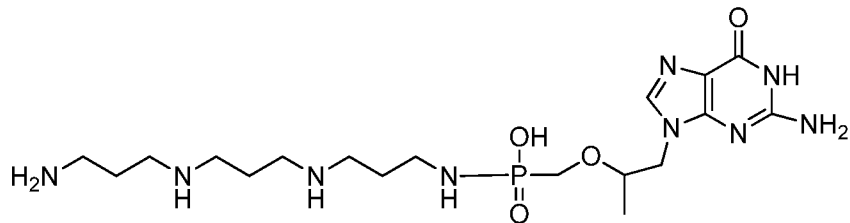




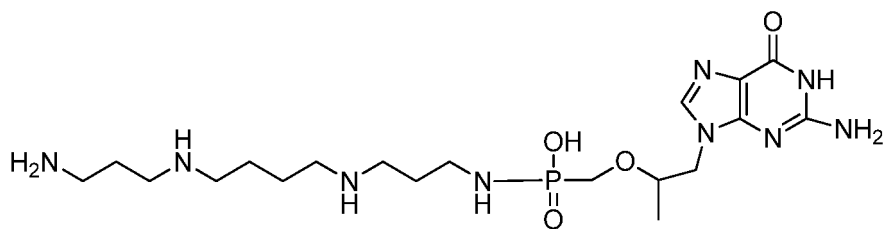
5 La presente divulgación proporciona compuestos de las siguientes fórmulas y su uso en los procedimientos descritos en el presente documento:



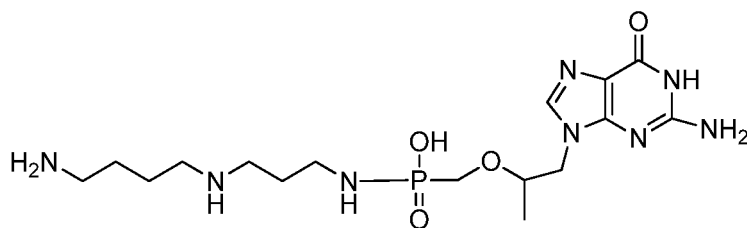
10



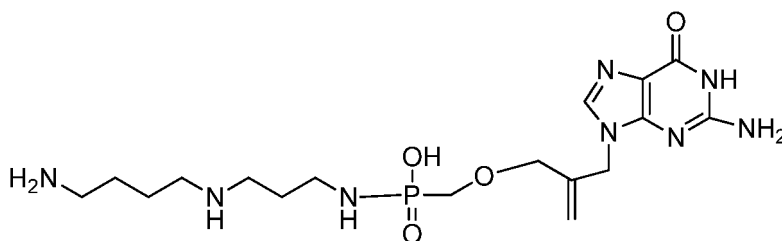
15 La presente divulgación proporciona compuestos de las siguientes fórmulas y su uso en los procedimientos descritos en el presente documento:



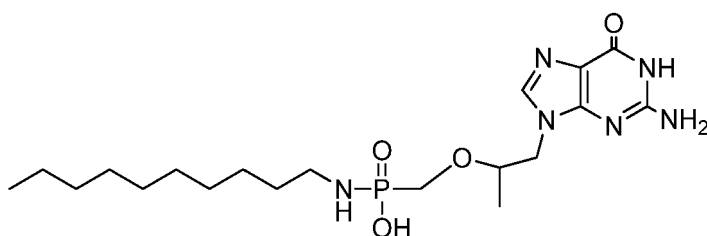
(PMPG-espermina)



(PMPG espermidina)



(PMIBeG espermidina)



(conjugado de PMPG decilamina)

5

Los compuestos de los descritos en el presente documento se pueden preparar y/o formular como sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales no tóxicas de una forma de base libre de un compuesto que posee la actividad farmacológica deseada de la base libre. Estas sales pueden derivar de ácidos inorgánicos u orgánicos. Los ejemplos no limitantes de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sulfatos, pirofosfatos, bisulfatos, sulfitos, bisulfitos, fosfatos, monohidrógeno-fosfatos, dihidrogenofosfatos, metafosfatos, pirofosfatos, cloruros, bromuros, yoduros, acetatos, propionatos, decanoatos, caprilatos, acrilatos, formiatos, isobutiratos, caproatos, heptanoatos, propiolatos, oxalatos, malonatos, succinatos, suberatos, sebacatos, fumaratos, maleatos, butin-1,4-dioatos, hexin-1,6-dioatos, benzoatos, clorobenzoatos, metilbenzoatos, dinitrobenzoatos, hidroxibenzoatos, metoxibenzoatos, ftalatos, sulfonatos, metilsulfonatos, propilsulfonatos, besilatos, xilenosulfonatos, naftaleno-1-sulfonatos, naftaleno-2-sulfonatos, fenilacetatos, fenilpropionatos, fenilbutiratos, citratos, lactatos, γ -hidroxibutiratos, glicolatos, tartratos, y mandelatos. Las listas de otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a Edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985.

10

15

20

25

30

Para un compuesto descrito en el presente documento que contiene un nitrógeno básico, se puede preparar una sal farmacéuticamente aceptable mediante cualquier procedimiento adecuado disponible en la técnica, por ejemplo, tratamiento de la base libre con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido nítrico, ácido bórico, ácido fosfórico y similares o con un ácido orgánico, tal como ácido acético, ácido fenilacético, ácido propiónico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido isetíonico, ácido succínico, ácido valérico, ácido fumárico, ácido malónico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido glicólico, ácido salicílico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido láurico, un ácido piranosidílico, tal como ácido glucurónico o ácido galacturónico, un alfa-hidroxiácido, tal como ácido mandélico, ácido cítrico o ácido tartárico, un aminoácido, tal como ácido aspártico o ácido glutámico, un ácido aromático, tales como ácido benzoico, ácido 2-acetoxibenzoico, ácido naftoico o ácido cinámico, un ácido sulfónico, tal como ácido laurilsulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido etanosulfónico, o cualquier mezcla compatible de ácidos como los que se dan como ejemplos en el presente documento, y cualquier otro ácido y mezcla de los mismos que se consideren equivalentes o sustitutos aceptables a la luz del nivel ordinario de habilidad en esta tecnología.

35

G. Síntesis de los Compuestos

Las realizaciones también se dirigen a procedimientos e intermedios útiles para preparar los compuestos objeto o sales o solvatos o estereoisómeros de los mismos.

40

Están disponibles muchas referencias generales que proporcionan esquemas de síntesis química comúnmente conocidos y condiciones útiles para sintetizar los compuestos desvelados (véase, por ejemplo, Smith y March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Quinta edición, Wiley-Interscience, 2001.)

Los compuestos como se describen en el presente documento se pueden purificar por cualquiera de los medios conocidos en la técnica, incluyendo medios cromatográficos, tal como cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), cromatografía preparativa de capa fina, cromatografía en columna ultrarrápida y cromatografía de intercambio iónico. Puede utilizarse cualquier fase estacionaria adecuada, incluyendo fases normales e inversas, así como resinas iónicas. Más normalmente, los compuestos desvelados se purifican a través de cromatografía sobre gel de sílice y/o

alúmina. Véase, por ejemplo, Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2ª ed., ed. L. R. Snyder y J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; y Thin Layer Chromatography, E. Stahl (ed.), Springer-Verlag, Nueva York, 1969.

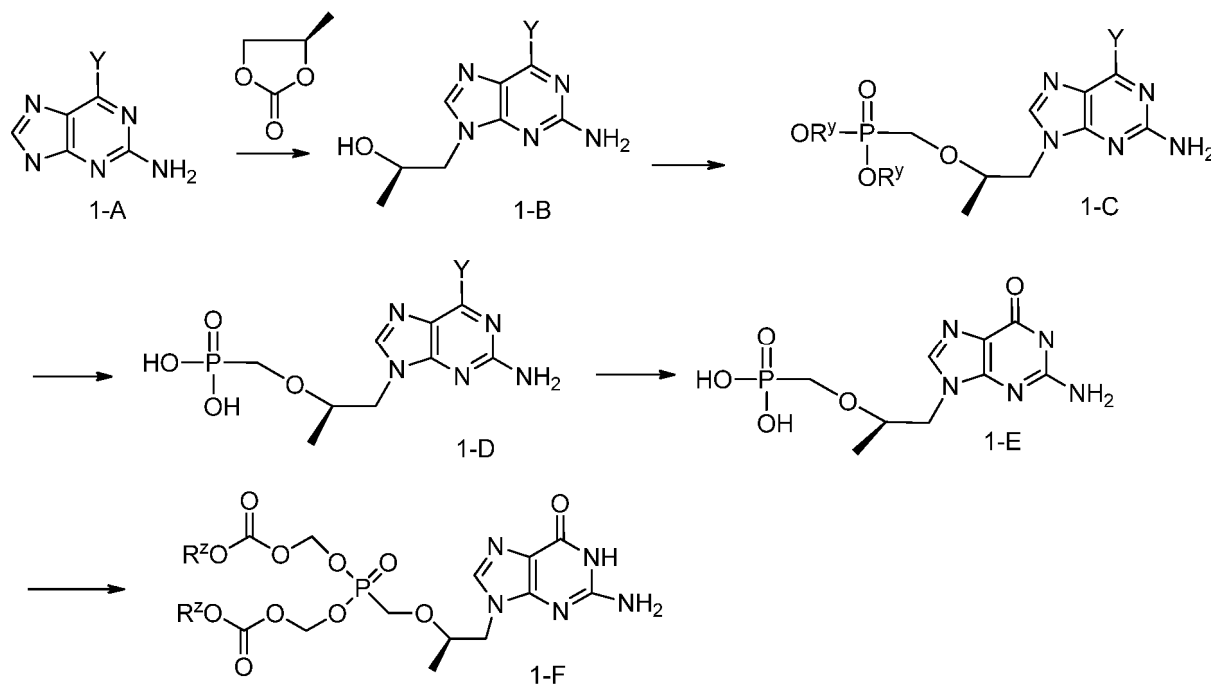
Durante cualquiera de los procedimientos para la preparación de los compuestos en cuestión, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas involucradas. Esto se puede lograr por medio de grupos protectores convencionales como se describe en trabajo estándar, tales como T. W. Greene y P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis," 4ª ed., Wiley, New York 2006. Los grupos protectores pueden ser eliminados en una fase posterior conveniente usando procedimientos conocidos en la técnica.

Las entidades químicas de ejemplo útiles en los procedimientos del presente documento se describirán ahora por referencia a esquemas sintéticos ilustrativos para su preparación general en el presente documento y los ejemplos específicos que siguen. Los expertos reconocerán que, para obtener los diversos compuestos del presente documento, los materiales de partida se pueden seleccionar adecuadamente de manera que los sustituyentes finalmente deseados se llevarán a través del esquema de reacción con o sin protección, según sea apropiado, para producir el producto deseado. Como alternativa, puede ser necesario o deseable emplear, en lugar del sustituyente finalmente deseado, un grupo adecuado que pueda usarse a través del esquema de reacción y reemplazarse según sea apropiado con el sustituyente deseado. Adicionalmente, un experto en la técnica reconocerá que las transformaciones mostradas en los esquemas siguientes se pueden realizar en cualquier orden que sea compatible con la funcionalidad de los grupos pendientes particulares. Cada una de las reacciones representadas en los esquemas generales se realiza preferiblemente a una temperatura de aproximadamente 0 °C a la temperatura de reflujo del disolvente orgánico utilizado. A menos que se especifique de otro modo, las variables son las definidas anteriormente en referencia a la Fórmula (I).

Las síntesis representativas de compuestos se describen en los esquemas siguientes y los ejemplos particulares que siguen.

El esquema 1 muestra una síntesis representativa de los compuestos descritos en el presente documento.

Esquema 1



En el Esquema 1, el compuesto 1-A está disponible comercialmente o puede ser sintetizado por un experto en la técnica. En el compuesto 1-A, Y es un grupo saliente. En ciertos casos, Y es un halógeno, tal como cloro. El compuesto 1-A reacciona con R-(+)-carbonato de propileno en presencia de una base para formar el compuesto 1-B. En el Esquema 1, el carbonato de propileno se muestra con la estereoquímica R-(+). Sin embargo, la estereoquímica se

muestra con fines representativos. En el esquema de reacción también se puede usar otra estereoquímica o una mezcla racémica para carbonato de propileno.

5 Con referencia continua al Esquema 1, el compuesto 1-B reacciona con un agente de fosfonilación para formar el compuesto 1-C. La reacción de fosfonilación se puede realizar en presencia de una base fuerte, tal como terc-butóxido de litio. En el compuesto 1-C, R^y es un grupo alquilo, tales como metilo, etilo, o propilo. Después, los grupos alquilo en el grupo fosfonato se eliminan para producir el compuesto 1-D. Las condiciones para eliminar el grupo alquilo incluyen reacciones estándar para eliminar los grupos protectores de alquilo en los fosfonatos. Las condiciones adecuadas incluyen la reacción con hidrólisis ácida, TMSBr, LiBr o hidróxido de amonio.

10 Con referencia continua al Esquema 1, el grupo saliente Y del compuesto 1-D se convierte en un heteroátomo para producir el compuesto 1-E. Las condiciones adecuadas para convertir el compuesto 1-D en el compuesto 1-E incluyen hidrólisis, tal como calentamiento en una solución ácida.

15 Después, el grupo fosfato del compuesto 1-E se alquila para formar el compuesto 1-F. En el Esquema 1, a efectos representativos, el reactivo de alquilación añade el resto -CH₂-O-C(O)-OR^z al Compuesto 1-E. En determinadas realizaciones, R^z es un grupo alquilo, tales como metilo, etilo, propilo o isopropilo. Las condiciones adecuadas para la alquilación del compuesto 1-E incluyen la reacción en condiciones básicas con el uso de bases, tales como trietilamina y TBAF.

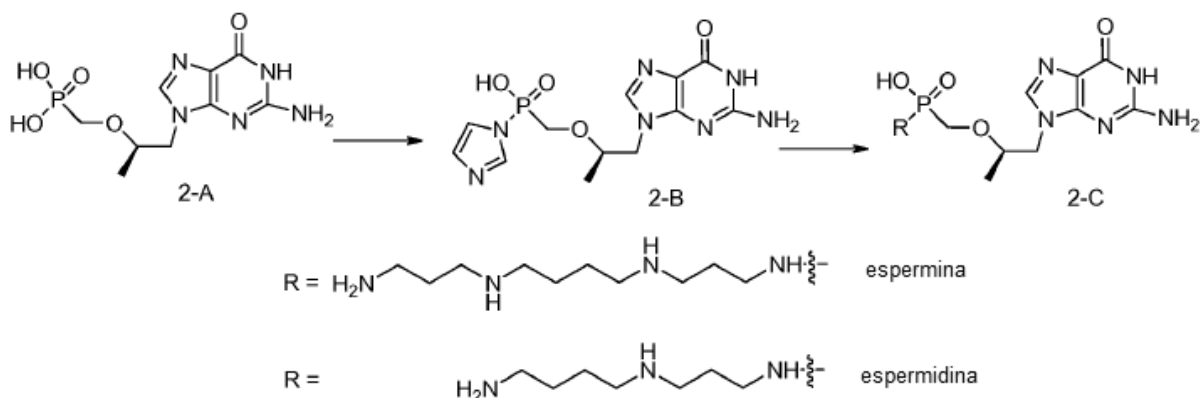
20 Un ejemplo de un procedimiento experimental para sintetizar un compuesto descrito en el presente documento es el siguiente. Un milimol de un compuesto de fosfonato que comprende un resto -O-CH₂-P(O)(OH)₂ se secó con coevaporación y se suspendió en 30 ml de NMP. Se añadió un equivalente de bromuro de tetrabutilamonio, 4 equivalentes de trietilamina y 5 equivalentes de isopropilcarbonato de clorometilo (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA) y la mezcla de reacción se calentó durante 5 horas a 50 °C. Después del enfriamiento, se añadió cloruro de metileno y la solución se lavó con salmuera. Después de secar sobre sulfato de sodio, la fase orgánica se evaporó hasta aproximadamente 30 ml. El NMP se eliminó mediante trituración con ciclohexano y hexano. El residuo sólido se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en cloruro de metileno que contenía metanol al 15 por ciento.

30 El producto también se puede purificar usando una columna HPLC C18, acetato de TEA 50 mM, acetonitrilo, el gradiente de 20-90 por ciento de acetonitrilo.

El esquema 2 muestra una síntesis representativa de los compuestos descritos en el presente documento.

35

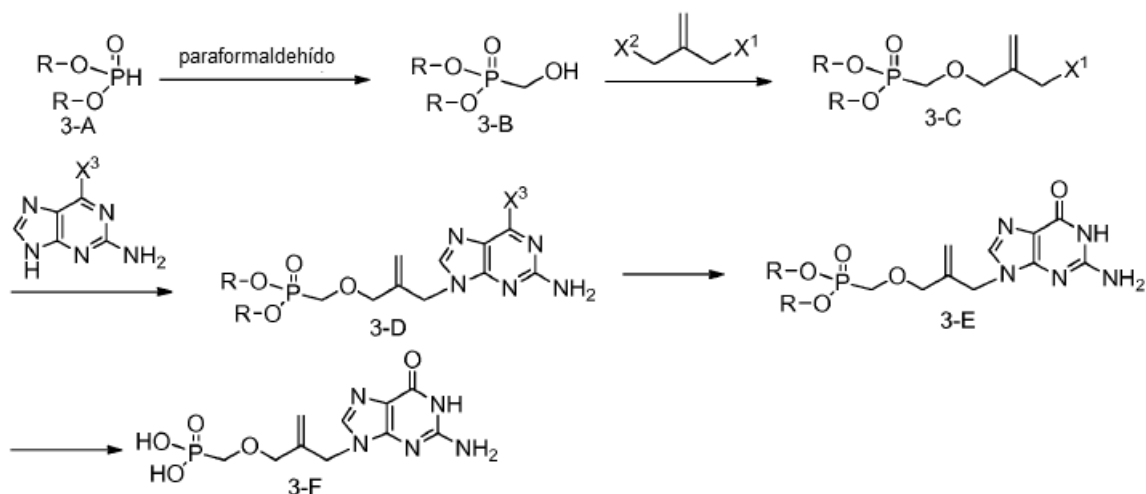
Esquema 2



40 En el esquema 2, el compuesto 2-A se puede sintetizar como se muestra en el Esquema 1. El compuesto 2-A se hace reaccionar con carbonildiimidazol para formar el compuesto 2-B que comprende un resto imidazol. Con un resto imidazol como grupo saliente, el compuesto 2-B puede reaccionar con compuestos amino para formar el compuesto 2-C. A efectos representativos, el esquema 2 muestra la reacción con espermina o espermidina para formar el compuesto 2-C. Sin embargo, se puede usar cualquier compuesto amino adecuado en el Esquema 2.

45 El esquema 3 muestra una síntesis representativa de los compuestos descritos en el presente documento.

Esquema 3

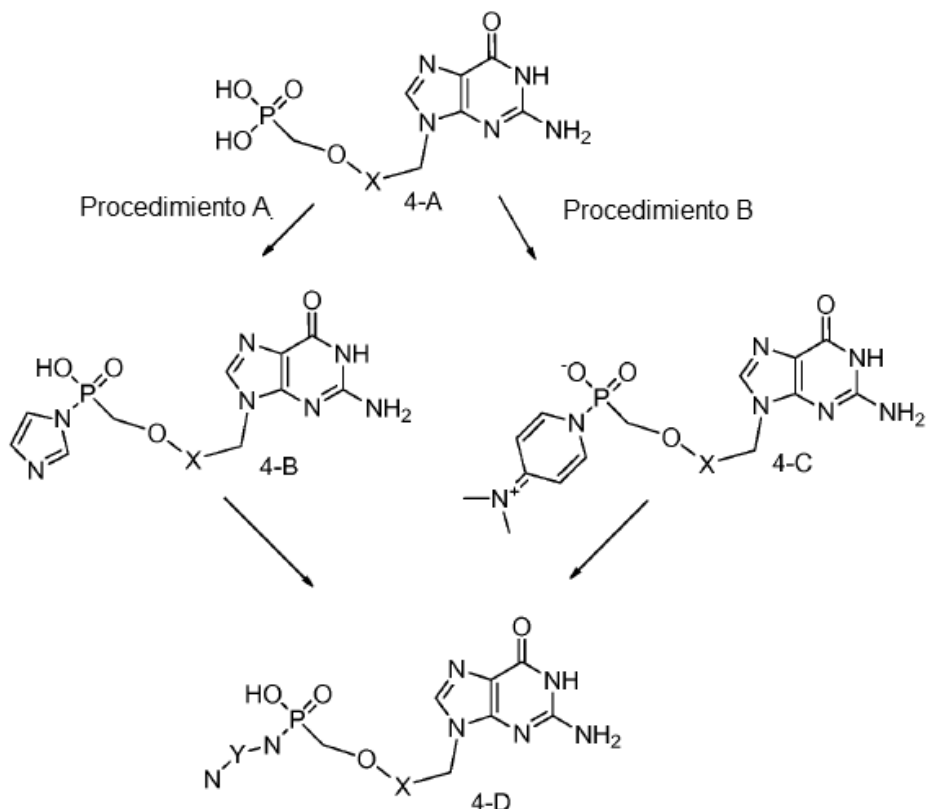


El esquema 3 muestra una síntesis de un compuesto fosfonato de nucleósido acíclico. En el Esquema 3, R es un grupo alquilo; X¹, X² y X³ son grupos salientes. Los ejemplos de grupos salientes incluyen haluro, arilsulfonato, alquilsulfonato y perfluoroalquilsulfonato.

En referencia al esquema 3, el compuesto 3-A se hace reaccionar con paraformaldehído para formar el compuesto 3-B. La reacción puede producirse en presencia de una base, tal como trietilamina o diisopropilamina. El compuesto 3-B reacciona con un derivado de metilpropeno con dos grupos salientes. En una primera reacción, uno de los grupos salientes es desplazado por el grupo hidroxilo del compuesto 3-B para formar el compuesto 3-C. En una segunda reacción, el grupo saliente en el compuesto 3-C reacciona con el grupo amino de un derivado de purina para formar el compuesto 3-D. Después, el grupo saliente del compuesto 3-D se convierte en un heteroátomo para producir el compuesto 3-E. Las condiciones adecuadas para convertir el compuesto 3-D en el compuesto 3-E incluyen hidrólisis, tal como calentamiento en una solución ácida, cuando el grupo saliente es un halógeno. Después, los grupos alquilo del compuesto 3-E se eliminan para formar el compuesto 3-F. Las condiciones adecuadas para eliminar el grupo alquilo de un fosfonato incluyen el uso de TMS-Br.

El esquema 4 muestra una síntesis representativa de los compuestos descritos en el presente documento.

Esquema 4



En el Esquema 4, -X-CH₂- es un representante de -W-CH(R⁴)-C(R^{5a})(CR^{5b})- o -W-CH(R⁴)-C(R^{5a})(CR^{5b})-C(R^{6a})(CR^{6b})- en las fórmulas del presente documento.

5

Con referencia al Esquema 4, el procedimiento A muestra una síntesis de un compuesto de poliamina fosfonato de nucleósido acíclico utilizando un derivado de imidazolilo como intermedio. En el procedimiento A, el compuesto 4-A, un ácido fosfonato de nucleósido, se hace reaccionar con carbonildiimidazol para formar el compuesto 4-B. Las condiciones para la reacción con carbonildiimidazol incluyen la reacción en un disolvente apropiado a temperatura ambiente. El compuesto 4-B reacciona luego con una poliamina para producir el compuesto 4-D. El grupo amino de la poliamina puede desplazar el resto imidazol. Las condiciones para la reacción con poliamina incluyen la reacción en un disolvente apropiado a temperatura ambiente.

10

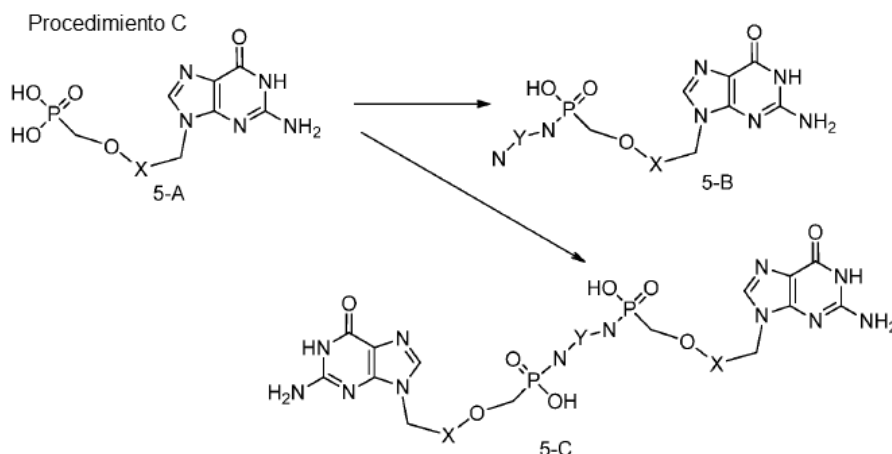
Con referencia continua al Esquema 4, el procedimiento B muestra una síntesis de un compuesto de poliamina fosfonato de nucleósido acíclico utilizando un derivado de piridinimino como intermedio. En el procedimiento B, el compuesto 4-A, un ácido fosfonato de nucleósido, se hace reaccionar con 4-dimetilaminopiridina (DMAP) para formar el compuesto 4-C. Las condiciones para la reacción con DMAP incluyen la reacción con una base en un disolvente apropiado a temperaturas desde ambiente a calientes. Un ejemplo de una base adecuada es la trifetilfosfina. El compuesto 4-C reacciona luego con una poliamina para producir el compuesto 4-D. El grupo amino de la poliamina puede desplazar el resto piridinimino. Las condiciones para la reacción con poliamina incluyen la reacción en un disolvente apropiado a temperatura ambiente.

20

El esquema 5 muestra una síntesis representativa de los compuestos descritos en el presente documento.

25

Esquema 5



En el esquema 5, $-X-CH_2-$ es un representante de $-W-CH(R^4)-C(R^{5a})(CR^{5b})-$ o $-W-CH(R^4)-C(R^{5a})(CR^{5b})-C(R^{6a})(CR^{6b})-$ en las fórmulas del presente documento. En el esquema 5, Y es representativo de una porción del sustituyente en el grupo fosfonato de los compuestos del presente documento.

Con referencia al Esquema 5, el procedimiento C muestra la síntesis de un compuesto de poliamina fosfonato nucleósido acíclico y un compuesto de poliamina fosfonato bisnucleósido acíclico. En el procedimiento C, con el uso de un reactivo de acoplamiento, pueden formarse ambos compuestos. En el esquema 5, el compuesto 5-A reacciona con una poliamina en presencia de un reactivo de acoplamiento para formar los compuestos 5-B y 5-C. Los reactivos de acoplamiento adecuados incluyen benzotriazol-1-il-oxi-tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato (BOP), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), 1-hidroxibenzotriazol anhidro (HOBt), N-(3-dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida (EDC) y similares.

H. Isómeros, sales, solvatos, formas protegidas y profármacos

Un compuesto determinado puede existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoméricas, epiméricas, estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales o anoméricas particulares, incluyendo, pero sin limitación, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t, y r; formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas sin y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas alfa y beta; formas axiales y ecuatoriales; formas barco, silla, torsión, sobre, y media silla; y combinaciones de los mismos, colectivamente denominadas en lo sucesivo "isómeros" (o "formas isoméricas").

Cabe destacar que, excepto como se analiza a continuación para formas tautómeras, específicamente excluidas del término "isómeros", como se utiliza en el presente documento, son isómeros estructurales (o constitucionales) (es decir, isómeros que difieren en las conexiones entre átomos de simplemente por la posición de los átomos en el espacio). Por ejemplo, una referencia a un grupo metoxi, $-OCH_3$, no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo, $-CH_2OH$. De forma similar, una referencia al orto-clorofenilo no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, metaclorofenilo. Sin embargo, una referencia a una clase de estructuras bien puede incluir formas estructuralmente isoméricas que pertenecen a esa clase (por ejemplo, alquilo C_{1-7} incluye n-propilo e iso-propilo; butilo incluye n-, iso-, sec-, y *terc*-butilo; metoxifenilo incluye orto-, meta y parametoxifenilo).

La exclusión anterior no se refiere a formas tautoméricas, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautoméricos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enetiol, N-nitroso/hidroxiazio y nitro/aci-nitro.

Tenga en cuenta que se incluyen específicamente en el término «isómero» los compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo 1H , 2H (D) y 3H (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{12}C , ^{13}C y ^{14}C ; O puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ^{16}O y ^{18}O ; y similares.

A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular incluye todas las formas isoméricas, incluyendo mezclas racémicas y otras mezclas de los mismos. Los procedimientos para la preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y la separación (por ejemplo, cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de dichas formas isoméricas son conocidas en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los procedimientos enseñados en el presente documento de una manera conocida.

A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular también incluye formas iónicas,

sal, solvato (por ejemplo, hidrato), protegidas y profármacos de los mismos, por ejemplo, como se analiza a continuación.

5 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular una sal correspondiente del compuesto activo, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Se tratan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge *et al.*, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts," J. Pharm. Sci., Vol. 66, pp. 1 19.

10 Por ejemplo, si el compuesto es aniónico o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, -COOH puede ser -COO⁻), entonces puede formarse una sal con un catión adecuado. Ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, iones de metal alcalino, tales como Na⁺ y K⁺, cationes alcalinotérreos tales como Ca²⁺ y Mg²⁺, y otros cationes, tales como Al⁺³. Ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, ion de amonio (es decir, NH₄⁺) e iones de amonio sustituido (por ejemplo, NH₃R⁺, NH₂R₂⁺, NHR₃⁺, NR₄⁺). Ejemplos de algunos iones amonio sustituido adecuados son aquellos derivados de: etilamina, dietilamina, dicitlohxilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, 15 fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion amonio cuaternario común es N(CH₃)₄⁺.

20 Si el compuesto es catiónico o tiene un grupo funcional que pueda ser catiónico (por ejemplo, -NH₂ puede ser -NH₃⁺), entonces puede formarse una sal con un anión adecuado. Ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos inorgánicos siguientes: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso. Ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos orgánicos siguientes: acético, propiónico, succínico, glicólico, estearico, palmítico, láctico, málico, pamoico, tartárico, cítrico, glucónico, ascórbico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, 25 aspártico, benzoico, cinámico, pirúvico, salicílico, sulfanílico, 2-acetioxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isetiónico, valérico y glucónico. Los ejemplos de aniones poliméricos adecuados incluyen, pero sin limitación, los obtenidos a partir de los ácidos poliméricos siguientes: ácido tánico, carboximetilcelulosa.

30 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar un solvato correspondiente del compuesto activo. El término "solvato" se usa en el presente documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto activo, sal de compuesto activo) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato se puede definir oportunamente como un hidrato, por ejemplo, un mono-hidrato, un di-hidrato, un tri-hidrato, etc.

35 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular el compuesto activo en una forma protegida químicamente. La expresión "forma químicamente protegida" como se utiliza en el presente documento, pertenece a un compuesto en el que uno o más grupos funcionales reactivos están protegidos de reacciones químicas indeseables, es decir, tienen la forma de un grupo protegido o protector (también conocido como grupo enmascarado o de enmascaramiento). Mediante la protección de un grupo funcional reactivo, pueden realizarse reacciones que implican otros grupos funcionales reactivos no protegidos, sin afectar al grupo protegido; el grupo protector puede ser eliminado, 40 usualmente en una etapa posterior, sin afectar sustancialmente al resto de la molécula. Véase, por ejemplo, Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green and P. Wuts, Wiley, 1991) y Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green and P. Wuts; 3^a Edición; John Wiley and Sons, 1999).

45 Por ejemplo, un grupo hidroxilo puede estar protegido como un éter (-OR) o un éster (-OC(=O)R), por ejemplo, como: un éter t-butílico; un éter de bencilo, benzhidrido (difenilmetilo), o tritilo (trifenilmetilo); un éter de trimetilsililo o t-butildimetilsililo; o un éster de acetilo (-OC(=O)CH₃, -OAc).

50 Por ejemplo, un grupo aldehído o cetona puede estar protegido como acetal o cetal, respectivamente, en el que el grupo carbonilo (>C=O) se convierte en un diéter (>C(OR)₂), por reacción con, por ejemplo, un alcohol primario. El grupo aldehído o cetona se regenera fácilmente mediante hidrólisis utilizando un gran exceso de agua en presencia de ácido.

55 Por ejemplo, un grupo amina puede estar protegido, por ejemplo, como una amida (-NRCO-R) o un uretano (-NRCO-OR), por ejemplo, como: una metilamida (-NHCO-CH₃); una benciloxiamida (-NHCO-OCH₂C₆H₅, -NH-Cbz); como una t-butoxiamida (-NHCO-OC(CH₃)₃, -NH-Boc); una 2-bifenil-2-propoxiamida (-NHCO-OC(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅, -NH-Bpoc), como una 9-fluorenilmetoxiamida (-NH-Fmoc), como una 6-nitroveratriloxiamida (-NH-Nvoc), como una 2-trimetilsililetiloxiamida (-NH-Teoc), como una 2,2,2-tricloroetiloxiamida (-NH-Troc), como una aliloxiamida (-NH-Alloc), como una 2-(fenilsulfonil)etiloxiamida (-NH-Psec); o, en casos adecuados (por ejemplo, aminas cíclicas), como un radical nitróxido (> N-O).

60 Por ejemplo, un grupo ácido carboxílico puede estar protegido como un éster, por ejemplo, como: un éster alquílico C₁₋₇ (por ejemplo, un éster de metilo; un éster t-butílico); un éster de haloalquilo C₁₋₇ (por ejemplo, un éster de trihaloalquilo C₁₋₇); un éster de trialquil C₁₋₇-silil-alquilo C₁₋₇; o un éster de aril C₅₋₂₀-alquilo C₁₋₇ (por ejemplo, un éster de bencilo; un éster de nitrobencilo); o en forma de una amida, por ejemplo, en forma de una metilamida.

65 I. Composiciones farmacéuticas

En el presente documento se describen compuestos que pueden inhibir de manera específica y potente el alargamiento de los telómeros, y que, por lo tanto, pueden usarse para inhibir la proliferación de células positivas para telomerasa, tal como células tumorales. Se demostrado que una amplia variedad de células cancerosas son positivas para la telomerasa, incluyendo células de cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, próstata, sistema nervioso central (SNC), retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma).

Por consiguiente, los compuestos proporcionados en el presente documento son ampliamente útiles para tratar una amplia gama de neoplasias malignas. Más importante aún, los compuestos descritos en el presente documento pueden ser eficaces para proporcionar tratamientos que discriminan entre células malignas y normales en un alto grado, evitando muchos de los efectos secundarios nocivos presentes en la mayoría de los regímenes quimioterapéuticos actuales que se basan en agentes que matan las células en división indiscriminadamente. En el presente documento también se describe un procedimiento para tratar el cáncer en un paciente, que comprende administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto como se describe en el presente documento. Los compuestos descritos en el presente documento pueden emplearse junto con otros enfoques de tratamiento del cáncer, incluyendo extirpación quirúrgica de tumores primarios, agentes quimioterapéuticos y radioterapia.

Para aplicación terapéutica, un compuesto como se describe en el presente documento se formula en una cantidad terapéuticamente eficaz con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Uno o más de los compuestos descritos en el presente documento pueden incluirse en cualquier formulación dada. El vehículo farmacéutico puede ser sólido o líquido. Los vehículos líquidos se pueden utilizar en la preparación de soluciones, emulsiones, suspensiones y composiciones presurizadas. Los compuestos se disuelven o suspenden o diluyen en un excipiente sólido, semi-sólido o líquido farmacéuticamente aceptable, que actúa como vehículo, vehículo o medio para el principio activo. Los ejemplos adecuados de vehículos líquidos para la administración parenteral de los compuestos incluyen agua (que puede contener aditivos, por ejemplo, derivados de celulosa, preferentemente, solución de carboximetilcelulosa de sodio), solución salina tamponada con fosfato (PBS), alcoholes (incluidos los alcoholes monohídricos y los alcoholes polihídricos, por ejemplo, glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de cacahuete). El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados, incluyendo, pero sin limitación, los siguientes: solubilizantes, agentes de suspensión, emulsionantes, tampones, agentes espesantes, colores, reguladores de viscosidad, conservantes, estabilizadores y reguladores de la osmolaridad.

Para la administración parenteral de los compuestos, el vehículo también puede ser un éster oleoso, tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los vehículos estériles son útiles en composiciones en forma líquida estéril para administración parenteral.

Las composiciones farmacéuticas líquidas estériles, soluciones o suspensiones pueden usarse mediante, por ejemplo, inyección intraperitoneal, inyección subcutánea, por vía intravenosa o por vía tópica. Los compuestos también pueden administrarse por vía intravascular o por medio de una endoprótesis vascular.

El vehículo líquido para composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propelente farmacéuticamente aceptable. Dichas composiciones presurizadas también pueden estar encapsuladas en lípidos para su administración por inhalación. Para la administración por inhalación o insuflación intranasal o intrabronquial, los compuestos pueden formularse en una solución acuosa o parcialmente acuosa, que luego pueden usarse en forma de un aerosol.

Las composiciones descritas en el presente documento también pueden estar en forma de comprimidos, píldoras, polvos, pastillas, sobrecitos, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes, aerosoles (en forma de un sólido o en un medio líquido), pomadas que contienen, por ejemplo, hasta el 10 % en peso del compuesto activo, cápsulas de gelatina blanda y dura, supositorios, soluciones inyectables estériles y polvos envasados estériles. Los compuestos pueden administrarse tópicamente como una solución, crema o loción, mediante formulación con vehículos farmacéuticamente aceptables que contienen el compuesto activo. Algunos ejemplos de excipientes o vehículos adecuados incluyen lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma de acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato cálcico, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua estéril, jarabe y metil celulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes de lubricación tales como talco, estearato de magnesio, y aceite mineral; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; agentes conservantes, tales como metil y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes saporíferos. Las composiciones descritas en el presente documento pueden formularse para proporcionar una liberación rápida, sostenida o retardada del principio activo después de la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

En la preparación de una formulación, puede ser necesario moler el compuesto activo liofilizado para proporcionar el tamaño de partículas apropiado, antes de la combinación con los demás ingredientes. Si el compuesto activo es sustancialmente insoluble, se puede moler normalmente hasta un tamaño de partícula de malla de menos de 200. Si el compuesto activo es sustancialmente soluble en agua, el tamaño de partícula se ajusta normalmente por molienda

para proporcionar una distribución sustancialmente uniforme en la formulación, por ejemplo, malla de aproximadamente 40.

5 Estas composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse por diversas rutas, incluyendo oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular e intranasal. Estos compuestos son efectivos como composiciones tanto inyectables como orales. Dichas composiciones se preparan de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse por vía oral en cualquier dosis aceptable, incluyendo, pero sin limitación, formulaciones en capsulas, comprimidos, polvos o gránulos, y como 10 suspensiones o soluciones en agua o medios no acuosos. Las composiciones farmacéuticas y/o formulaciones que comprenden los compuestos pueden incluir vehículos, lubricantes, diluyentes, espesantes, agentes aromatizantes, emulsionantes, auxiliares de dispersión o aglutinantes. En el caso de los comprimidos para uso oral, los vehículos comúnmente utilizados incluyen lactosa y almidón de maíz. Los agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, también se añaden normalmente. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz deshidratado. Cuando se necesitan suspensiones acuosas para uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también pueden añadirse determinados agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

20 Cuando se emplean como composiciones orales, los compuestos descritos en el presente documento (tales como cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros descritos en el presente documento) pueden protegerse de la digestión ácida en el estómago mediante un protector farmacéuticamente aceptable. Por ejemplo, el comprimido o píldora puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación exterior, estando esta última en forma de una envoltura sobre la primera. Los dos componentes pueden separarse por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permitir que el componente interior pase intacto 25 al duodeno o se retrase en su liberación. Pueden usarse diversos materiales para tales capas entéricas o recubrimientos, incluyendo dichos materiales una serie de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos poliméricos con dichos materiales tales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

30 Las composiciones para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en disolventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos, y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados como se ha descrito anteriormente. Las composiciones pueden administrarse por vía oral o nasal por efecto local o sistémico. Las composiciones en disolventes farmacéuticamente aceptables pueden nebulizarse mediante el uso de gases inertes. Las soluciones nebulizadas se pueden inhalar directamente desde el dispositivo de nebulización o el dispositivo de nebulización se puede unir a una máscara facial, o una máquina de respiración de presión positiva en tienda o intermitente. Las 35 composiciones en solución, suspensión, o composiciones en polvo también se pueden administrar por vía oral o nasal, a partir de dispositivos que administran la formulación de una manera apropiada.

40 Aunque los compuestos descritos en el presente documento tienen características superiores para la penetración celular y tisular, pueden formularse para proporcionar un beneficio aún mayor, por ejemplo en vehículos liposómicos. Se describe el uso de liposomas para facilitar la captación celular, por ejemplo, en la patente de Estados Unidos n.º 4.897.355 y la patente de Estados Unidos n.º 4.394.448. Numerosas publicaciones describen la formulación y preparación de liposomas. Los compuestos también pueden formularse mezclando con mejoradores de la penetración adicionales, tales como formas no conjugadas de los restos lipídicos descritos anteriormente, incluidos ácidos grasos 45 y sus derivados. Los ejemplos incluyen ácido oleico, ácido láurico, ácido cáprico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido linoleico, ácido linolénico, dicaprato, tricaprato, recinleato, monooleína (también conocida como 1-monooleoil-rac-glicerol), dilaurina, ácido caprílico, ácido aricidónico, 1-monocaprato de glicerilo, 1-dodecilazacicloheptan-2-ona, acilcarnitinas, acilcolinas, mono- y di-glicéridos y sales fisiológicamente aceptables de los mismos (es decir, oleato, laurato, caprato, miristato, palmitato, estearato, linoleato, etc.).

50 Se pueden usar formulaciones complejas que comprenden uno o más agentes mejoradoras de la penetración. Por ejemplo, se pueden usar sales biliares en combinación con ácidos grasos para hacer formulaciones complejas. Las combinaciones de ejemplo incluyen ácido quenodesoxicólico (CDCA), generalmente utilizado en concentraciones de aproximadamente 0,5 a 2 %, combinado con caprato de sodio o laurato de sodio, Generalmente se utiliza a 55 concentraciones de aproximadamente 0,5 a 5 %.

60 Las composiciones farmacéuticas y/o formulaciones que comprenden los compuestos descritos en el presente documento también pueden incluir agentes quelantes, tensioactivos y no tensioactivos. Los agentes quelantes incluyen, pero sin limitación, etilendiaminotetraacetato disódico (EDTA), ácido cítrico, salicilatos (por ejemplo, salicilato sódico, 5-metoxisalicilato y homovanilato), derivados N-acilo del colágeno, derivados de laureth-9 y N-aminoacilo de las beta-dicetonas (enaminas). Los tensioactivos incluyen, por ejemplo, lauril sulfato de sodio, éter de polioxietileno-9-laurilo y éter de polioxietileno-20-cetilo; y emulsiones perfluoroquímicas, tal como FC-43. Los no tensioactivos incluyen, por ejemplo, ureas cíclicas insaturadas, derivados de 1-alquil- y 1-alquenilazacicloalcano, y agentes antiinflamatorios no esteroideos, tales como diclofenaco sódico, indometacina y fenilbutazona.

65 En el presente documento también se describe un procedimiento para formular una composición farmacéutica,

comprendiendo el procedimiento proporcionar un compuesto como se describe en el presente documento y combinar el compuesto con un excipiente farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, el compuesto se proporciona a pureza farmacéutica, como se define a continuación. El procedimiento puede comprender además añadir al compuesto, ya sea antes o después de la adición del excipiente, un agente mejorador de la penetración.

5 La composición farmacéutica normalmente cumplirá los estándares de pureza farmacéutica. Para su uso como principio activo en una preparación farmacéutica, un compuesto como se describe en el presente documento generalmente se purifica a partir de otros componentes reactivos o potencialmente inmunogénicos presentes en la mezcla en la que se preparan. Normalmente, para lograr la pureza farmacéutica cuando un compuesto a base de ácido nucleico es el principio activo, el principio activo se proporciona en al menos aproximadamente un 50 % de homogeneidad, y más preferentemente, un 60 %, 70 %, 80 % o 90 % de homogeneidad, según lo determinado por el ensayo funcional, cromatografía o electroforesis en gel. El principio activo se combina luego en un medicamento de acuerdo con los procedimientos generalmente aceptados para la preparación de preparaciones farmacéuticas. Por lo tanto, como se describe en el presente documento, proporcionar los compuestos con pureza farmacéutica requiere que el compuesto se proporcione en al menos aproximadamente un 50 % de homogeneidad y, más preferentemente, al menos un 80 % o 90 % de homogeneidad.

20 La composición farmacéutica también se dividirá normalmente en alícuotas y se empaquetará en unidades de monodosis o multidosis. Los requisitos de dosificación para el tratamiento con el compuesto varían con las composiciones particulares empleadas, la vía de administración, la gravedad de los síntomas presentados, la forma del compuesto y el sujeto particular a tratar.

25 Las composiciones pueden formularse en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 100 mg o más, tal como cualquiera de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg, de 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 60 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 70 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 80 mg o de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 90 mg, inclusive, incluyendo cualquier intervalo entre estos valores, del principio activo. La expresión "formas farmacéuticas unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para individuos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente o vehículo farmacéutico adecuado.

35 Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento pueden administrarse a un sujeto en una formulación y en una cantidad eficaz para lograr un resultado clínicamente deseable. Para el tratamiento del cáncer, los resultados deseables incluyen reducción de la masa tumoral (según lo determinado por palpación o imagen; por ejemplo, por radiografía, exploración con radionucleótidos, TAC o RMN), reducción en la tasa de crecimiento del tumor, reducción en la tasa de formación de metástasis (según lo determinado, por ejemplo, mediante análisis histoquímico de muestras de biopsia), reducción en los marcadores bioquímicos (incluidos los marcadores generales como ESR y marcadores específicos de tumores, tal como PSA en suero) y mejora en la calidad de vida (según lo determinado mediante evaluación clínica, por ejemplo, puntuación de Karnofsky), aumento del tiempo de progresión, supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global.

45 La cantidad de compuesto por dosis y el número de dosis requeridas para lograr tales efectos variarán dependiendo de muchos factores, incluida la indicación de la enfermedad, las características del paciente a tratar y modo de administración. Normalmente, la formulación y la vía de administración proporcionarán una concentración local en el sitio de la enfermedad de entre 1 μ M y 1 nM del compuesto. En general, los compuestos se administran a una concentración que proporciona resultados efectivos sin causar efectos secundarios nocivos o perjudiciales. Dicha concentración se puede lograr mediante la administración de una sola monodosis o mediante la administración de la dosis dividida en subunidades convenientes a intervalos adecuados durante todo el día. Los compuestos descritos en el presente documento son eficaces en un amplio intervalo de dosificación y generalmente se administran en una cantidad terapéuticamente eficaz. Se entenderá, sin embargo, que la cantidad de los compuestos administrados realmente será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y similares.

IV. Procedimientos

60 Cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento del telómero (como en las composiciones farmacéuticas) proporcionados en el presente documento son útiles para modular estados de enfermedad asociados con la regulación alterada de la longitud del telómero. En algunas realizaciones, los estados de enfermedad asociados con la regulación alterada de la longitud del telómero es un trastorno de proliferación celular que se asocia con un aumento de la expresión o la actividad de la telomerasa o el crecimiento celular. En otras realizaciones, el trastorno de proliferación celular es cáncer.

A. Procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros y ensayos de inhibición del alargamiento de los telómeros

5 Los conjugados descritos en el presente documento pueden usarse para inhibir o reducir el alargamiento y/o la proliferación de los telómeros de células que tienen actividad telomerasa. En estos contextos, la inhibición o reducción de la extensión de los telómeros o la proliferación celular se refieren a un nivel inferior de la longitud o actividad medida en relación con un experimento de control en el que la enzima o las células no se tratan con el conjugado. En realizaciones particulares, la inhibición o reducción de la longitud o actividad medida es al menos una reducción o inhibición del 10 %. Un experto en la materia apreciará que la reducción o inhibición de la longitud o actividad medida de al menos un 20 %, un 50 %, un 75 %, un 90 % o el 100 % pueden ser preferentes para aplicaciones particulares. La capacidad de los compuestos descritos en el presente documento para inhibir el alargamiento del telómero puede determinarse en un ensayo sin células (denominado ensayo bioquímico) y en células.

15 Por consiguiente, en el presente documento se proporcionan procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros en una célula. En una realización, el procedimiento comprende poner en contacto la célula con cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros (incluyendo cualquiera de las composiciones farmacéuticas) descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la célula es una célula cancerosa.

20 En el presente documento también se proporcionan procedimientos para acortar la longitud de los telómeros en una célula. En una realización, el procedimiento comprende poner en contacto la célula con cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros (incluyendo cualquiera de las composiciones farmacéuticas) descritas en el presente documento. En algunas realizaciones, la célula es una célula cancerosa.

25 Los procedimientos para medir la inhibición del alargamiento de los telómeros y el uso de tales procedimientos para determinar la actividad inhibitoria de los compuestos se describen en el presente documento. Por ejemplo, el ensayo TRAP es un procedimiento de ensayo estándar para medir la actividad de la telomerasa en un sistema de extracto celular y se ha utilizado ampliamente en la búsqueda de compuestos inhibidores de la telomerasa (Kim et al., Science 266:2011, 1997; Weinrich et al., Nature Genetics 17:498, 1997). El ensayo TRAP mide la cantidad de nucleótidos radiactivos incorporados en los productos de alargamiento (polinucleótidos) formados por la adición de nucleótidos a un sustrato de telomerasa o cebador. La radioactividad incorporada se puede medir como la intensidad de una banda en una pantalla de detección (por ejemplo, una pantalla de Phosphorimager) expuesta a un gel en el que se separan los productos radiactivos. El ensayo TRAP también se describe con detalle en las patentes de Estados Unidos n.º 5.629.154, 5.837.453 y 5.863.726, y su uso para probar la actividad de los compuestos inhibidores de la telomerasa se describe en varias publicaciones, incluyendo el documento WO 01/18015. Además, los siguientes kits están disponibles comercialmente con fines de investigación para medir la actividad de la telomerasa: kit de detección de telomerasa TRAPEze® XK (Cat. s7707; Intergen Co., Purchase NY); y TeloTAGGG Telomerase PCR ELISA plus (Cat. 2.013.89; Roche Diagnostics, Indianapolis IN). El ensayo TRAP se puede usar para medir la inhibición del alargamiento de los telómeros en lugar de la inhibición de la actividad de la telomerasa. Si los presentes compuestos se incorporan en los productos de alargamiento formados por la adición de nucleótidos a un sustrato de telomerasa o cebador, detendrán o "taparán" el producto de alargamiento para que no se puedan añadir nucleótidos adicionales al producto de alargamiento. De esta manera, el producto de alargamiento no se extiende más allá del compuesto y los productos de alargamiento son solo bandas muy cortas en un gel, en lugar de una escalera de diferentes longitudes de productos de alargamiento.

45 Otro protocolo para medir la capacidad de los compuestos para inhibir el alargamiento del telómero en un ensayo bioquímico es el ensayo directo de telomerasa sin células (no basado en PCR), denominado "Ensayo de Flashplate", y descrito en Asai et al., Cancer Research, 63:3931-3939 (2003).

50 La capacidad de los compuestos descritos en el presente documento para inhibir el alargamiento del telómero en las células se puede determinar incubando el compuesto con células que expresan telomerasa durante un período de tiempo definido y luego determinando la longitud del telómero en las células. Las líneas celulares tumorales que expresan telomerasa que son adecuadas para tales ensayos incluyen células epiteliales de mama humanas HME50-5E (proporcionadas por el Dr. Jerry Shay, University of Texas Southwestern Medical Center), las líneas celulares de tumores de ovario OVCAR-5 (MIISB, Milán) y SK-OV-3 (Colección Americana de Cultivos Tipo, ATCC), células Caki-1 de carcinoma de riñón humano (colección japonesa de Research Bioresources, JCRB), células 1549 de carcinoma de pulmón humano (ATCC), células A431 de carcinoma epidermoide humano (JCRB) y células DU145 de cáncer de próstata humano (ATCC).

B. Ensayos de proliferación celular

60 Una aplicación terapéutica clave de los compuestos descritos en el presente documento es la inhibición del crecimiento de células que expresan telomerasa, particularmente células tumorales. Los compuestos descritos en el presente documento que inhiben el alargamiento de los telómeros en las células inducirán crisis en líneas celulares positivas para la telomerasa, lo que lleva al cese del crecimiento celular y a la muerte. No obstante, es importante, en células humanas normales que no expresan telomerasa, tales como las células BJ de origen fibroblástico, el tratamiento con los compuestos descritos en el presente documento no induce ninguna crisis ni otra toxicidad. La capacidad de los

compuestos para inhibir específicamente el crecimiento de células tumorales puede analizarse usando líneas de células tumorales *in vitro*, o en modelos animales de xenoinjerto *in vivo*.

5 Un protocolo preferido para tales ensayos de curva de crecimiento es el ensayo de viabilidad celular a corto plazo descrito en Asai et al. (2003). Al seleccionar un compuesto descrito en el presente documento para aplicaciones terapéuticas, se prefiere que el compuesto no produzca efectos citotóxicos significativos a concentraciones por debajo de aproximadamente 10 μ M en células normales que no expresan telomerasa.

10 La capacidad de los compuestos descritos en el presente documento para inhibir el crecimiento de células tumorales *in vivo* puede confirmarse utilizando modelos de xenoinjerto establecidos de tumores humanos, en el que el compuesto de prueba se administra directamente al sitio del tumor o sistémicamente, y el crecimiento del tumor es seguido por una medición física. Se espera que los animales tratados con los compuestos descritos en el presente documento tengan masas tumorales que, en promedio, pueden aumentar durante un período posterior a la dosificación inicial, pero comenzarán a reducirse en masa con el tratamiento continuo. Por el contrario, se espera que los ratones de control sin tratar tengan masas tumorales que continúen aumentando. Un ejemplo preferido de un ensayo de xenoinjerto tumoral *in vivo* adecuado se describe en Asai et al. (2003). Otros ejemplos se describen en Scorski et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94: 3966-3971 (1997) y Damm et al., EMBO J., 20:6958-6968 (2001).

20 C. Trastornos de proliferación celular

Un "trastorno proliferativo" es cualquier trastorno celular en el cual las células proliferan más rápidamente que el crecimiento normal del tejido. Por lo tanto, una "célula en proliferación" es una célula que prolifera más rápidamente que las células normales. El trastorno proliferativo incluye, pero sin limitación, neoplasias. Una "neoplasia" es un crecimiento anormal de tejido, que generalmente forma una masa distinta que crece por proliferación celular más rápidamente que el crecimiento normal del tejido. Las neoplasias muestran una falta parcial o total de organización estructural y coordinación funcional con el tejido normal. Estos pueden clasificarse ampliamente en tres tipos principales. Las neoplasias malignas que surgen de estructuras epiteliales se llaman carcinomas, las neoplasias malignas que se originan a partir de tejidos conjuntivos, como músculo, cartílago, grasa o hueso, se denominan sarcomas y tumores malignos que afectan a las estructuras hematopoyéticas (estructuras relacionadas con la formación de células sanguíneas), incluidos los componentes del sistema inmunitario, se llaman leucemias y linfomas. Un tumor es el crecimiento neoplásico de la enfermedad de cáncer. Tal como se utiliza en el presente documento, una neoplasia, también conocida como un "tumor", pretende abarcar tanto las neoplasias hematopoyéticas como las neoplasias sólidas. Otros trastornos proliferativos incluyen, pero no se limitan al mismo, neurofibromatosis.

35 Los útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros (como en las composiciones farmacéuticas) proporcionados en el presente documento son útiles para modular estados de enfermedad asociados con la regulación alterada de la longitud de los telómeros en las células. La telomerasa interviene en múltiples funciones biológicas y fisiológicas, incluyendo, por ejemplo, proliferación celular y supervivencia celular. En algunas realizaciones, el trastorno de proliferación celular está asociado con un aumento de la expresión o actividad de la telomerasa o el crecimiento celular, o ambos. En algunas realizaciones, la proliferación celular es cáncer.

Los procedimientos descritos en el presente documento también son útiles para tratar tumores sólidos (tales como tumores sólidos avanzados). En algunas realizaciones, Se proporciona un procedimiento para tratar el cáncer de pulmón, incluyendo, por ejemplo, cáncer de pulmón no microcítico (CPNM, tal como CPNM avanzado), cáncer de pulmón microcítico (CPM, tal como CPM avanzado) y neoplasia tumoral sólida avanzada en el pulmón. En algunas realizaciones, Se proporciona un procedimiento para tratar cualquiera de cáncer de ovarios, cáncer de cabeza y cuello, neoplasias malignas gástricas, melanoma (incluyendo melanoma metastásico y melanoma maligno), cáncer de ovarios, cáncer colorrectal y cáncer de páncreas.

50 En algunas realizaciones, el procedimiento es útil para tratar uno o más de los siguientes: linfoma cutáneo de linfocitos T (CTCL), leucemia, linfoma folicular, linfoma Hodgkin y leucemia mieloide aguda.

En algunas realizaciones, la enfermedad es un cáncer de cualquiera de los siguientes: carcinoma de células basales, meduloblastoma, glioblastoma, mieloma múltiple, leucemia mielógena crónica (LMC), leucemia mielógena aguda, 55 cáncer de páncreas, cáncer de pulmón (cáncer de pulmón microcítico y cáncer de pulmón no microcítico), cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer biliar, cáncer de próstata, cáncer de hígado, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer gástrico y cáncer de ovarios y vejiga. En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en adenocarcinoma ductal del páncreas, adenocarcinoma de colon y cistoadenocarcinoma de ovarios. En algunas realizaciones, el cáncer es adenocarcinoma ductal de páncreas. En algunas realizaciones, el 60 cáncer es un tumor que está poco perfundido y/o poco vascularizado.

En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de páncreas, incluyendo, por ejemplo, adenocarcinoma pancreático, carcinoma adenoescamoso pancreático, carcinoma pancreático de células escamosas y carcinoma pancreático de células gigantes. En algunas realizaciones, el cáncer de páncreas es cáncer de páncreas exocrino. En algunas 65 realizaciones, el cáncer de páncreas es cáncer de páncreas endocrino (tal como, carcinoma de células de los islotes). En algunas realizaciones, el cáncer de páncreas es un cáncer de páncreas metastásico avanzado.

Otros ejemplos de cánceres que pueden tratarse mediante los procedimientos descritos en el presente documento incluyen, pero sin limitación, carcinoma adenocortical, metaplasia mieloide agnogénica, cánceres relacionados con el SIDA (por ejemplo, linfoma relacionado con el SIDA), cáncer de ano, cáncer del apéndice, astrocitoma (por ejemplo, cerebeloso y cerebral), carcinoma de células basales, cáncer de las vías biliares (por ejemplo, extrahepático), cáncer de vejiga, cáncer de hueso, (osteosarcoma e histiocitoma fibroso maligno), tumor cerebral (por ejemplo, glioma, glioma del tronco encefálico, astrocitoma cerebeloso o cerebral (por ejemplo, astrocitoma pilocítico, astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico (maligno), glioma maligno, ependimoma, oligodenglioma, meningioma, craneofaringioma, hemangioblastomas, meduloblastoma, tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, glioma de la vía óptica e hipotalámico, y glioblastoma), cáncer de mama, adenomas bronquiales/carcinoides, tumor carcinoide (por ejemplo, tumor carcinoide gastrointestinal), carcinoma de origen primario desconocido, linfoma del sistema nervioso central, cáncer de cuello uterino, cáncer de colon, cáncer colorrectal, trastornos crónicos mieloproliferativos, cáncer de endometrio (por ejemplo, cáncer uterino), ependimoma, cáncer de esófago, tumores de la familia de Ewing, cáncer de ojo (por ejemplo, melanoma intraocular y retinoblastoma), cáncer de vesícula biliar, cáncer gástrico (de estómago), tumor carcinoide gastrointestinal, tumor del estroma gastrointestinal (TEGI), tumor de células germinales, (por ejemplo, extracraneal, extragonadal, ovárico), tumor trofoblástico gestacional, cáncer de cabeza y cuello, cáncer hepatocelular (hígado) (por ejemplo, carcinoma hepático y heptoma)), cáncer hipofaríngeo, carcinoma de células de los islotes (páncreas endocrino), cáncer de laringe, cáncer de laringe, leucemia, cáncer de labios y de la cavidad oral, cáncer oral, cáncer de hígado, cáncer de pulmón (por ejemplo, cáncer de pulmón microcítico, cáncer de pulmón no microcítico, adenocarcinoma de pulmón y carcinoma escamoso de pulmón), neoplasia linfoide (por ejemplo, linfoma), meduloblastoma, cáncer de ovarios, mesotelioma, cáncer de cuello escamoso metastásico, cáncer de boca, síndromes múltiples de neoplasia endocrina, síndromes mielodisplásicos, enfermedades mielodisplásicas/mieloproliferativas, cáncer de la cavidad nasal y del seno paranasal, cáncer nasofaríngeo, neuroblastoma, cáncer neuroendocrino, cáncer orofaríngeo, cáncer de ovario (por ejemplo, cáncer epitelial de ovarios, tumor de células germinales ováricas, tumor ovárico de bajo potencial maligno), cáncer de páncreas, cáncer paratiroideo, cáncer de pene, cáncer del peritoneo, cáncer faríngeo, feocromocitoma, pineoblastoma y tumores neuroectodérmicos primitivos supratentoriales, tumor de la pituitaria, blastoma pleuropulmonar, linfoma, linfoma primario del sistema nervioso central (microglioma), linfangiomatosis pulmonar, cáncer rectal, cáncer renal, cáncer de pelvis renal y de uréter (cáncer de células de transición), rhabdomyosarcoma, cáncer de las glándulas salivales, cáncer de piel (por ejemplo, no melanoma (por ejemplo, carcinoma de células escamosas), melanoma y carcinoma de células de Merkel), cáncer del intestino delgado, cáncer de células escamosas, cáncer de testículos, cáncer de garganta, timoma y carcinoma tímico, cáncer de tiroides, esclerosis tuberosa, cáncer de la uretra, cáncer de vagina, cáncer de vulva, tumor de Wilms y trastorno linfoproliferativo postrasplante (PTLD), proliferación vascular anormal asociada a las fakomatosis, edema (tal como el asociado con tumores cerebrales) y el síndrome de Meigs.

En algunas realizaciones, el cáncer es un tumor sólido (tal como un tumor sólido avanzado). El tumor sólido incluye, pero sin limitación, sarcomas y carcinomas como el fibrosarcoma, mixosarcoma, liposarcoma, condrosarcoma, sarcoma osteogénico, cordoma, angiosarcoma, endoteliosarcoma, linfangiosarcoma, linfangioendoteliosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma de tejidos blandos, sacronomasinovioma uterino, mesotelioma, tumor de Ewing, leiomyosarcoma, rhabdomyosarcoma, carcinoma de colon, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de ovarios, cáncer de próstata, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basales, adenocarcinoma, carcinoma de las glándulas sudoríparas, carcinoma de las glándulas sebáceas, carcinoma papilar, adenocarcinomas papilares, cistadenocarcinoma, carcinoma medular, carcinoma broncogénico, carcinoma de células renales (incluido, por ejemplo, adenocarcinoma, carcinoma de células renales de células claras, carcinoma de células renales papilares, carcinoma de células renales cromóforo, carcinoma de células renales del túbulo colector, carcinoma de células renales granular, carcinoma de células renales granular mixto, angiomiolipomas renales o carcinoma de células renales del huso), hepatoma, carcinoma del conducto biliar, coriocarcinoma, seminoma, carcinoma embrionario, tumor de Wilm, cáncer de cuello uterino, tumor testicular, carcinoma de pulmón, carcinoma de pulmón microcítico, carcinoma de vejiga, carcinoma epitelial, glioma, astrocitoma, meduloblastoma, craneofaringioma, ependimoma, pinealoma, hemangioblastoma, neuroma acústico, oligodendroglioma, menangioma, melanoma, neuroblastoma y retinoblastoma.

En algunas realizaciones, la neoplasia linfoide (por ejemplo, el linfoma) es una neoplasia de células B. Los ejemplos de neoplasias de células B incluyen, pero sin limitación, neoplasias de células B precursoras (por ejemplo, linfoma/leucemia linfoblástica de células B precursoras) y neoplasias de células B periféricas (por ejemplo, leucemia linfocítica crónica de células B/leucemia prolinfocítica/linfoma linfocítico pequeño (linfocítico pequeño (LP) LNH), linfoma linfoplasmocitoide/inmucitoma, linfoma de células del manto, linfoma del centro del folículo, linfoma folicular (por ejemplo, grados citológicos: I (células pequeñas), II (mixto de células pequeñas y grandes), III (células grandes) y/o subtipo: de tipo difuso y predominantemente de células pequeñas), linfoma no Hodgkin (LNH) de bajo grado/folicular, LNH de grado intermedio/folicular, linfoma de células B de la zona marginal (por ejemplo, extranodal (por ejemplo, células B de tipo MALT- +/- monocitoide) y/o nodal (por ejemplo, células B +/- monocitoides)), linfoma esplénico de la zona marginal (por ejemplo, linfocitos vellosos +/-), leucemia de células pilosas, plasmacitoma/mieloma de células plasmáticas (por ejemplo, mieloma y mieloma múltiple), linfoma difuso de células B grandes (por ejemplo, linfoma mediastínico primario (tímico) de células B), LNH difuso de grado intermedio, linfoma de Burkitt, linfoma de células B de alto grado, similar a Burkitt, LNH inmunoblástico de alto grado, LNH linfoblástico de alto grado, LNH de alto grado de células pequeñas no escindidas, LNH enfermedad voluminosa,, linfoma relacionado con el SIDA y macroglobulinemia de Waldenstrom).

En algunas realizaciones, la neoplasia linfoide (por ejemplo, linfoma) es una neoplasia de células T y/o supuestas células NK. Los ejemplos de neoplasias de células T y/o supuestas células NK incluyen, pero sin limitación, neoplasia de células T precursoras (leucemia/linfoma linfoblástico de células T precursoras) y neoplasias de células T y NK periféricas (por ejemplo, leucemia linfocítica crónica de células T/ leucemia prolinfocítica y leucemia linfocítica granular grande (LGL) (por ejemplo, de tipo células T y/o de tipo células N), linfoma cutáneo de células T (por ejemplo, micosis fungoide/síndrome de Sezary), linfomas primarios de células T no especificados (por ejemplo, categorías citológicas (por ejemplo, células de tamaño mediano, células mixtas medianas y grandes), células grandes, células linfoepiteloideas, linfoma de células T $\gamma\delta$ de subtipo hepatoesplémico y linfoma de células T paniculítico subcutáneo), linfoma angioinmunoblástico de células T (AILD), linfoma angiocéntrico, linfoma intestinal de células T (por ejemplo, +/- enteropatía asociada), leucemia/linfoma de células T en adultos (LTA), linfoma anaplásico macrocítico (LAMC) (por ejemplo, de tipos CD30+, de células T y nulas), linfoma anaplásico macrocítico y linfoma de Hodgkin).

En algunas realizaciones, la neoplasia linfoide (por ejemplo, el linfoma) es la enfermedad de Hodgkin. Por ejemplo, la enfermedad de Hodgkin puede ser de predominancia linfocítica, esclerosis nodular, celularidad mixta, agotamiento de linfocitos, y/o ricos en linfocitos.

En algunas realizaciones, el cáncer es leucemia. En algunas realizaciones, la leucemia es leucemia crónica. Los ejemplos de leucemia crónica incluyen, pero sin limitación, leucemia mielocítica crónica I (granulocítica), leucemia mielógena crónica y linfocítica crónica (LLC). En algunas realizaciones, la leucemia es leucemia aguda. Los ejemplos de leucemia aguda incluyen, pero sin limitación, leucemia linfoblástica aguda (LLA), leucemia mioide aguda, leucemia linfocítica aguda y leucemia mielocítica aguda (por ejemplo, mieloblástica, promielocítica, mielomonocítica, monocítica y eritroleucemia).

En algunas realizaciones, el cáncer es tumor líquido o plasmacitoma. El plasmocitoma incluye, pero sin limitación, mieloma. El mieloma incluye, pero sin limitación, un plasmocitoma extramedular, un mieloma solitario y mieloma múltiple. En algunas realizaciones, el plasmacitoma es mieloma múltiple.

En algunas realizaciones, el cáncer es mieloma múltiple. Los ejemplos de mieloma múltiple incluyen, pero sin limitación, mieloma múltiple IgG, mieloma múltiple IgA, mieloma múltiple IgD, mieloma múltiple IgE y mieloma múltiple no secretor. En algunas realizaciones, el mieloma múltiple es mieloma múltiple IgG. En algunas realizaciones, el mieloma múltiple es mieloma múltiple IgA. En algunas realizaciones, el mieloma múltiple es un mieloma múltiple ardiente o indolente. En algunas realizaciones, el mieloma múltiple es mieloma múltiple progresivo. En algunas realizaciones, el mieloma múltiple puede ser resistente a un medicamento, tales como, pero sin limitación, bortezomib, dexametasona (Dex-), doxorubicina (Dox-), y melfalán (LR).

D. Procedimientos para el tratamiento de trastornos proliferativos celulares

En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir los síntomas o afecciones (discapacidades, deterioros) asociadas con un trastorno de proliferación celular como se describe con detalle a continuación. Como tal, no se requiere que todos los efectos de la afección se prevengan o reviertan por completo, aunque los efectos de los procedimientos desvelados actualmente probablemente se extiendan a un beneficio terapéutico significativo para el paciente. Como tal, un beneficio terapéutico no es necesariamente una prevención o cura completa para una afección en particular que resulta de un trastorno de proliferación celular, sino que, más bien, puede abarcar un resultado que incluye reducir o prevenir los síntomas que resultan de un trastorno de proliferación celular, reducir o prevenir la aparición de tales síntomas (bien cuantitativa o cualitativamente), reducir la gravedad de tales síntomas o efectos fisiológicos de los mismos, y/o mejorar la recuperación del individuo después de experimentar los síntomas de un trastorno de proliferación celular.

Específicamente, una composición descrita en el presente documento (tal como cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros descrito en el presente documento), cuando se administra a un individuo, puede tratar o prevenir uno o más de los síntomas o afecciones asociadas con un trastorno de proliferación celular y/o reducir o aliviar los síntomas o afecciones asociadas con este trastorno. Como tal, proteger a un individuo de los efectos o síntomas que resultan de un trastorno de proliferación celular incluye prevenir o reducir la aparición y/o la gravedad de los efectos del trastorno y tratar a un paciente en el que los efectos del trastorno ya están ocurriendo o comienzan a ocurrir. Un experto en la técnica puede evaluar fácilmente un efecto beneficioso y/o un médico capacitado que esté tratando al paciente. Preferentemente, existe una diferencia positiva o beneficiosa en la gravedad o la aparición de al menos una puntuación clínica o biológica, valor, o medida utilizada para evaluar a tales pacientes en aquellos que han sido tratados con los procedimientos descritos en el presente documento en comparación con aquellos que no lo han hecho.

Los procedimientos se pueden poner en práctica en un entorno adyuvante. "Entorno adyuvante" se refiere a un entorno clínico en el que un individuo ha tenido antecedentes de una enfermedad proliferativa, particularmente cáncer, y en general (pero no necesariamente) responderían a la terapia, que incluye, pero sin limitación, cirugía (tal como resección quirúrgica), radioterapia y quimioterapia. Sin embargo, debido a su historial de la enfermedad proliferativa (tal como cáncer), estos individuos se consideran en riesgo de desarrollo de la enfermedad. El tratamiento o la administración

en el "entorno adyuvante" se refiere a un modo de tratamiento posterior. El grado de riesgo (por ejemplo, cuando un individuo en el entorno adyuvante se considera como de "alto riesgo" o "bajo riesgo") depende de varios factores, generalmente el alcance de la enfermedad cuando se trató por primera vez.

5 Los procedimientos proporcionados en el presente documento también se pueden poner en práctica en un "entorno neoadyuvante" es decir, el procedimiento puede llevarse a cabo antes de la terapia primaria/definitiva. En algunas realizaciones, el individuo ha sido tratado previamente. En algunas realizaciones, el individuo no ha sido tratado previamente. En algunas realizaciones, el tratamiento es una terapia de primera línea.

10 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar un trastorno de proliferación celular en un individuo administrando una cantidad eficaz de cualquiera de los compuestos (tales como en composiciones farmacéuticas) desvelados en el presente documento. En algunas realizaciones, la enfermedad celular proliferativa es cáncer, tal como cáncer metastásico. En otras realizaciones, el cáncer es un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina, tumores hematológicos (tal como mieloma, leucemia y linfoma), o cualquiera de los cánceres descritos en el presente documento. El compuesto o composición descrita en el presente documento puede administrarse por vía oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica. En algunas realizaciones, el individuo es un ser humano.

20 E. Administración de compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros

En algunas realizaciones, los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros desvelados en el presente documento (tales como en composiciones farmacéuticas) se administran en forma de una inyección. La inyección puede comprender el compuesto en combinación con un excipiente o vehículo inyectable acuoso. Los ejemplos no limitantes de excipientes o vehículos inyectables acuosos adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica y ellos, y los procedimientos de formulación de las formulaciones, pueden encontrarse en referencias estándar como Alfonso AR: Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton Pa., 1985. Los excipientes o vehículos inyectables acuosos adecuados incluyen agua, solución salina acuosa, solución acuosa de dextrosa, y similares, que contienen opcionalmente mejoradores de la disolución, tales como manitol al 10 % u otros azúcares, glicina al 10 % u otros aminoácidos. La composición se puede inyectar por vía subcutánea, intraperitoneal o intravenosa.

En algunas realizaciones, se utiliza administración intravenosa, y puede ser una infusión intravenosa continua durante un período de unos minutos a una hora o más, tal como alrededor de quince minutos. La cantidad administrada puede variar ampliamente dependiendo del tipo de oligonucleótido antisentido, el tamaño de una dosis unitaria, el tipo de excipientes o vehículos, y otros factores bien conocidos por los expertos en la técnica. El oligonucleótido antisentido puede comprender, por ejemplo, de aproximadamente el 0,001 % a aproximadamente 10 % (p/p), de aproximadamente 0,01 % a aproximadamente 1 %, de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 0,8 %, o cualquier intervalo en el mismo, comprendiendo el resto el (los) excipiente(s) o vehículo(s).

Para administración oral, el compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros puede tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparados por medios convencionales con excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes aglutinantes; cargas; lubricantes; disgregantes; o agentes humectantes. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas se pueden preparar por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales tampón, aromatizantes y colorantes según corresponda.

En algunas realizaciones, el compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros (como cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento) puede administrarse por inhalación a través de un aerosol o un nebulizador que puede incluir un propelente adecuado tal como, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono o una combinación de los mismos. En un ejemplo no limitante, una unidad de dosificación para un aerosol presurizado se puede administrar a través de una válvula dosificadora. En otra realización, cápsulas y cartuchos de gelatina, por ejemplo, pueden usarse en un inhalador y puede formularse para contener una mezcla en polvo del compuesto con una base en polvo adecuada tal como, por ejemplo, almidón o lactosa.

En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición (tal como una composición farmacéutica) se incluye en cualquiera de los siguientes intervalos: de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 mg, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 20 a aproximadamente 25 mg, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 25 a

- aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 50 a aproximadamente 75 mg, de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 75 a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 100 a aproximadamente 125 mg, de aproximadamente 125 a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 150 a aproximadamente 175 mg, de aproximadamente 175 a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 200 a aproximadamente 225 mg, de aproximadamente 225 a aproximadamente 250 mg, de aproximadamente 250 a aproximadamente 300 mg, de aproximadamente 300 a aproximadamente 350 mg, de aproximadamente 350 a aproximadamente 400 mg, de aproximadamente 400 a aproximadamente 450 mg, o de aproximadamente 450 a aproximadamente 500 mg. En algunas realizaciones, la cantidad de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento de los telómeros en la cantidad efectiva de la composición farmacéutica (por ejemplo, una forma de dosificación unitaria) está en el intervalo de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg, tal como de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg, de 1 mg a aproximadamente 15 mg, de 1 mg a aproximadamente 20 mg, de 1 mg a aproximadamente 25 mg, de 1 mg a aproximadamente 30 mg, de 10 mg a aproximadamente 20 mg, de 10 mg a aproximadamente 30 mg, de 10 mg a aproximadamente 40 mg, de 20 mg a aproximadamente 30 mg, de 30 mg a aproximadamente 40 mg, de 30 mg a aproximadamente 300 mg o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 200 mg. En algunas realizaciones, la concentración del compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición farmacéutica es diluida (aproximadamente 0,1 mg/ml) o concentrada (aproximadamente 100 mg/ml), incluyendo, por ejemplo, cualquiera de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 mg/ml, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 mg/ml, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg/ml, de aproximadamente 2 mg/ml a aproximadamente 8 mg/ml, de aproximadamente 4 a aproximadamente 6 mg/ml, aproximadamente 5 mg/ml. En algunas realizaciones, la concentración del compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros es de al menos aproximadamente 0,5 mg/ml, 1,3 mg/ml, 1,5 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml, 4 mg/ml, 5 mg/ml, 6 mg/ml, 7 mg/ml, 8 mg/ml, 9 mg/ml, 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, 30 mg/ml, 40 mg/ml o 50 mg/ml.
- 25 Las cantidades efectivas de ejemplo de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición farmacéutica incluyen, pero sin limitación, al menos aproximadamente cualquiera de 5 mg/m², 10 mg/m², 15 mg/m², 20 mg/m², 25 mg/m², 30 mg/m², 50 mg/m², 60 mg/m², 75 mg/m², 80 mg/m², 90 mg/m², 100 mg/m², 120 mg/m², 125 mg/m², 150 mg/m², 160 mg/m², 175 mg/m², 180 mg/m², 200 mg/m², 210 mg/m², 220 mg/m², 250 mg/m², 260 mg/m², 300 mg/m², 350 mg/m², 400 mg/m², 500 mg/m², 540 mg/m², 750 mg/m², 1000 mg/m² o 1080 mg/m². En diversas realizaciones, la composición farmacéutica incluye menos de aproximadamente cualquiera de 350 mg/m², 300 mg/m², 250 mg/m², 200 mg/m², 150 mg/m², 120 mg/m², 100 mg/m², 90 mg/m², 50 mg/m², o 30 mg/m² de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros (tal como cualquiera de los compuestos desvelados en el presente documento). En algunas realizaciones, la cantidad del compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros por administración es menos que aproximadamente cualquiera de 25 mg/m², 22 mg/m², 20 mg/m², 18 mg/m², 15 mg/m², 14 mg/m², 13 mg/m², 12 mg/m², 11 mg/m², 10 mg/m², 9 mg/m², 8 mg/m², 7 mg/m², 6 mg/m², 5 mg/m², 4 mg/m², 3 mg/m², 2 mg/m² o 1 mg/m². En algunas realizaciones, la cantidad efectiva de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición farmacéutica se incluye en cualquiera de los siguientes intervalos: de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 mg/m², de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 mg/m², de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 mg/m², de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 mg/m², de aproximadamente 50 a aproximadamente 75 mg/m², de aproximadamente 75 a aproximadamente 100 mg/m², de aproximadamente 100 a aproximadamente 125 mg/m², de aproximadamente 125 a aproximadamente 150 mg/m², de aproximadamente 150 a aproximadamente 175 mg/m², de aproximadamente 175 a aproximadamente 200 mg/m², de aproximadamente 200 a aproximadamente 225 mg/m², de aproximadamente 225 a aproximadamente 250 mg/m², de aproximadamente 250 a aproximadamente 300 mg/m², de aproximadamente 300 a aproximadamente 350 mg/m² o de aproximadamente 350 a aproximadamente 400 mg/m². En algunas realizaciones, la cantidad efectiva de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición farmacéutica es de aproximadamente 5 a aproximadamente 300 mg/m², tal como de aproximadamente 20 a aproximadamente 300 mg/m², de aproximadamente 50 a aproximadamente 250 mg/m², de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 mg/m², de aproximadamente 120 mg/m², de aproximadamente 130 mg/m² o de aproximadamente 140 mg/m² o de aproximadamente 260 mg/m².

En algunas realizaciones de cualquiera de las realizaciones anteriores, la cantidad efectiva de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros en la composición farmacéutica incluye al menos aproximadamente cualquiera de 1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kg, 4 mg/kg, 5 mg/kg, 6 mg/kg, 7 mg/kg, 8 mg/kg, 9 mg/kg, 10 mg/kg, 11 mg/kg, 12 mg/kg, 13 mg/kg, 14 mg/kg, 15 mg/kg, 16 mg/kg, 17 mg/kg, 18 mg/kg, 19 mg/kg, 20 mg/kg, 21 mg/kg, 22 mg/kg, 23 mg/kg, 24 mg/kg, 25 mg/kg, 26 mg/kg, 27 mg/kg, 28 mg/kg, 29 mg/kg, 30 mg/kg, 31 mg/kg, 32 mg/kg, 33 mg/kg, 34 mg/kg, 35 mg/kg, 36 mg/kg, 37 mg/kg, 38 mg/kg, 39 mg/kg o 40 mg/kg o más. En diversas realizaciones, la cantidad efectiva de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros (como cualquiera de los compuestos descritos en el presente documento) en la composición farmacéutica incluye menos de aproximadamente cualquiera de 350 mg/kg, 300 mg/kg, 250 mg/kg, 200 mg/kg, 150 mg/kg, 100 mg/kg, 50 mg/kg, 30 mg/kg, 25 mg/kg, 20 mg/kg, 10 mg/kg, 7,5 mg/kg, 6,5 mg/kg, 5 mg/kg, 3,5 mg/kg, 2,5 mg/kg, o 1 mg/kg de un compuesto útil para inhibir el alargamiento de los telómeros.

Las frecuencias de dosificación de ejemplo para las composiciones farmacéuticas (tales como una composición farmacéutica que contiene cualquiera de los compuestos útiles para inhibir el alargamiento del telómero desvelados en el presente documento) incluyen, pero sin limitación, diariamente; en días alternos; dos veces a la semana; tres

veces a la semana; semanalmente sin interrupción; semanalmente, tres de cada cuatro semanas; una vez cada tres semanas; una vez cada dos semanas; semanalmente, dos de cada tres semanas. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica se administra aproximadamente una vez cada 2 semanas, una vez cada 3 semanas, una vez cada 4 semanas, una vez cada 6 semanas o una vez cada 8 semanas. En algunas realizaciones, la composición se administra al menos aproximadamente cualquiera de 1x, 2x, 3x, 4x, 5x, 6x, o 7x (es decir, diariamente) a la semana, o tres veces al día, dos veces al día. En algunas realizaciones, los intervalos entre cada administración son menores de aproximadamente cualquiera de 6 meses, 3 meses, 1 mes, 20 días, 15 días, 12 días, 10 días, 9 días, 8 días, 7 días, 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día. En algunas realizaciones, los intervalos entre cada administración son mayores de aproximadamente cualquiera de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 8 meses o 12 meses. En algunas realizaciones, no hay interrupción en el programa de administración de dosis. En algunas realizaciones, el intervalo entre cada administración no es mayor de aproximadamente una semana.

La administración de la composición puede prolongarse durante un periodo de tiempo prolongado, tal como de aproximadamente un mes hasta aproximadamente siete años. En algunas realizaciones, la composición se administra durante un periodo de al menos aproximadamente cualquiera de 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 18, 24, 30, 36, 48, 60, 72 u 84 meses.

V. Kits

La presente divulgación proporciona un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes que comprenden un compuesto descrito en el presente documento útil para el tratamiento o prevención del cáncer. El kit puede comprender además instrucciones para su uso en el tratamiento del cáncer.

La presente divulgación también proporciona un paquete o kit farmacéutico que comprende uno o más recipientes que comprenden uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de las presentes realizaciones. Opcionalmente asociado con dicho recipiente o recipientes puede ser un aviso en la forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, uso o venta de agentes farmacéuticos o productos biológicos, cuyo aviso refleja la aprobación por la agencia de fabricación, uso o venta para administración humana.

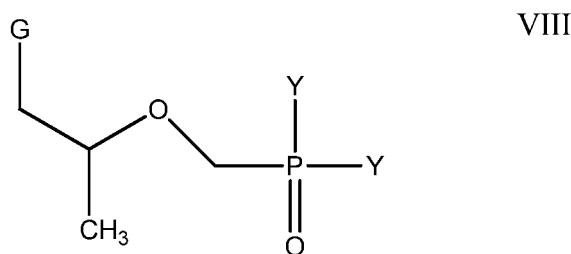
VI. Realizaciones específicas

Las composiciones y procedimientos descritos en el presente documento inhiben la extensión de los telómeros por la telomerasa. Los compuestos y procedimientos también inhiben la proliferación de células cancerosas.

Se cree que los compuestos descritos en el presente documento son reconocidos por la enzima telomerasa e incorporados en la cadena de telómeros en crecimiento. Una vez que el compuesto se incorpora a la cadena de telómeros, la enzima telomerasa no puede añadir nucleótidos de adición a la cadena de telómeros. De esta manera, la cadena de telómeros se detiene o se tapa y se inhibe el alargamiento adicional del telómero.

Se prefiere que los compuestos descritos en el presente documento se acepten y usen preferentemente por la enzima telomerasa y no sean utilizados por ADN o ARN polimerasas de mamífero. Los compuestos inhiben el alargamiento de los telómeros por la telomerasa como mínimo 2 veces mejor que la inhibición del alargamiento del ADN o ARN por ADN o ARN polimerasas, al menos 5 veces mejor que, al menos 10 veces mejor que inhibir el alargamiento del ADN o ARN por ADN o ARN polimerasas.

En el presente documento también se describen compuestos que tienen la fórmula (VIII)



en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, Y independientemente es -OH, -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂; n independientemente es 2-4; con la condición de que al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³; o -N[(CH₂)_nNH₂](CH₂)_nNHR³; y las sales, hidratos, tautómeros y solvatos de los mismos. En algunos compuestos, G es guanina-9-ilo.

En algunos compuestos, al menos un Y es -NH(CH₂)_nNH(CH₂)_nNHR³, R³ es -H o -(CH₂)_nNH₂ y n es, independientemente, 2-4.

En algunos compuestos, al menos un Y es $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ o $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$. En algunos compuestos, un Y es $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$ y el otro Y es $-\text{OH}$. En algunos compuestos, un Y es $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$ y el otro Y es $-\text{OH}$. En algunos compuestos, ambos Y son $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$. En algunos compuestos, ambos Y son $-\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$.

5 En algunos compuestos, al menos un Y es $-\text{N}[(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2](\text{CH}_2)_n\text{NHR}^3$, R^3 es $-\text{H}$ o $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$ y n es, independientemente, 2-4.

10 El compuesto de fórmula VIII puede ser el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula VIII puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado.

En el presente documento también se describen composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

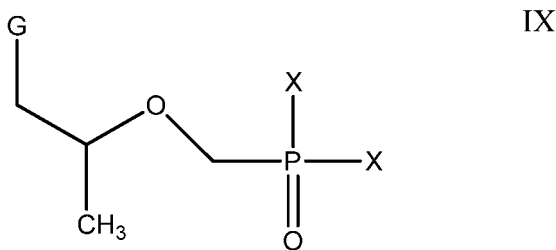
15 En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprenden poner en contacto una célula con los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII. La célula puede ser una célula cancerosa.

20 En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o el tejido con los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII.

25 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII al paciente. El cáncer puede ser cáncer metastásico. El cáncer puede ser un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma).

30 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar a un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula VIII o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII en el que el procedimiento implica administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica del compuesto o la composición farmacéutica.

35 En el presente documento también se describen procedimientos que utilizan compuestos de fórmula (IX):



40 en el que G se selecciona de guanina-9-ilo, o sus análogos de 1-deaza o 3-deaza, X independientemente es $-\text{OH}$, un monofosfato, un difosfato o $-\text{OCH}(\text{R}^1)\text{OC}(\text{O})\text{OR}^1$, R^1 es independientemente H o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$; y las sales, hidratos, sus tautómeros y solvatos; en condiciones en las que se inhibe el alargamiento del telómero. En algunos compuestos, al menos un X es $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{OR}^1$ y R^1 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$. En algunos compuestos, un X es $-\text{OH}$ y el otro X es $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{OR}^1$ y R^1 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_5$. En algunos compuestos, un X es $-\text{OH}$ y el otro X es $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$. En algunos compuestos, ambos X son $-\text{OCH}_2\text{OC}(\text{O})\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$. En algunos compuestos, un X es $-\text{OH}$ y el otro X es difosfato. Un compuesto específico de Fórmula IX es 9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; PMPGpp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula IX es (R)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; (R)-PMPGpp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Un compuesto específico de Fórmula IX es (S)-9-[2-(fosfonometoxi)propil]-guanina difosfato; (S)-PMPGpp, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50 El compuesto de Fórmula IX puede ser el enantiómero (R) enriquecido o aislado. El compuesto de fórmula IX puede ser el enantiómero (S) enriquecido o aislado.

55 En el presente documento también se describen procedimientos para inhibir el alargamiento del telómero que comprenden poner en contacto una célula con los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII. La célula puede ser una célula cancerosa.

En el presente documento también se describen procedimientos para acortar la longitud del telómero en una célula o tejido que comprende poner en contacto la célula o el tejido con los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII.

5 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar el cáncer en un paciente mediante la administración de una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII al paciente. El cáncer puede ser cáncer metastásico. El cáncer puede ser un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del
10 útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro, retina y tumores hematológicos (tales como mieloma, leucemia y linfoma).

15 En el presente documento también se describen procedimientos para tratar a un paciente administrando una cantidad eficaz de los compuestos de Fórmula IX o las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula VIII en los que el procedimiento implica administración oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica del compuesto o la composición farmacéutica.

También se describe en el presente documento el uso de los compuestos de Fórmula IX en medicina.

20 En el presente documento también se describe el uso de los compuestos de Fórmula VIII y Fórmula IX para tratar el cáncer.

25 Los compuestos descritos en el presente documento inhiben el alargamiento o la extensión de los telómeros en las células por la telomerasa, incluyendo células cancerosas, cuyo efecto resultante es inhibir la proliferación de las células. Por consiguiente, una aplicación principal de los compuestos descritos en el presente documento es como agentes terapéuticos contra el cáncer, y las formulaciones farmacéuticas de los compuestos se describen en el presente documento que pueden utilizarse de esta manera.

30 Los compuestos de ejemplo descritos en el presente documento incluyen aquellos representados en la Tabla 1 usando la siguiente fórmula:

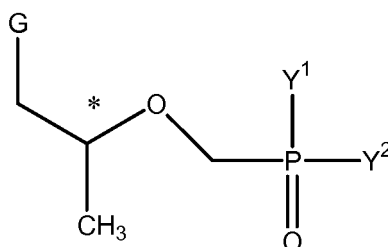


Tabla 1

G	* Enantiómero	Y ¹	Y ²
Guanina-9-ilo	Mixto	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂ .
Guanina-9-ilo	Mixto	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂ .
Guanina-9-ilo	(R)	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂ .
Guanina-9-ilo	(S)	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	Mixto	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂

(continuación)

G	* Enantiómero	Y ¹	Y ²
Guanina-9-ilo	Mixto	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-OH
Guanina-9-ilo	(R)	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-OH
Guanina-9-ilo	(S)	-OH	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-NH(CH ₂) ₃ NH(CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-OH
Guanina-9-ilo	Mixto	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	Mixto	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH ₂
Guanina-9-ilo	Mixto	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	Mixto	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(R)	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-OH	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂
Guanina-9-ilo	(S)	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂	-NH[(CH ₂) ₃ NH ₂](CH ₂) ₄ NH(CH ₂) ₃ NH ₂

Ejemplos

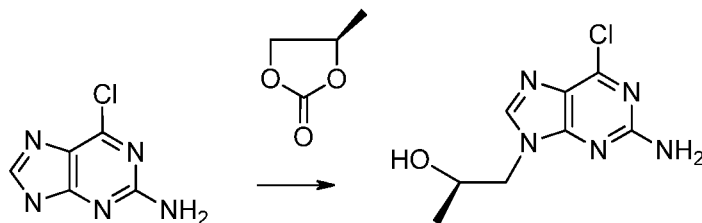
- 5 Los siguientes ejemplos ilustran la síntesis y las actividades de los compuestos descritos en el presente documento.

Ejemplo 1. Síntesis de los compuestos**A. Síntesis del difosfato de ácido R-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico (referencia)**

- 10 El esquema para sintetizar difosfato de ácido R - (((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico se muestra en el siguiente esquema.

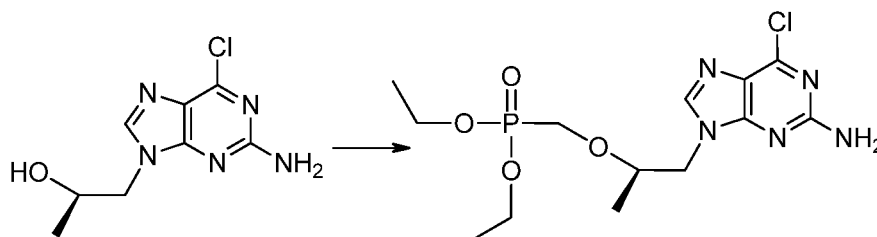
A

15

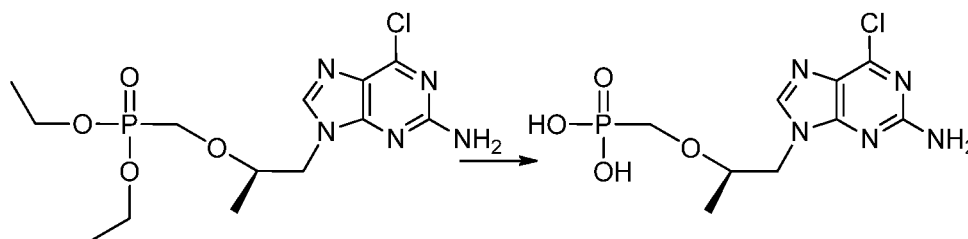


B

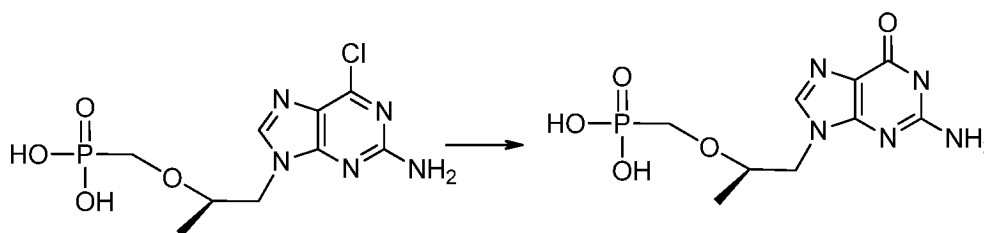
20



C



5 D



10 **Etapa A:** 20 mmol de 2-amino-6-cloropurina (Aldrich 34,230-0) se evaporaron conjuntamente con tolueno seco tres (3) veces. Se añadieron 150 ml de DMF seco, 30 mmol de carbonato de R-(+)-propileno (Aldrich 54,001-3), 20 mmol de carbonato de potasio seco y la mezcla se calentó a 90 °C durante 24 horas. Después del enfriamiento, se añadieron 100 ml de metanol y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. El sólido se filtró y se lavó con 50 ml de metanol. El pH del filtrado se ajustó a pH 7 con ácido acético; después se evaporó a sequedad. El producto se purificó utilizando cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, comenzando con metanol al 5 % en diclorometano (DCM), seguido de metanol al 10 %. El rendimiento en promedio fue del 50 % basado en 2-amino-6-cloropurina.

20 **Etapa B:** 2 mmol del compuesto 2-amino-6-cloroacíclico se evaporaron conjuntamente con acetonitrilo seco y se disolvieron en 10 ml de N-metil-2-pirrolidona (NMP). Se añadieron 6 mmol de terc-butóxido de litio y 3 mmol de reactivo de fosfonilación (Santa Cruz Biotechnology sc-211323) y la mezcla de reacción se calentó a 70 °C durante 5 horas. El progreso de la reacción fue seguido por HPLC (17,3 min). Después del enfriamiento, se añadió agua y el pH de la solución se ajustó a pH 7. El producto se extrajo con cloruro de metileno y se evaporó a 10 ml (NMP). Esta solución se utilizó en la siguiente etapa.

25 **Etapa C:** La solución de NMP se evaporó conjuntamente con acetonitrilo tres (3) veces, después se añadieron 7 mmol de bromuro de sodio y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadieron 10,6 mmol de cloruro de trimetilsililo (TMS-Cl) y la mezcla de reacción se calentó a 75 °C durante 5 horas. La reacción fue seguida por HPLC (11,6 min). Cuando se completaron, la mezcla de reacción se enfrió, se añadió agua y se extrajo con acetato de etilo. El pH de la fase acuosa se ajustó a pH 3-4 con NaOH y se evaporó a aproximadamente 10 ml de N-metil-2-pirrolidona (NMP). Se añadieron 50 ml de etanol y, después de enfriar, la sal se filtró. La solución se evaporó a N-metil-2-pirrolidona (NMP).

30 **Etapa D:** La solución de NMP de la etapa anterior se diluyó con 20 ml de etanol y se añadieron 20 ml de HCl 5M. Esta solución se mantuvo a 55 °C durante 3 horas, la reacción se controló mediante HPLC (9,5 min), se enfrió y se añadieron 20 ml de etanol. La sal precipitada se separó por filtración y la solución se evaporó. El NMP restante se eliminó mediante trituración con acetonitrilo y el producto final se filtró.

35 Procedimiento de HPLC: Disolvente A: Acetato de trietilamonio 50 mM; Disolvente B: acetonitrilo; Gradiente: 0-50 % de B en 25 minutos; Caudal de 1 ml/min; columna C₁₈ 4,6x250 mm; Etapas A-C monitorizadas a 300-330 nm, Etapa D monitorizada a 260 nm.

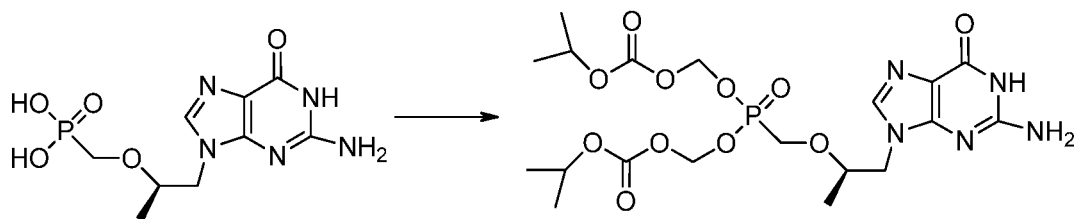
40 **B. Síntesis del difosfato de ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico (referencia)**

El esquema para sintetizar difosfato de ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico es el mismo que el descrito para difosfato de ácido R-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico como se muestra en el Ejemplo 1A anterior, sustituyendo carbonato de S-(-)-propileno por carbonato de R-(+)-propileno.

45

C. Síntesis del éster diisopropiloxi del ácido R - (((guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico (referencia)

El procedimiento de síntesis se muestra en el siguiente esquema.



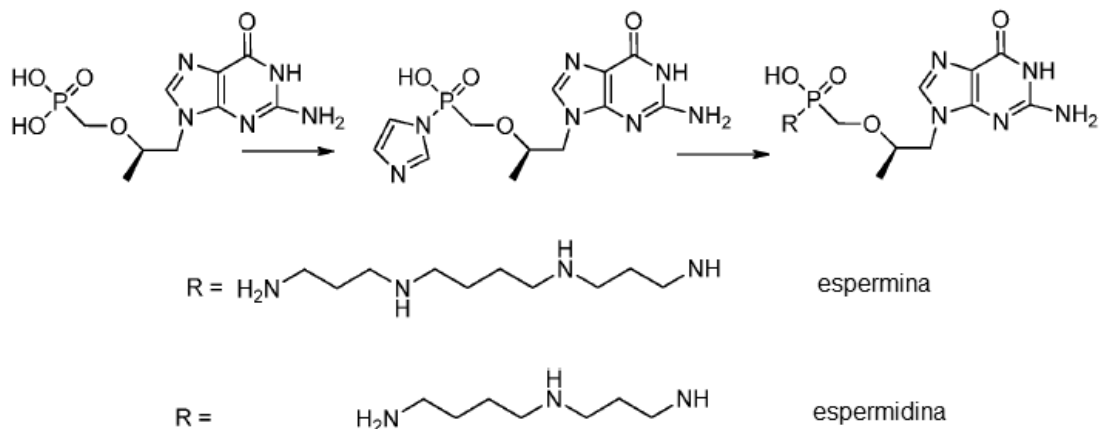
En el esquema anterior, 0,5 mmol de ácido R-(((guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico se evaporó junto con acetonitrilo seco, luego se disolvió en 5 ml de NMP. Se añadieron 280 μ l de trietilamina (4 eq) y 160 mg de bromuro de tetrabutilamonio (1 eq) y la mezcla se calentó a 50 °C. A esa temperatura, se añadieron 380 μ l (5 eq) de isopropilcarbonato de clorometilo (Santa Cruz Biotech sc-211074) y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 5 horas (o menos, dependiendo de la monitorización por HPLC). El producto se eluye a los 22,8 minutos y el monoéster a los 14 minutos. Después de que se completara la reacción, la mezcla se enfrió y los productos se precipitaron con ciclohexano. Al residuo oleoso se añadió cloruro de metileno y se extrajo con agua. La capa orgánica se secó y se evaporó hasta obtener un aceite que contenía una pequeña cantidad de NMP. Después de la dilución con agua, la solución se purificó por HPLC. El producto se extrajo de las fracciones recogidas con cloruro de metileno y la solución se evaporó. El aceite resultante se disolvió en DMSO y la concentración se determinó mediante espectrofotometría UV.

15 Procedimiento de HPLC: Disolvente A: Acetato de trietilamonio 50 mM; Disolvente B: acetonitrilo; Gradiente: 0-50 % de B en 25 minutos; Caudal de 1 ml/min; columna C₁₈ 4,6x250 mm; Etapas A-C monitorizadas a 300-330 nm; Etapa D monitorizada a 260 nm.

20 La síntesis de disoproxilo ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico se realizó siguiendo el mismo procedimiento comenzando con ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico.

D. Síntesis del ácido R-(((guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil) fosfónico o amidato de espermina o espermidina

El procedimiento de síntesis se muestra en el siguiente esquema.



30 En el esquema anterior, 0,1 mmol de ácido R-(((guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico se evaporó junto con DMF seco. Luego se disolvió en 5 ml de DMF. Se añadieron 80 mg de carbonildiimidazol (5 eq) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Después, se añadieron 30 μ l de metanol y la mezcla de reacción se agitó durante 10 min. Se añadieron 5 eq de espermina o espermidina y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas. Después de la adición de 5 ml de tampón acetato de trietilamonio 50 mM, la mezcla de reacción se evaporó y se disolvió en agua para purificación por HPLC. Los productos eluidos más tarde, luego el material de partida y se recolectaron como un conjunto de picos (la amina primaria o secundaria reaccionó). Los productos no se retuvieron en la columna de intercambio iónico y el espectro de RMN de fósforo ³¹P mostró picos a 19,946 y 19,873 ppm. El material de partida tiene un solo pico a 16,258 ppm.

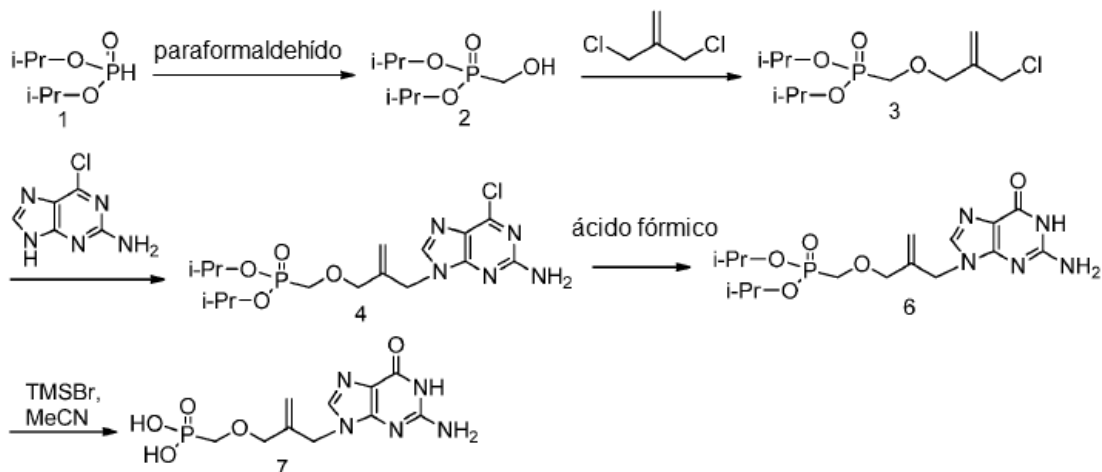
40 Procedimiento de HPLC: Disolvente A: Acetato de trietilamonio 50 mM; Disolvente B: acetonitrilo; Gradiente: 0-50 % de B en 25 minutos; Caudal de 1 ml/min; columna C₁₈ 4,6x250 mm; Etapas A-C monitorizadas a 300-330 nm; Etapa D monitorizada a 260 nm.

La síntesis de amidato de espermina o espermidina de ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil) fosfónico se realiza siguiendo el procedimiento anterior comenzando con ácido S-(((Guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil)fosfónico.

E. Síntesis del ácido (((2-((2-amino-6-oxo-1H-purin-9 (6H)-il)metil)alil)oxi)metil)fosfónico (referencia)

5

El procedimiento de síntesis se muestra en el siguiente esquema.



10 Etapa 1: Preparación del compuesto **2**: A una suspensión de paraformaldehído (3,65 g, 120 mmol) en diisopropilfosfonato (20 g, 120 mmol) se añadió trietilamina (1,66 ml). Los reactivos se calentaron en un baño de aceite a 130 °C con agitación enérgica durante 4 horas. Los compuestos volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando acetato de etilo para proporcionar el compuesto **2** (20 g, rendimiento: 85 %)

15 Etapa 2: Preparación del compuesto **3**: Una solución de Compuesto **2** (2,62 g, 13 mmol) en DMF (10 ml) se enfrió a -78 °C y se añadió NaH (1,08 g) en porciones. La mezcla se calentó lentamente a -20 °C y se añadió 2-clorometil-3-cloropropeno (5 g, 40 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, se repartió entre acetato de etilo y agua, y se evaporó la capa orgánica. El residuo se sometió a cromatografía en gel de sílice usando acetato de etilo:éter de petróleo 1:1 para alcanzar **3** (0,65 g, rendimiento: 18 %)

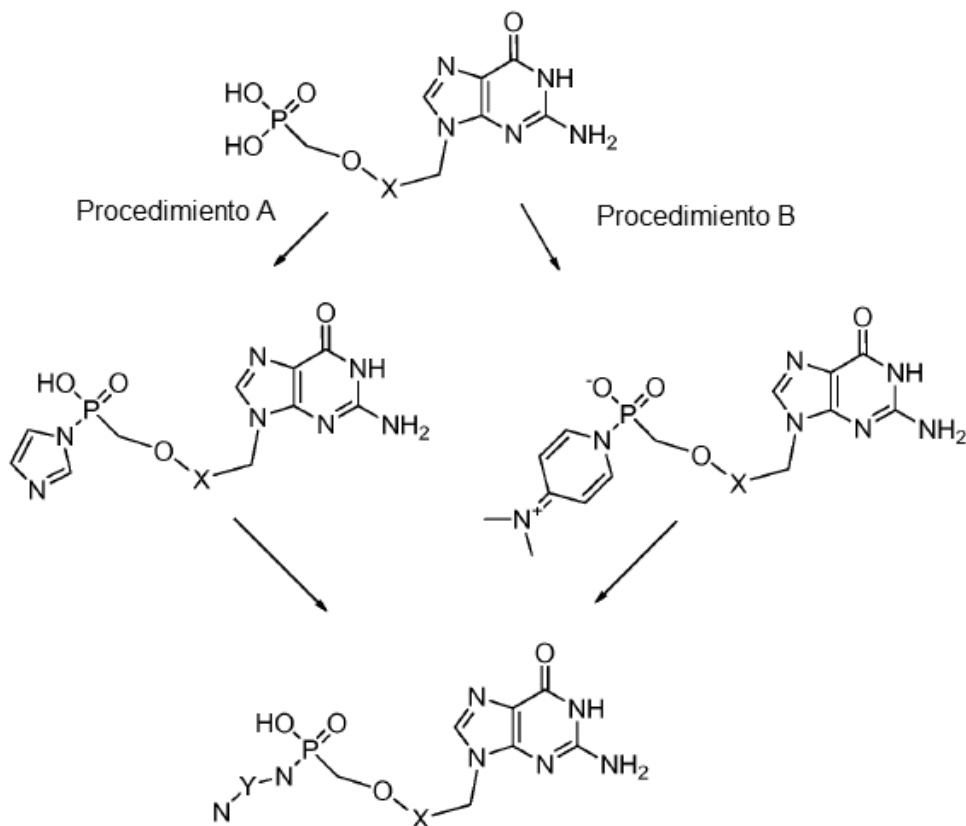
20 Etapa 3: Preparación del compuesto **4**: El compuesto **3** (28,4 mg, 0,1 mmol) se disolvió en DMF (1 ml), se añadió 2-amino-6-cloro-purina (17 mg, 0,1 mmol) y Cs_2CO_3 fresco (32,5 mg, 1 mmol) a la solución y con agitación enérgica durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con acetato de etilo y se filtró para eliminar el sólido. La capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo, las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo= 9/1), para dar el compuesto **4** (10 mg, rendimiento: 30 %)

25 Etapa 4: Preparación del compuesto **6**: El compuesto **4** (500 mg, 1,2 mmol) se disolvió en ácido trifluoroacético (TFA) (5 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas en argón hasta que se consumió todo el material de partida. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida para dar el compuesto **6** en forma de un aceite marrón (480 mg, 100 % de rendimiento, confirmado mediante LCMS). El compuesto **6** se usó para la siguiente etapa sin purificación adicional.

30 Etapa 5: Preparación del compuesto **7**: A una solución del compuesto **6** (480 mg, en bruto) en acetonitrilo (MeCN) (5 ml), se añadió bromotrimetilsilano (TMSBr) (2 ml) gota a gota a temperatura ambiente en argón. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 36 horas. La LCMS mostró 85 % de producto formado y 13 % de material de partida todavía existía. Por lo tanto, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que se consumió el material de partida.

40 **F. Síntesis de conjugados de nucleósido fosfonato de poliamina acíclica**

El procedimiento de síntesis se muestra en el siguiente esquema.



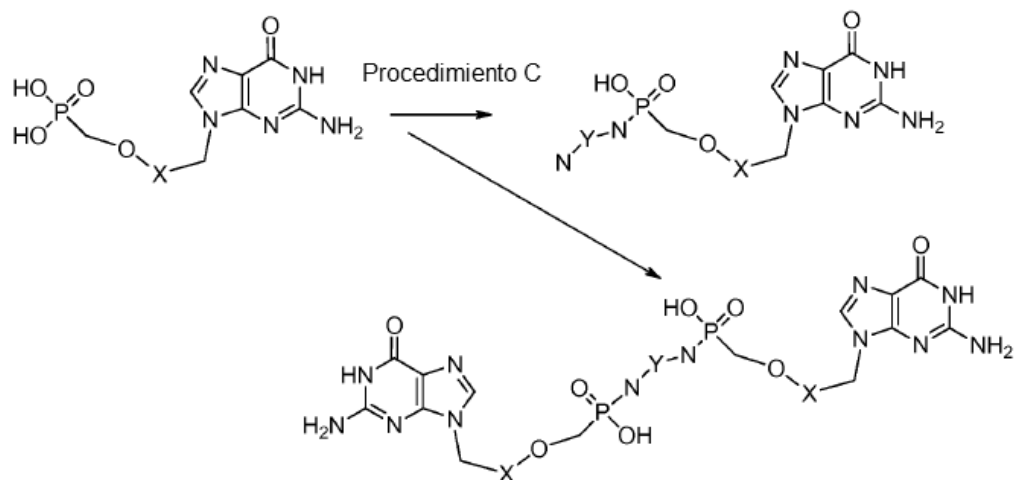
Procedimiento A: El ácido acido libre de fosfonato de nucleósido (0,1 mmol) se secó por evaporación con DMF seco o en un desecador sobre pentóxido de fósforo. El compuesto se disolvió en 5 ml de DMF seco y se añadieron 0,5 mmol de carbonildiimidazol, a continuación, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después de la adición de 30 μ l de metanol seco, se añadieron 0,5 mmol de poliamina y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los disolventes se eliminaron por evaporación al vacío y el residuo se trituró con éter dietílico y luego se disolvió en agua. El producto se aisló por HPLC utilizando una columna de fase inversa C18 con un gradiente lineal de acetonitrilo al 40 % en 30 minutos y acetato de trietilamonio 50 mM como eluyente A.

Procedimiento B: Se disolvió ácido acido libre de fosfonato de nucleósido seco - 0,1 mmol - en 4 ml de DMF y se añadieron 1 ml de piridina y 60 mg de dimetilaminopiridina (DMAP). Se disolvió 1 mmol de trifenilfosfina en 1,5 ml de DMF, y se disolvió 1 mmol de disulfuro de piridinio también en 1,5 ml de DMF. Las dos soluciones se añadieron a la solución de fosfonato simultáneamente. La mezcla de reacción se calentó a un máximo de 50 °C durante 10 minutos para que se disolviera, luego se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en 100 ml de acetona que contenía 2 ml de perclorato de litio saturado y se centrifugó. El sedimento se trató después con 10 mmol de poliamina en 3 ml de agua durante una hora. El producto se aisló/purificó como anteriormente.

Conjugado de espermina PMPG: RMN ^{31}P 19,786 ppm, MS m/z MH⁺ 488,5
 Conjugado de espermidina PMPG: RMN ^{31}P 20,091 ppm, MS m/z MH⁺ 431,2
 Conjugado de espermidina PMIBeG: RMN ^{31}P 19,476 ppm, MS m/z MH⁺ 443,3
 Conjugado de decilamina PMPG: RMN ^{31}P 18,572 ppm, MS m/z MH⁺ 443,4

G. Síntesis de conjugados de nucleósido fosfonato de poliamina acíclica

El procedimiento de síntesis se muestra en el siguiente esquema.



Procedimiento C: Se disolvió ácido libre de nucleósido acíclico seco - 0,1 mmol - en 6 ml de DMF/piridina a 1:1 y se añadieron 0,5 mmol de poliamina y 10 mmol de diciclohexilcarbodiimida. La mezcla se agitó a 85 °C durante 4 horas. Después del enfriamiento, la mezcla de reacción se evaporó al vacío, se trituró con éter, después se suspendió en acetona y se centrifugó. El sedimento se suspendió en agua y se purificó por HPLC como anteriormente usando un gradiente más pronunciado, hasta 70 % de acetonitrilo. En la presente reacción, el compuesto bis sustituido también se forma y se eluye más tarde, que el compuesto mono sustituido.

Bis PMPG espermina: RMN ³¹P 20,014 ppm, MS m/z MH⁺ 773,4

Ejemplo 2. Actividad de compuestos en ensayos bioquímicos y celulares

Materiales y procedimientos

A. Ensayo de extensión de cebadores

El difosfato de ácido (((guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico (PMPGpp) actúa como un terminador de la cadena y compete con dGTP.

La telomerasa humana purificada se incubó con d(TTAGGG)₃ y desoxinucleósidos trifosfatos durante 90 minutos a 37 °C. Todas las reacciones se realizaron en presencia de dTTP 200 μM y dATP 10 μM (50.000 cpm/pmol α-³³P-dATP). La actividad se determinó incubando el extracto de telomerasa purificado por afinidad con 1 μM de cebador [d(TTAGGG)₃], dTTP 200 μM, DGTP 50 μM, dATP 10 μM, 10 μCi [α-³³P] dATP (2000-4000 Ci/mmol) en un tampón que contiene (N-2-hidroxietilpiperazina-N'3-propanosulfónico)-NaOH 50 mM a pH 8,5, MgCl₂ 1 mM, DTT 1 mM, glicerol al 5 %, EGTA 0,5 mM y KOAc 100 mM en un volumen de reacción final de 40 μl. Los productos de extensión de cebadores se analizaron en un gel de poliacrilamida al 15 % que contenía urea 7M. Una escalera de telomerasa característica tiene múltiples bandas (22 nt + 6n [(TTAGGG)₃TTAG]_n). Si un compuesto no es un sustrato, entonces (TTAGGG)₃TTA (21 nt). Si un compuesto es un terminador de cadena, entonces (TTAGGG)₃TTAG* (22 nt).

La figura 1 es una fotografía de un gel de poliacrilamida al 15 % que contiene urea 7 M que muestra los productos de extensión del cebador en presencia de compuestos. Las reacciones que contienen dGTP 50 o 100 μM, (carriles 1 y 2) muestran una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 8-11 contienen concentraciones crecientes de PMPGpp (n.º ID 142692) además de dGTP 50 μM. El carril 12 contiene solo PMPGpp 50 μM de (n.º ID 142692). Los carriles 3-7 muestran una comparación utilizando el terminador de cadena conocido, 3'-azido-dGTP.

Las Cl₅₀ para (R)-PMPGpp y (S)-PMPGpp se muestran en la Tabla 3. El difosfato de ácido (R)-(((guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico es reconocido eficazmente por la telomerasa humana y se añadió al extremo 3' de un cebador telomérico que da como resultado la terminación de la cadena. La molécula compete con dGTP y cuando se mide en un ensayo sin células, utilizando concentraciones de telomerasa y dGTP purificadas de 50 μM, muestra una Cl₅₀ de aproximadamente 1,0 μM.

B. Ensayo de placa de destello

Determinación de la Cl₅₀ para PMPGpp, (R)-PMPGpp y (S)-PMPGpp. La actividad de la telomerasa se determinó utilizando el ensayo "placa de destello" con concentraciones de PMPGpp que varían de 0,05 μM a 50 μM. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

El compuesto se preincubó con extracto de telomerasa purificado por afinidad, Cebador 100 nM [5 'biotina-d (AATCCGTCGAGCAGAGTT)], dTTP 120 μ M, DGTP 20 μ M, dATP 10 μ M, en un tampón que contiene acetato de tris 50 mM (pH 8,2), $MgCl_2$ 1 mM, DTT 1 mM, EGTA 0,5 mM y KOAc 150 mM, [d (CCCTAACCCCTAACCCCTAACCC)] marcado con ^{33}P 5,4 nM (6×10^9 cpm/nmol) en un volumen de reacción final de 30 μ l. Las incubaciones se realizaron durante 90 minutos a 37 °C. Tras la interrupción de la reacción con EDTA (10 mM), los productos de la reacción se capturaron en una FlashPlate de 96 pocillos recubierta con estreptavidina. Después de un período de captura de 2 horas para el cebador, Las placas se lavaron cinco veces (2X SSC, 0,1 % de SDS, EDTA 10 mM) y se contaron.

10 Tabla 3: CI_{50} de los compuestos en Flashplate y Ensayo de extensión de cebadores

Compuesto	Flashplate CI_{50}	Extensión de cebadores CI_{50}
(R)-PMPGpp (referencia)	1,0 μ M	1,0 μ M
(S)-PMPGpp (referencia)	14,1 μ M	13,5 μ M

C. Ensayo ex vivo

15 La inhibición de la telomerasa se observa en las células después de la adición de los profármacos éster de (R)-PMPG-diisopropiloxi o éster de (S)-PMPG-diisopropiloxi. Las células HT3 se trataron durante tres días con concentraciones crecientes de éster de PMPG-diisopropiloxi en un intervalo de 0,2 μ M a 20 μ M. Las células (HT3 RPMI + FBS al 10 %) se incubaron con un compuesto durante 24 horas, después de lo cual se añadió el cebador PSTS (fosforotioato-d (AATCCGTCGAGCAGAGTT que contiene un marcador 5'Cy-5) (7,5 μ M) y un compuesto fresco durante 24 horas más. Las células se lisaron y la telomerasa endógena se inactivó por calentamiento (15 min, 75 °C). Los productos se amplificaron mediante 30 ciclos de PCR en las condiciones TRAP expuestas anteriormente y se cuantificaron. Los resultados de dos experimentos independientes se muestran en la Tabla 4.

20 Tabla 4: CI_{50} de compuestos en ensayo ex vivo

Compuesto	Ensayo ex vivo CI_{50}
Éster de (R)-PMPG diisopropiloxi (referencia)	1,2-3,2 μ M
éster de (S)-PMPG diisopropiloxi (referencia)	>20 μ M

25 Un profármaco, el éster diisopropiloxi del ácido (R)-(((Guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico inhibió la telomerasa en un ensayo de telomerasa basado en células, que tiene un valor de CI_{50} de entre 1,0-3,0 μ M. El propio profármaco estaba inactivo en el ensayo de telomerasa sin células, lo que indica que se convierte en la molécula activa en las células.

30 D. Ensayo de fragmentos de repetición de telómeros

La adición del profármaco de éster de PMPG diisopropiloxi a las células da como resultado un acortamiento del telómero. Se trataron tres líneas celulares de cáncer diferentes con diisopropiloxi éster 10 μ M o 20 μ M durante varias semanas. En los momentos indicados, se extrajo el ADN y se determinaron las longitudes medias de los telómeros mediante el procedimiento TRF.

La **figura 2A** muestra que las células U87 gb se trataron con éster de PMPG diisopropiloxi (n.º ID 142715) (carril 4), 2' desoxi, 3' fenilamida C6, 5' tiofosfato de guanosina (carril 3), 2' desoxi, 3' azido, 5' tiofosfato de guanosina (carril 2) o sin tratar (carril 1).

40 La **figura 2B** muestra células Caki 1 tratadas durante cinco semanas con éster de PMPG diisopropiloxi 10 μ M o 20 μ M (N.º ID 142715) (carriles 3 y 4) en comparación con células no tratadas o tratadas con DMSO (carriles 1 y 2).

45 La **Figura 2C** muestra el tratamiento de células A549 durante siete semanas usando éster diisopropiloxi de PMP 10 μ M o 20 μ M (carriles 3 y 4) en comparación con células no tratadas o tratadas con DMSO (carriles 1 y 2). Las células se mantuvieron en presencia de compuesto y se pasaron cuando confluyeron (1-2 X por semana). Se dejó que las células se adhirieran a la placa (18-24 h) antes de añadir el compuesto fresco. El ADN genómico se aisló de las células y se digirieron 3-6 μ g con Hinf I y Rsa I. Las muestras se separaron en un gel de agarosa al 0,8 % (tampón TAE 1X). El gel se transfirió a una membrana de nailon cargada positivamente y se sondó utilizando el kit de ensayo de longitud de telómeros TAGGG (Roche, n.º de cat. 12 209 136 001).

55 El tratamiento de varias células cancerosas *in vitro* durante un período prolongado (4-6 semanas) con el éster diisopropiloxi del ácido profármaco (R)-(((Guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico da como resultado un acortamiento del telómero en aquellas células, demostrando no solo que el éster de diisopropiloxi del ácido (R)-(((guanina-9-ilo)propan-2-oxi)metil) fosfónico se convierte eficientemente en el trifosfato, sino que lo más importante

es que la molécula activa se añade a su sustrato natural (extremos del cromosoma) en las células.

E. Ensayos de tratamiento a largo plazo

- 5 El tratamiento a largo plazo de las células de glioblastoma U87 con éster de diisopropiloxi de PMPG reduce la proliferación celular.

10 Las células de glioblastoma U87 se trataron con éster de diisopropiloxi 10 μM o 20 μM durante 47 días. A la mayor concentración de fármaco, las células dejaron de dividirse y se terminó el experimento. Se muestran las curvas de crecimiento (**Fig. 3A**). En la **Figura 3B**, se sembraron números de células iguales (75.000/pocillo) después de 5 semanas de tratamiento con el fármaco. Se tomaron fotos 6 días después. También se ha observado una reducción en la proliferación celular en las células cancerosas *in vitro*, lo que sugiere que esta reducción en el crecimiento es una consecuencia del acortamiento de los telómeros.

F. Inhibición del crecimiento de tumores humanos en modelos animales

20 Se probarán las capacidades de los compuestos para inhibir el crecimiento de tumores humanos en animales. Los ratones atímicos (nu/nu) se inocularán con células tumorales DU-145 en ambos flancos. Cuando los tumores (dos tumores/ratón) alcanzan un tamaño de 50 - 100 mm^3 , los ratones recibirán la administración oral de éster de diisopropiloxi PMPG diariamente. Se sacrificará a los ratones después de al menos una semana y se evaluará el tamaño de los tumores. Se espera que los ratones tratados con éster de diisopropiloxi PMPG tengan tumores más pequeños que los ratones de control.

Ejemplo 3. Cribado de compuestos en ensayos bioquímicos y celulares

25 El cribado de compuestos múltiples se realizó mediante: (1) evaluación de cada compuesto como un dNTP y determinando su capacidad para servir como un sustrato de telomerasa y terminador de cadena usando un ensayo de extensión de cebadores para la actividad de la telomerasa; (2) si un compuesto era un terminador de cadena, la versión de profármaco de este compuesto se examinó utilizando el ensayo de TRAP *ex vivo* para determinar si puntuaba como un inhibidor de la telomerasa evaluando: (a) si el profármaco podría convertirse en un trifosfato; (b) la CI_{50} celular que utiliza el conjunto de dGTP endógeno; y (c) captación celular. Además, se usaron ensayos celulares a largo plazo para evaluar la capacidad de un compuesto para acortar los telómeros y efectuar la proliferación celular, con: (a) efecto retardado sobre la proliferación y (b) falta de citotoxicidad en células primarias (negativas para telomerasas) o células transformadas en alt como indicadores positivos.

Materiales y procedimientos

A. Primer Ensayo de Extensión para la actividad de la telomerasa

40 La telomerasa humana purificada se incubó con d(TTAGGG)₃ y desoxinucleósidos trifosfatos durante 90 minutos a 37 °C. Todas las reacciones se realizaron en presencia de dTTP 200 μM y dATP 10 μM (50.000 cpm/pmol α -³³P-dATP). La actividad se determinó incubando el extracto de telomerasa purificado por afinidad con 1 μM de cebador [d(TTAGGG)₃], dTTP 200 μM , dGTP 50 μM , dATP 10 μM , 10 μCi [α -³³P] dATP (2000-4000 Ci/mmol) en un tampón que contiene (N-2-hidroxiethylpiperazina-N'-3-propansulfónico)-NaOH 50 mM a pH 8,5, MgCl₂ 1 mM, DTT 1 mM, glicerol al 5 %, EGTA 0,5 mM y KOAc 100 mM en un volumen de reacción final de 40 μl . Los productos de extensión de cebadores se analizaron en un gel de poliacrilamida al 15 % que contenía urea 7M. Una escalera de telomerasa característica tiene múltiples bandas (22 nt + 6n [(TTAGGG)₃TTAG]_n). Si un compuesto no es un sustrato, entonces (TTAGGG)₃TTA (21 nt). Si un compuesto es un terminador de cadena, entonces (TTAGGG)₃TTAG* (22 nt).

B. Ensayo de placa de destello

55 El compuesto se preincubó con extracto de telomerasa purificado por afinidad, Cebador 100 nM [5'biotina-d(AATCCGTCGAGCAGAGTT)], dTTP 120 μM , dGTP 20 μM , dATP 10 μM , en un tampón que contiene acetato de tris 50 mM (pH 8,2), MgCl₂ 1 mM, DTT 1 mM, EGTA 0,5 mM y KOAc 150 mM, [d(CCCTAACCCCTAACCCCTAACCC)] marcado con ³³P 5,4 nM (6 X 10⁹ cpm/nmol) en un volumen de reacción final de 30 μl . Las incubaciones se realizaron durante 90 minutos a 37 °C. Tras la interrupción de la reacción con EDTA (10 mM), los productos de la reacción se capturaron en una FlashPlate de 96 pocillos recubierta con estreptavidina. Después de un período de captura de 2 horas para el cebador, las placas se lavaron cinco veces (2X SSC, 0,1 % de SDS, EDTA 10 mM) y se contaron.

C. Ensayo de fragmentos de repetición de telómeros (TRF)

65 Aproximadamente 1-2 μg de ADN genómico de cada línea celular o tejido fueron digeridos por Hinf/RsaI durante 2 horas a 37 °C. Tras la digestión del ADN, los fragmentos de ADN genómico se separaron en un gel de agarosa al 0,8 % y se transfirieron a una membrana de nailon mediante transferencia. Todos los reactivos de hibridación y detección de membrana se proporcionaron en el kit de ensayo de longitud de telómeros TeloTAGGG (Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania). Las membranas de transferencia se hibridaron con una sonda de PNA marcada con

digoxigenina (DIG) específica para repeticiones teloméricas, seguido de una incubación con anti-DIG-fosfatasa alcalina de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La fosfatasa alcalina se cuantificó utilizando el sustrato quimioluminiscente. Las longitudes de los telómeros se calcularon de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

5 E. Ensayo TRAP ex-vivo

Las células HT3 se trataron durante tres días con concentraciones crecientes de uno o más de los compuestos indicados que varían de 0,2 μM a 20 μM . Las células (HT3 RPMI + 10 % FBS) se incubaron con compuesto durante 24 horas, después de lo cual se añadió el cebador de PSTS (fosforotioato-d (AATCCGTCGAGCAGAGTT que contenía un marcador en 5' de Cy-5) (7,5 μM) y se añadió compuesto fresco durante 24 horas adicionales. Las células se lisaron y la telomerasa endógena se inactivó por calentamiento (15 minutos, 75 °C). Los productos se amplificaron mediante 30 ciclos de PCR en las condiciones de TRAP establecidas en Kim et al., Science 266:2011, 1997 y se cuantificaron.

15 F. Ensayos de tratamiento a largo plazo

Las líneas celulares indicadas se trataron con 10 μM o 20 μM de PMPG profármaco de éster de diisopropiloxi de ácido [(R)- (((Guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico (n.º de ID 142715) durante 47 días. Las células se dividieron cada 5-7 días. A la mayor concentración de fármaco, las células dejaron de dividirse y se terminó el experimento.

20 Resultados

La **Figura 4A** es una fotografía de un gel resultante de un ensayo de extensión de cebador ejecutado en modo de competición. De izquierda a derecha, los carriles 1 y 2 (marcados con "-") muestran una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 3-8 contienen concentraciones crecientes de difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il) propan-2-oxi)metil)fosfónico (R-PMPGpp) (n.º de ID (142692), de 0,25 μM a 50 μM . La molécula compite con dGTP y cuando se mide en un ensayo sin células, utilizando concentraciones de telomerasa y dGTP purificadas de 50 μM , muestra una CI_{50} de aproximadamente 1,0 μM .

La **Figura 4B** muestra la actividad del difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico R-PMPGpp) (n.º de ID 142692). El porcentaje de actividad se determinó en función de los valores obtenidos mediante el análisis PhosphorImager de la intensidad de las bandas de gel en la Figura 4A.

Conjuntamente, las **Figuras 4A y 4B** muestran que R-PMPGpp (n.º de ID 142692) es reconocido eficientemente por la telomerasa humana y se añadió al extremo 3' de un cebador telomérico, dando como resultado la terminación de la cadena.

La **Figura 5** muestra un ensayo Ex Vivo TRAP con un profármaco DE PMPG (n.º DE ID 142715). Se muestran dos resultados de ensayo independientes para el mismo compuesto. Muestra los resultados de un ensayo TRAP *ex vivo*. La inhibición de la telomerasa se observa en las células después de la adición del profármaco PMPG [éster de diisopropiloxi de ácido R-(((guanina-9-ilo) propan-2-oxi)metil)fosfónico) (n.º DE ID 142715). Este compuesto es captado eficientemente por las células, se convierte en el fármaco activo dentro de las células y compite con el grupo de dGTP endógeno.

La **Figura 6** muestra las curvas de crecimiento de las células Caki-1 tratadas con el profármaco PMPG 10 μM o 20 μM éster diisopropiloxi de ácido [R-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico] (n.º de ID 142715). El crecimiento reducido de las células Caki-1 se manifiesta después de una duración similar usando el profármaco PMPG (n.º de ID 142715).

El ácido libre de PMPG (n.º de ID 142693) fue agudamente citotóxico a una concentración de 200 μM , pero mostró una citotoxicidad mínima a dosis terapéuticas (10 μM y 20 μM).

La **Figura 7** muestra las curvas de crecimiento para las células A549 tratadas con el profármaco PMPG 10 μM o 20 μM de éster diisopropiloxi de ácido [R-(((Guanina-9-il)propan-2-oxi)metil)fosfónico (n.º de ID 142715) comparado con Imetelstat 5 μM o 10 μM (163 l). La inhibición del crecimiento se observa en las células A549, aunque con un retraso significativo. Estos resultados sugieren que el crecimiento celular se vio afectado por el desgaste relacionado con los telómeros en lugar de la citotoxicidad.

La **Figura 8A** es una fotografía de un gel resultante de un ensayo de extensión de cebadores. De izquierda a derecha, el carril 1 (marcado con "-") muestra una escalera característica de 6 nucleótidos. Los carriles 2-5 contienen concentraciones crecientes de difosfato de ácido (R)-(((Guanina-9-il) propan-2-oxi)metil)fosfónico (R-PMPGpp) (n.º de ID 142692), de 0,4 μM a 50 μM . Los carriles 6-9 contienen de 0,4 μM a 50 μM de PMIBeGpp (n.º DE ID 142810).

La **Figura 8B** muestra la inhibición de la dosis de telomerasa de respuesta a la dosis para R-PMPGpp (n.º de ID 142692) en comparación con PMIBeGpp (n.º de ID 142810). El porcentaje de actividad se determinó en función de los valores obtenidos mediante el análisis PhosphorImager de la intensidad de las bandas de gel en la Figura 8A. PMIBeG es aproximadamente dos veces menos potente que R-PMPGpp.

El ácido libre de PMIBeG [ácido (((2 - ((2-amino-6-oxo-1H-purin-9 (6H) -il)metil)alil)oxi)metil) fosfónico] (n.º de ID 142811) es menos citotóxico que PMPG, y no mostró ningún efecto en el cultivo de tejidos a concentraciones de 200 µM cuando se probó en células RPE-64-tv.

5 La **Figura 9** muestra las curvas de crecimiento para las células Caki-1 tratadas con éster diisopropiloxi de PMIBeG 10 o 20 µM (n.º de ID 142820) o ácido libre de PMPG (N.º de ID 142693). El éster diisopropiloxi de PMIBeG reduce el crecimiento de células cancerosas similar al ácido libre de PMPG.

10 La **Figura 10** muestra el gel resultante de un ensayo de fragmentos de repetición de telómeros utilizando células A549. El carril 1 es una escalera de 21,2 kb a 1,9 kb. Los carriles 2 y 3 tienen 10 µM y 5 µM, respectivamente, de ácido libre de PMPG (n.º DE ID 142693). Los carriles 4 a 6 tienen 10 µM, 5 µM y 2,5 µM, respectivamente, del profármaco PMPG (n.º de ID 142715). El carril 7 tiene 2 µM de Imetelstat (163 I). El carril 8 tiene 2 µM de un apareamiento incorrecto. Los carriles 9 y 10 tienen 20 µM y 10 µM, respectivamente, del ácido libre de PMIBeG [(((2 - ((2-amino-6-oxo-1H-purin-9 (6H)-il)metil)alil)oxi)metil) fosfónico] (n.º DE ID 142811). Las cantidades indicadas de cada compuesto se añadieron a las células A549. Después de aproximadamente 70 duplicaciones de población, se cosecharon las células y las longitudes de los telómeros se determinaron utilizando TRF. Las longitudes promedio estimadas de los telómeros fueron: (1) Control de MM/apareamiento incorrecto: 7 kb; (2) Imetelstat/163 I: 4,3 kb; (3) profármaco PMPG (10 µM y 5 µM): 4 kb; (4) ácido libre de PMPG (5 µM y 10 µM): 4 kb; (5) profármaco PMIBeG (50 µM): 4,3 kb; (6) ácido libre de PMIBeG (20 µM): 5 kb.

25 Se realizaron ensayos de fragmentos de repetición de telómeros utilizando células U87 inmortales. Se añadieron a las células un profármaco PMIBeG 10 µM o 20 µM (N.º de ID 142820) o un profármaco PMPG (N.º de ID 142715). Se usó Imetelstat (163 I) como referencia y se utilizó un apareamiento incorrecto como control negativo. Después de aproximadamente 20 duplicaciones de población, se cosecharon las células y las longitudes de los telómeros se determinaron utilizando TRF. Las longitudes promedio estimadas fueron: (1) control de apareamiento incorrecto: 5 kb; (2) Imetelstat (163 I): 3,5 kb; (3) Profármaco PMIBeG (n.º de ID 142820) a 20 µM: 4 kb; (4) Profármaco PMIBeG (n.º de ID 142820) a 10 µM: 4,1 kb; (5) Profármaco PMPG (n.º de ID 142715): 3,5 kb.

30 Las curvas de crecimiento se prepararon utilizando células U87 inmortales tratadas con: Profármaco PMIBeG 10 µM o 20 µM (n.º ID 142820), Profármaco PMPG 10 µM o 20 µM (N.º de ID 142715) o Imetelstat 2 µM (163 I). Las células U87 para los ensayos de TRF se recolectaron después de aproximadamente 20 duplicaciones de la población acumulada. El profármaco PMPG dio como resultado un crecimiento reducido de células U87 inmortales en las concentraciones de 20 µM y 10 µM.

35

Ejemplo 4: Inhibición del crecimiento de tumores humanos en modelos animales

Materiales y procedimientos

40 Las células Caki-1 de pase bajo se inyectaron por vía subcutánea en el flanco de ratones SCID sin pelo exogámicos (SHO) que recibieron 30 mg/kg de uno de los siguientes mediante inyección intraperitoneal: vehículo (PBS con un 0,4 % de Tween 20), Imetelstat (163 I), ácido libre de PMPG (n.º de ID 142693) o profármaco de PMPG (n.º de ID 142715). Los calibradores se utilizaron para medir la longitud y el ancho del tumor dos veces por semana, y se calculó el volumen del tumor. Una vez que un tumor creció a > 50 mm³, el animal entró al azar en un grupo de estudio, de control o de tratamiento. Los animales recibieron 30 mg/kg de compuesto por inyección intraperitoneal durante la duración del estudio. El vehículo de control fue PBS con un 0,4 % de Tween 20. El volumen del tumor se midió cada dos semanas y se sacrificó a los animales cuando el tamaño del tumor era > 2000 mm³ o en la fecha definida de finalización del estudio.

50 Al final del estudio, se realizó una transformación lineal de las curvas de crecimiento tumoral. La pendiente de las curvas de crecimiento para cada grupo de tratamiento se derivó utilizando un modelo lineal de efectos mixtos. La intersección con Y se usó para confirmar el tamaño de inicio del tumor al azar en el momento en que los animales entraron en el estudio.

Resultados

60 La **Figura 11** muestra la gráfica de las curvas de crecimiento ajustadas (día de Imetelstat < 41) obtenidas cuando se inyectaron células Caki-1 de pase bajo por vía subcutánea en el flanco de ratones SCID sin pelo exogámicos (SHO) que recibieron 30 mg/kg de vehículo (PBS con 0,4 % de Tween 20), Imetelstat, ácido libre de PMPG (N.º de ID 142693) o profármaco de PMPG (N.º de ID 142715) mediante inyección intraperitoneal. El ácido libre de PMPG (N.º de ID 142693) e Imetelstat (163 I) utilizados como referencia mostraron una reducción en el crecimiento del tumor en comparación con un control de vehículo. El nivel de reducción observado es consistente con los efectos de sorafenib y sunitinib, ambos utilizados actualmente como terapias dirigidas para el cáncer de riñón (véase Miyake et al., Oncology Letters, Vol. 3: 1195-1202 (2012)). El profármaco PMPG (n.º de ID 142715) y el vehículo no se podían distinguir en el crecimiento del tumor.

65

Los datos del volumen del tumor (en mm³) se encuentran en la Tabla 5 a continuación.

Tabla 5

Día/Tratamiento	10	20	30	40	50	60
Vehículo	181,3	398,7	743,7	1245,8	1934,4	2839,2
Imetelstat	146,0	293,5	517,0	832,2	1254,8	1800,7
Ácido libre de PMPG (referencia)	165,1	330,8	581,3	934,3	1407,2	2017,6
Profármaco PMPG (referencia)	170,7	377,5	706,6	1186,6	1845,9	2713,0

- 5 Los datos del volumen tumoral, expresado como porcentaje del volumen del tumor para los ratones inyectados con el vehículo de control, se enumeran en la Tabla 6 a continuación.

Tabla 6

Día/Tratamiento	10	20	30	40	50	60
Vehículo	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Imetelstat	81 %	74 %	70 %	67 %	65 %	63 %
Ácido libre de PMPG (referencia)	91 %	83 %	78 %	75 %	73 %	71 %
Profármaco PMPG (referencia)	94 %	95 %	95 %	95 %	95 %	96 %

- 10 La Tabla 7 a continuación muestra que las curvas de crecimiento transformadas lineales para Imetelstat (163L) y PMPGFree (n.º de ID 142693), como se muestra en la Figura 11, mostraron cambios de pendiente estadísticamente significativos. La pendiente/intersección basal fue de 0,0000. La variabilidad tumoral de partida fue insignificante.

Tabla 7

		Coeficiente	Error estándar	P
Vehículo	Intersección	3,960	0,131	0,0000
	Pendiente	0,169	0,009	0,0000
Intersección	Imetelstat	-0,074	0,190	0,6969
	PMPGFree (referencia)	0,096	0,185	0,6054
	Profármaco PMPG (referencia)	-0,093	0,187	0,6204
Pendiente	Imetelstat	-0,032	0,014	0,0232
	PMPGFree (referencia)	-0,027	0,013	0,0395
	Profármaco PMPG (referencia)	-0,001	0,013	0,9219

- 15 La Tabla 8 a continuación enumera los valores de CE₅₀ tanto para ácido libre de PMPG (n.º de ID 142693) como para el profármaco PMPG (n.º de ID 142715).

Tabla 8

Compuesto	CE50 (µM)
Ácido libre de PMPG (referencia)	11,7
Ácido libre de PMPG (referencia)	2,5
Ácido libre de PMPG (referencia)	1,5
Profármaco PMPG (referencia)	1,2

(continuación)

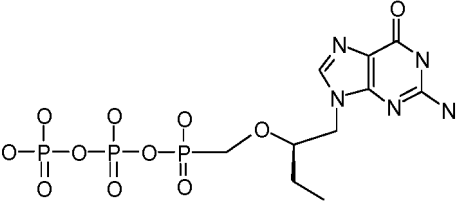
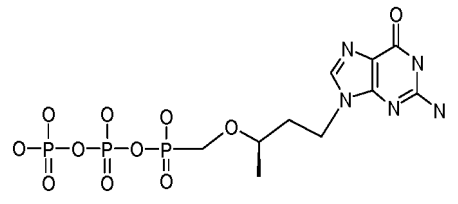
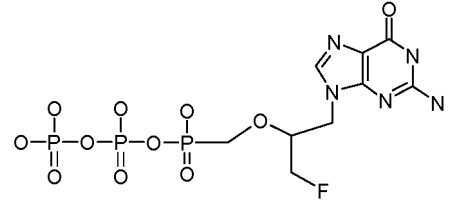
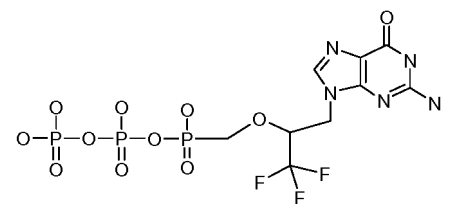
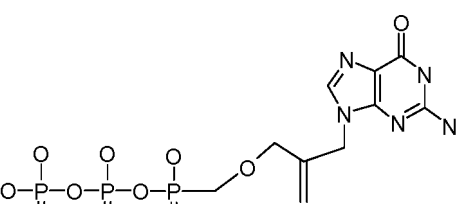
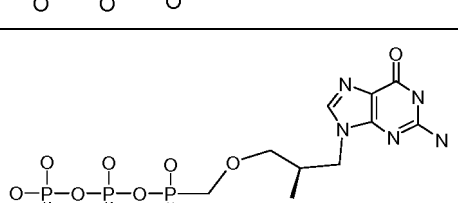
Compuesto	CE50 (µM)
Profármaco PMPG (referencia)	3,1
Profármaco PMPG (referencia)	0,81
Profármaco PMPG (referencia)	1,1

La tabla 9 enumera el nombre, el valor de la CE₅₀ (µM) determinado por el ensayo de extensión del cebador, número de identificación, estructura química y notas aplicables a los compuestos filtrados.

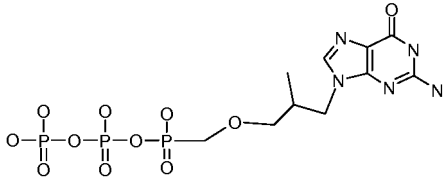
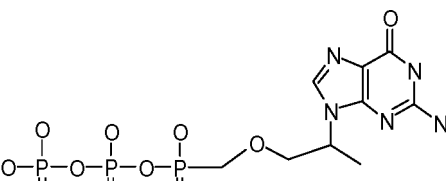
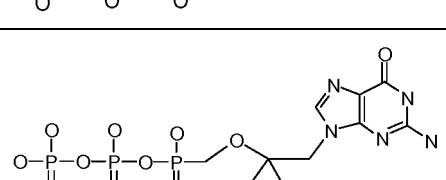
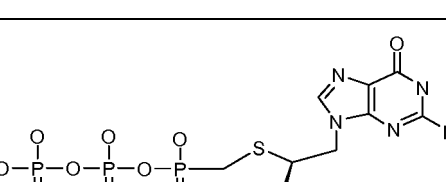
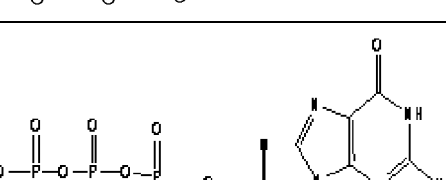
5

Tabla 9				
Nombre	Ext. de cebadores Ensayo CE ₅₀ (mM)	ID del compuesto	Estructura química	Ext. de cebadores Notas de ensayo
Ácido libre de PMPG, Forma R (referencia)	0,5-1,2	142692		Terminador de cadena.
6-tio-G-fosfonato (6-S-PMPG), Forma R (referencia)	13,5	142761		Terminador de cadena. Afinidad similar a la PMPG en un ensayo de adición de un solo nucleótido.
Ácido libre de PMPG, Forma S (referencia)		142751		Terminador de cadena débil.
6-S-PMPG (S) (referencia)		142752		Terminador de cadena débil.
PMPG (lin) (referencia)	1,5	142848		Terminador de cadena. Aproximadamente 2 veces menos potente que PMPG.

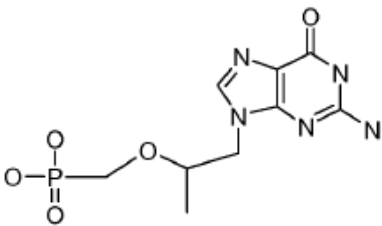
(continuación)

Tabla 9				
Nombre	Ext. de cebadores Ensayo CE ₅₀ (mM)	ID del compuesto	Estructura química	Ext. de cebadores Notas de ensayo
PM (3) BG (referencia)	10	142916		
PM (2) BG (referencia)	> 60	142915		
FPMPG (referencia)	7,5	142856		Terminador de cadena.
TFPMPG (referencia)		142850		Terminador de cadena débil.
PMIBeG, ácido libre (referencia)	1,4	142810		Terminador de cadena.
PMIBaG, Forma R (referencia)		142860		Terminador de cadena débil.

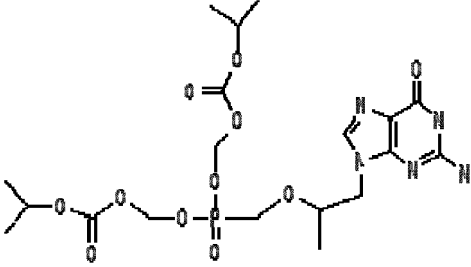
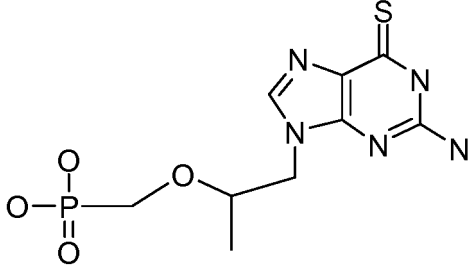
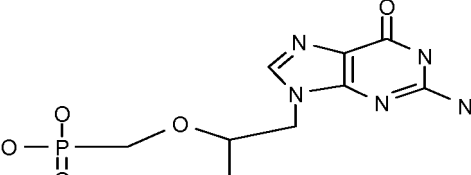
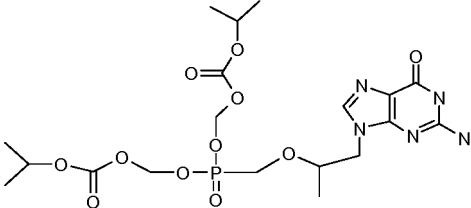
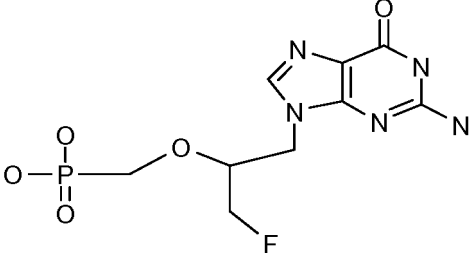
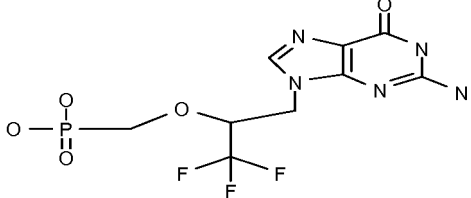
(continuación)

Tabla 9				
PMIBaG (mezcla R, S) (referencia)	4,4	142846		Terminador de cadena.
PMP (2) G (referencia)	3,1	142879		Terminador de cadena.
PMPG (dimetilo) (referencia)		142891		Terminador de cadena débil.
mercapo- PMPG, Forma R (referencia)		142823		Terminador de cadena débil.
PMIBaG, Forma R (referencia)		142860		Terminador de cadena débil.

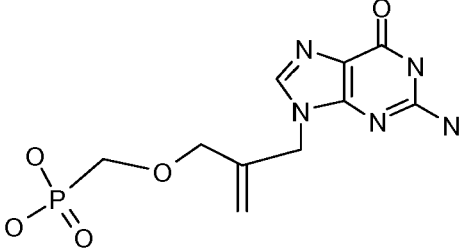
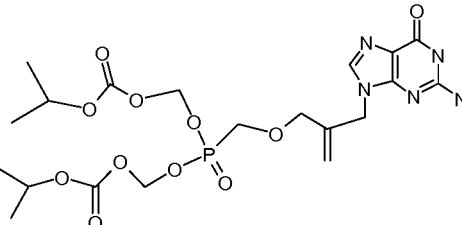
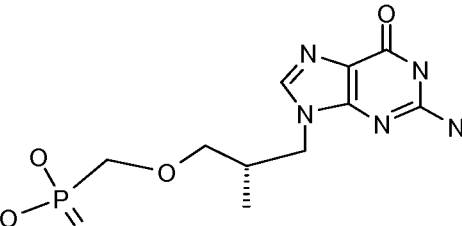
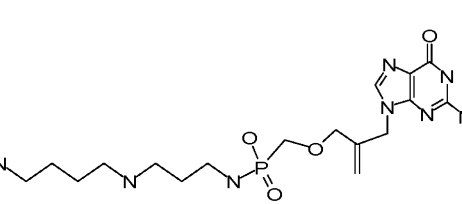
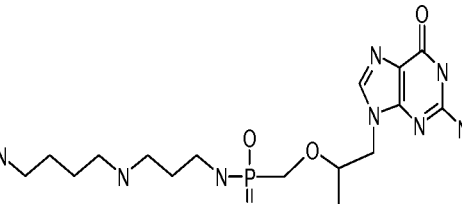
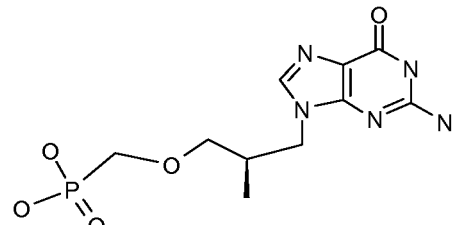
La Tabla 10 enumera el número de identificación (ID) del compuesto, CE₅₀ según lo determinado por el ensayo TRAP Ex Vivo, Estructura química, y notas aplicables a compuestos filtrados.

Nombre	ID del compuesto	TRAP Ex Vivo CE ₅₀ (µM) - Ensayo de 3 días	Estructura química
Ácido libre de PMPG, Forma R (referencia)	142693	11,7	

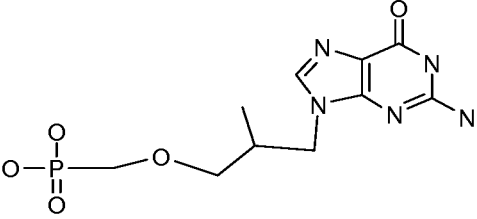
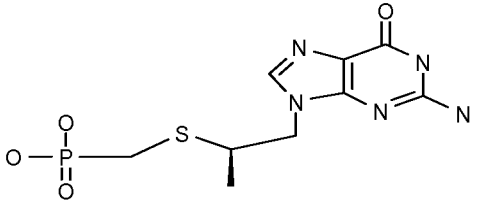
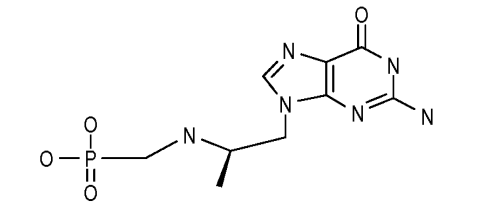
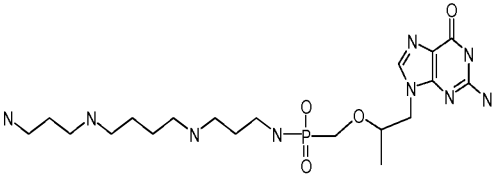
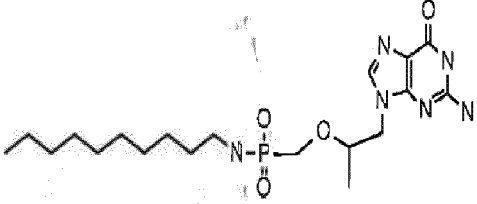
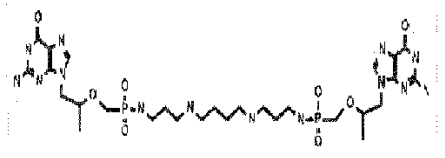
(continuación)

Nombre	ID del compuesto	TRAP Ex Vivo CE ₅₀ (µM) - Ensayo de 3 días	Estructura química
Profármaco PMPG, Forma R (referencia)	142715	1,2- 3,1	
6-tio-G-fosfonato (6-S-PMPG), Forma R (referencia)	142694	7,54	
Ácido libre de PMPG, Forma S (referencia)	142753		
Profármaco PMPG, Forma S (referencia)	142748		
FPMPG (referencia)	142855		
TFPMPG (referencia)	142834		

(continuación)

Nombre	ID del compuesto	TRAP Ex Vivo CE ₅₀ (µM) - Ensayo de 3 días	Estructura química
Ácido libre de PMIBeG (referencia)	142811	2,6	
PMPeG, profármaco (referencia)	142820	3,9- 17,8	
Enantiómero S saturado de fosfonato de PMIBeG (referencia)	142866		
Espermidina PMIBeG (referencia)	142873	6,7	
Espermidina PMPG, Forma R	142812	5,0	
PMIBaG, Forma R (referencia)	142859		

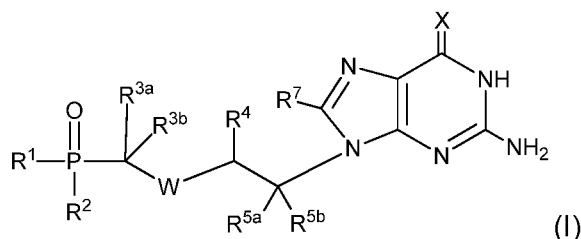
(continuación)

Nombre	ID del compuesto	TRAP Ex Vivo CE ₅₀ (µM) - Ensayo de 3 días	Estructura química
PMIBaG (mezcla R, S) (referencia)	142844		
mercapo-PMPG, Forma R (referencia)	142821		
1101C compuesto B, (referencia)	142824		
PMPG espermina, Forma R	142779		
Amidato de PMPG-C10	142962	1,44	
bis-PMPG espermina (referencia)	142942	1,84	

Los ejemplos, que pretenden ser puramente de ejemplo de la divulgación y, por tanto, no deben considerarse como limitantes de la divulgación de ninguna manera, también describen y detallan aspectos y realizaciones de la divulgación tratada anteriormente. Los ejemplos anteriores y la descripción detallada se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación. Aunque la divulgación anterior se ha descrito con cierto nivel de detalle a modo de ilustración y ejemplo a efectos de claridad de comprensión, será fácilmente evidente para aquellos expertos habituales en la materia ante las enseñanzas de la presente invención que pueden realizarse determinados cambios y modificaciones a la misma.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



5

o una sal, un hidrato, un solvato o un tautómero del mismo;
en la que:

- 10 R^1 y R^2 se seleccionan independientemente entre $-NR^{1a}R^{1b}$ y $-OR^{1c}$;
 R^{1a} y R^{1b} se seleccionan independientemente de entre hidrógeno, alquilo C_{1-20} opcionalmente sustituido, poliamina y $-\text{CH}(R^{1d})-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{1e}$, en donde alquilo, si está sustituido, está sustituido con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina;
15 R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo y heteroarilalquilo sustituido; en donde alquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo y heteroarilalquilo, si están sustituidos, están independientemente sustituidos con halo, hidroxilo, éter, alcoxi C_{1-7} , oxo, formilo, acilo, carboxi, éster, aciloxi, oxicarbonilo, amido, acilamido, amino o poliamina;
20 R^{1e} es hidrógeno o alquilo C_{1-6} ;
 R^{1c} se selecciona entre hidrógeno, alquilo y arilo; en donde al menos uno de R^1 y R^2 es $-NR^{1a}R^{1b}$;
 R^{3a} y R^{3b} se seleccionan independientemente de hidrógeno y halo;
W es O, S o NH;
 R^4 se selecciona entre $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$ y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en donde alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 o halógeno;
25 R^{5a} y R^{5b} se seleccionan independientemente entre hidrógeno, $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 , $-\text{CH}=\text{CH}_2$ y alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en donde alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, N_3 o halógeno;
 R^7 es hidrógeno o flúor; y
X es O, S o NH.
- 30 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula (I) es el enantiómero (R) enriquecido o aislado en el estereocentro portador de R^4 .
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^4 es $-\text{OH}$.
- 35 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^4 es alquilo C_{1-2} opcionalmente sustituido, en donde alquilo, si está sustituido, está sustituido con $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$ o N_3 .
5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^4 es alquilo C_{1-2} .
- 40 6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:
- R^4 se selecciona de entre $-\text{NH}_2$ y N_3 ; o
 R^4 es $-\text{CH}=\text{CH}_2$.
- 45 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:
- R^1 es diferente de R^2 ; o
uno de R^1 y R^2 lleva una carga positiva y el otro lleva una carga negativa.
- 50 8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^1 es $-NR^{1a}R^{1b}$ y R^2 es OR^{1c} .
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, en la que:
- 55 uno de R^{1a} y R^{1b} es alquilo C_{1-20} ; y R^2 es $-\text{OH}$; o
uno de R^{1a} y R^{1b} es una poliamina; y R^2 es $-\text{OH}$; o
uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}(\text{CH}_2)_n\text{NHR}^x$; en donde R^x es hidrógeno o $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$; y n es independientemente un número de 2 a 4; o
uno de R^{1a} y R^{1b} es $-(\text{CH}_2)_n\text{NHR}^x$; en donde R^x es hidrógeno o $-(\text{CH}_2)_n\text{NH}_2$; y n es independientemente un número

de 2 a 4; o
 uno de R^{1a} y R^{1b} es -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}, y R² es OH.

- 5 10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, en el que:
 uno de R^{1a} y R^{1b} es -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e}, y R² es OH;
 y en donde:
 R^{1d} se selecciona entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, heteroarilo y heteroarilo sustituido; o R^{1d} es una
 10 cadena lateral de aminoácido cargada positivamente; o
 -CH(R^{1d})-C(O)OR^{1e} es un aminoácido seleccionado de lisina, arginina e histidina.
11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que:
 15 R^{3a} y R^{3b} son hidrógeno; o
 uno de R^{3a} y R^{3b} es halo.
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W es O.
13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^{5a} y R^{5b} son hidrógeno.
 20
14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R⁷ es hidrógeno.
15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R⁷ es flúor.
- 25 16. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde X es O.
17. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las
 reivindicaciones 1 a 16 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 30 18. Un procedimiento no terapéutico para inhibir el alargamiento de los telómeros, que comprende poner en contacto
 una célula, *in vitro*, con un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición
 farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 17.
- 35 19. Un procedimiento no terapéutico para acortar la longitud del telómero en una célula o un tejido, que comprende
 poner en contacto la célula o el tejido, *in vitro*, con un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones
 1 a 16 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 17.
- 40 20. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición farmacéutica de
 acuerdo con la reivindicación 17 para usar en un procedimiento de tratamiento de un trastorno de proliferación celular
 en un individuo,
 opcionalmente en donde el trastorno proliferativo celular es:
 45 cáncer;
 cáncer metastásico; o
 un cáncer de piel, tejido conjuntivo, tejido adiposo, mama, pulmón, hígado, estómago, páncreas, ovario, cuello del
 útero, útero, riñón, vejiga, colon, colorrectal, próstata, sistema nervioso central (SNC), cerebro o retina, o un tumor
 hematológico (por ejemplo, mieloma, leucemia y linfoma).
- 50 21. Un compuesto o una composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 20, en donde el
 compuesto o la composición farmacéutica se administran por vía oral, intraarterial, intranasal, intraperitoneal,
 intravenosa, intramuscular, subcutánea o transdérmica.

Figura 1

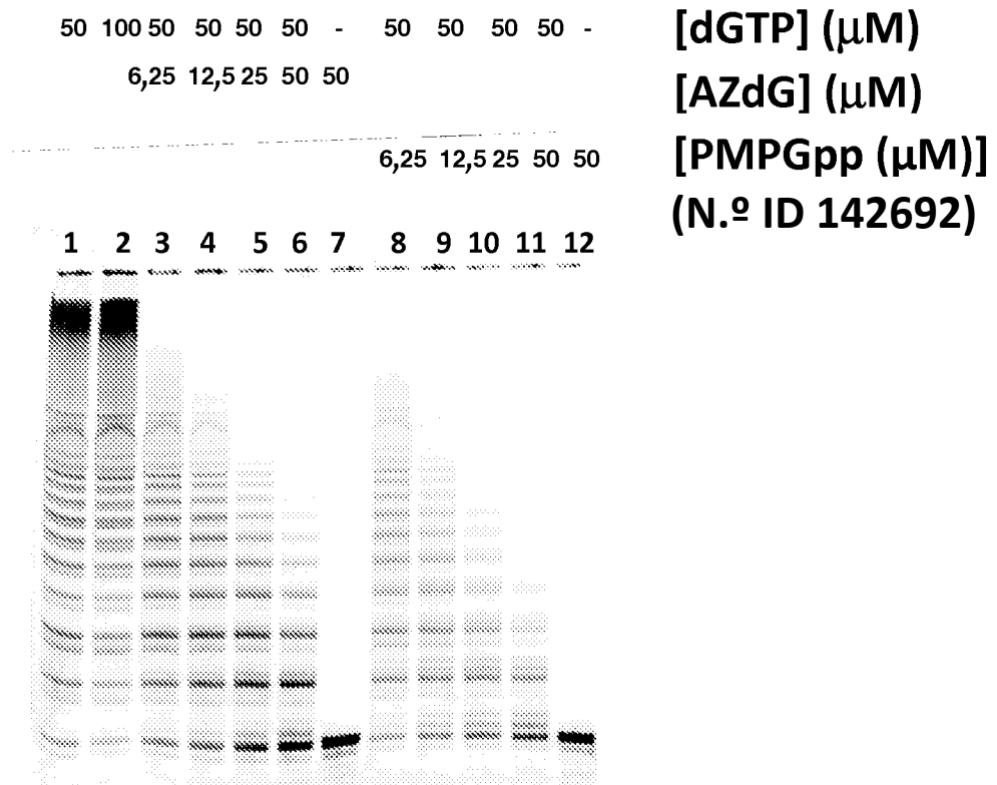
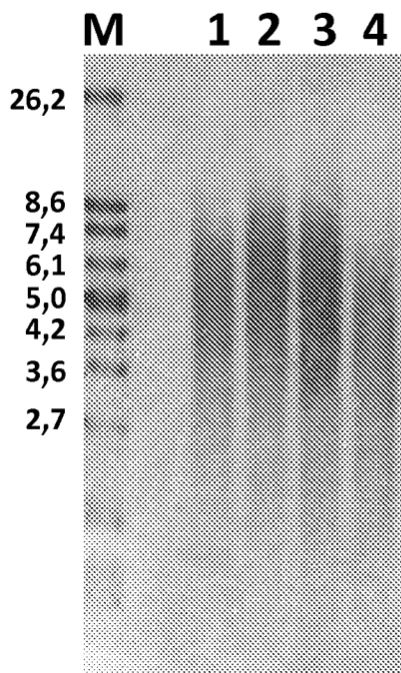
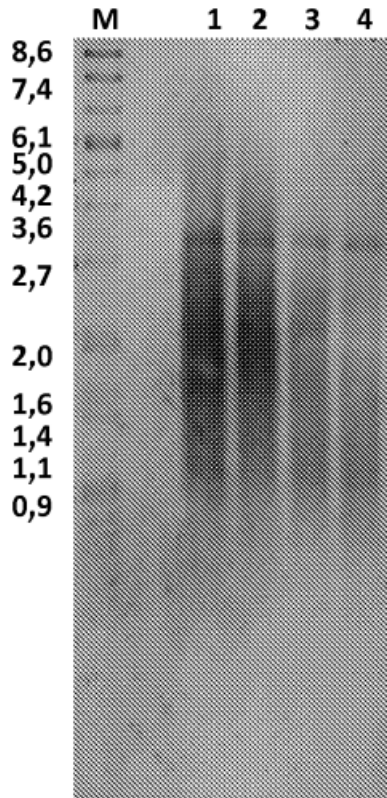


Figura 2A



- M - Marcadores del tamaño (kb)**
- 1 - Sin tratar**
- 2 - Compuesto 551 (20 μ M)**
- 3 - Compuesto 601 (20 μ M)**
- 4 - Éster de PMPG diisopropiloxi (20 μ M) (N.º ID 142715)**

Figura 2B



M - Marcadores del tamaño (kb)

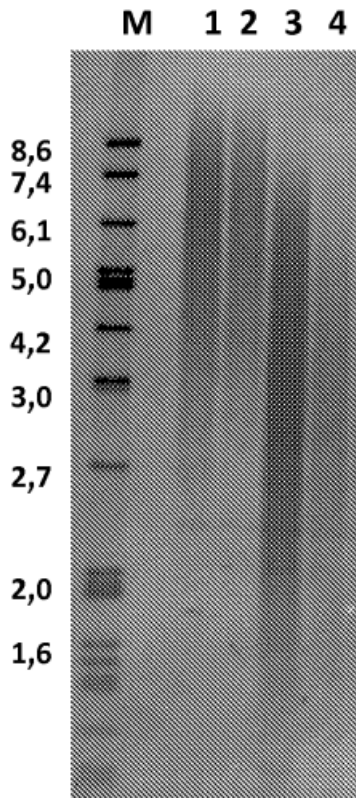
1 - Sin tratar

2 - DMSO al 0.5 %

**3 - Éster de PMPG diisopropiloxi
(10 μM) (N.º ID 142715)**

**4 - Éster de PMPG diisopropiloxi
(20 μM) (N.º ID 142715)**

Figura 2C



M - Marcadores del tamaño (kb)

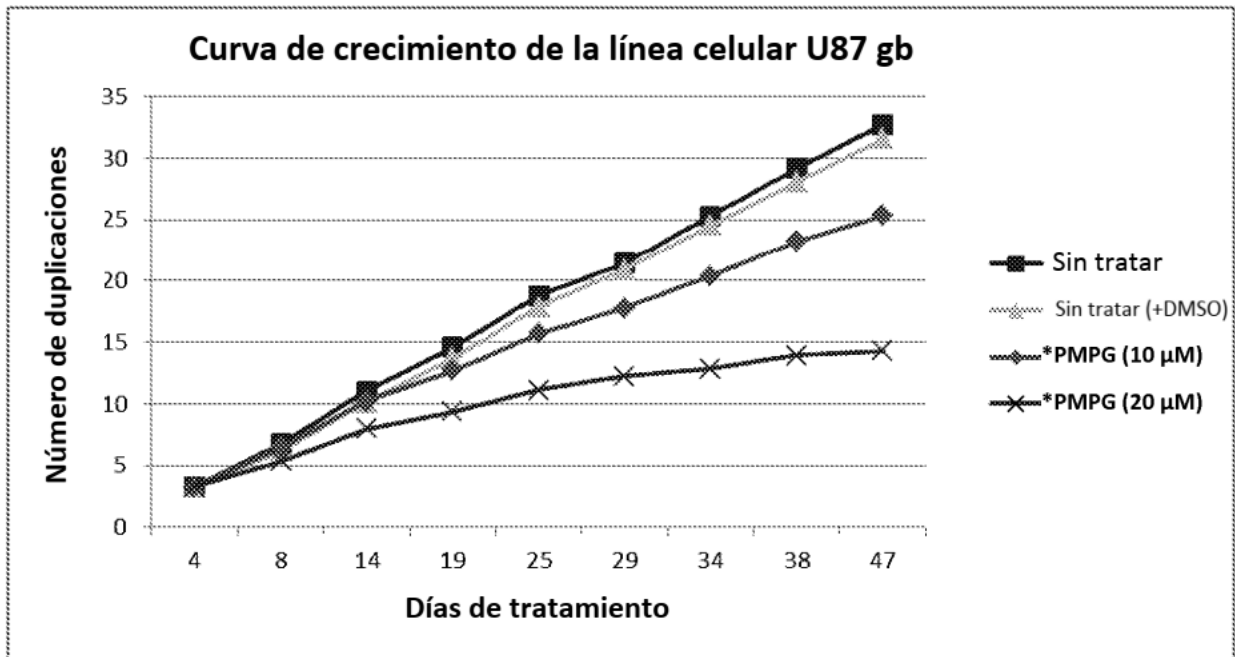
1 - Sin tratar

2 - DMSO al 0,5 %

**3 - Éster de PMPG diisopropiloxi
(10 µM) (N.º ID 142715)**

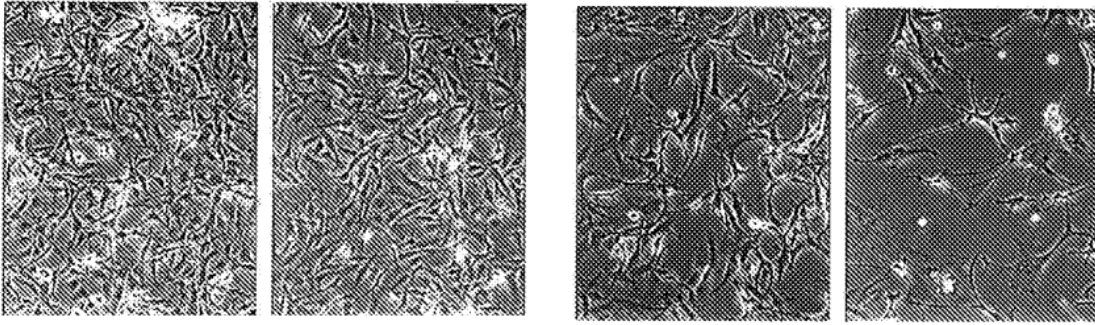
**4 - Éster de PMPG diisopropiloxi
(20 µM) (N.º ID 142715)**

Figura 3A



*Éster de PMPG diisopropiloxi (N.º ID 142715)

Figura 3B



Sin tratar

**Sin tratar + DMSO
al 0,5 %**

***PMPG (10 μ M)**

***PMPG (20 μ M)**

***Éster de PMPG diisopropiloxi (N.º ID 142715)**

Figura 4A

Concentración (μM) - - 0,25 0,5 2,5 10 25 50
PMPGpp
(N.º ID 142692)

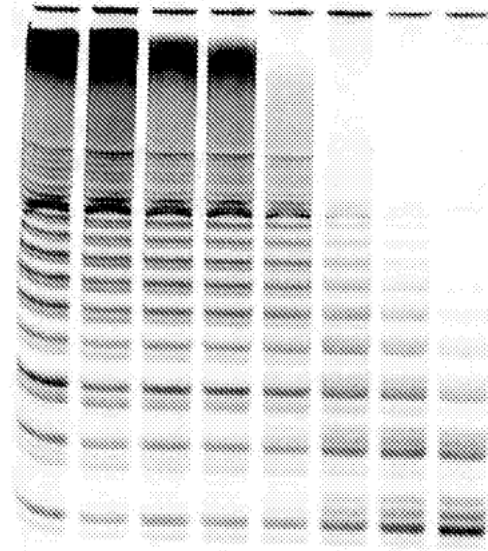
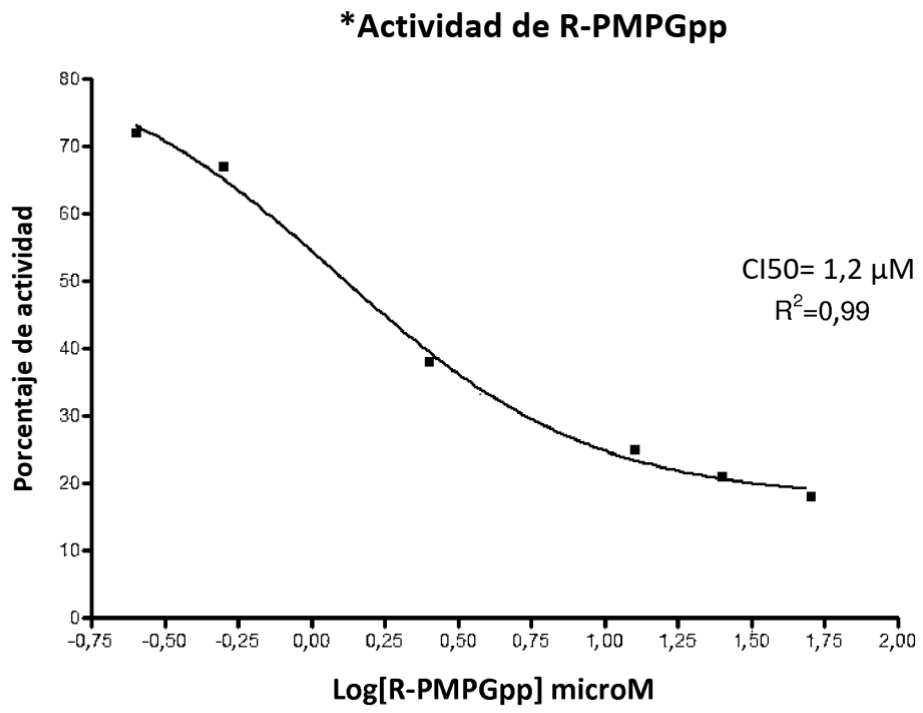


Figura 4B



*(N.º ID 142692)

Figura 5

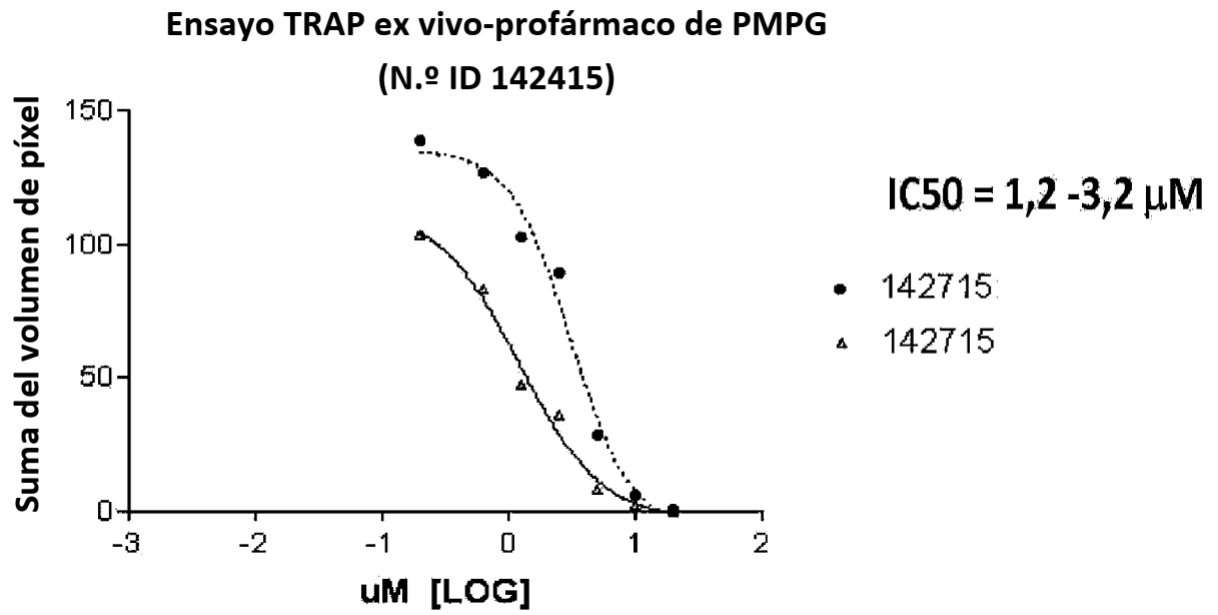
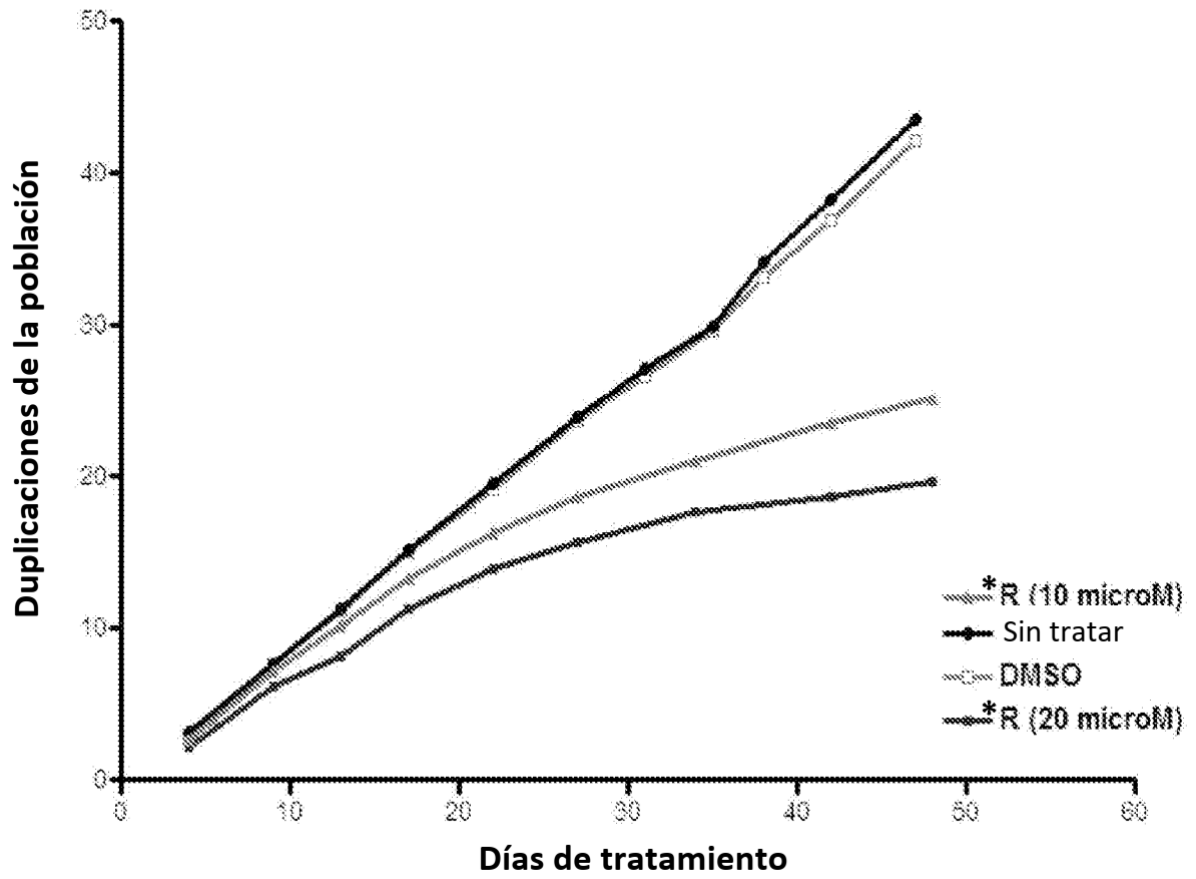


Figura 6

Curva de crecimiento de las células Caki-1 tratadas con PMPG



*R = Éster de PMPG diisopropiloxi (N° ID 142715)

Figura 7

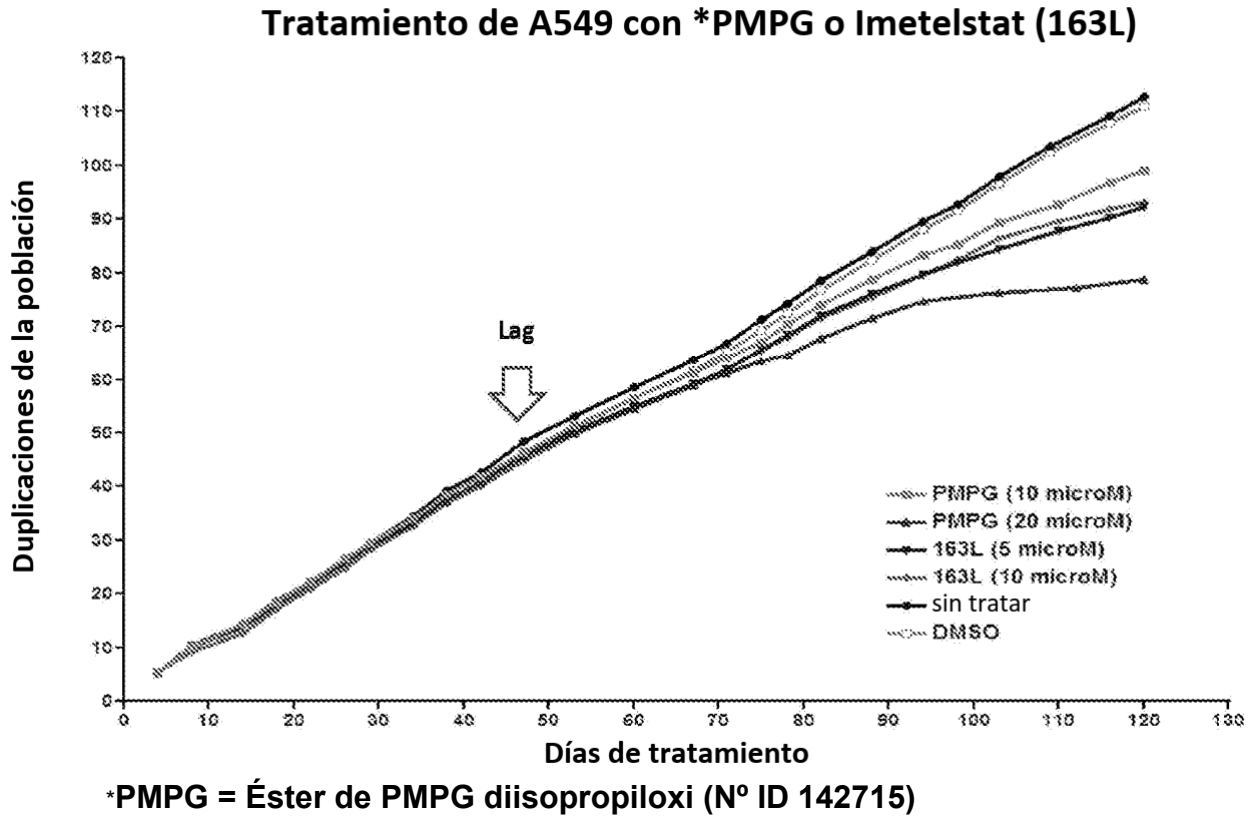


Figura 8A

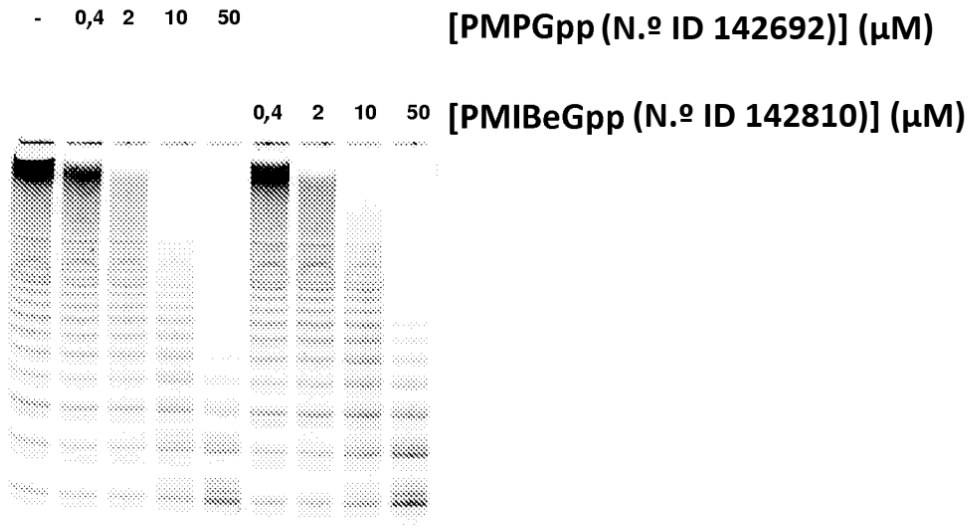


Figura 8B

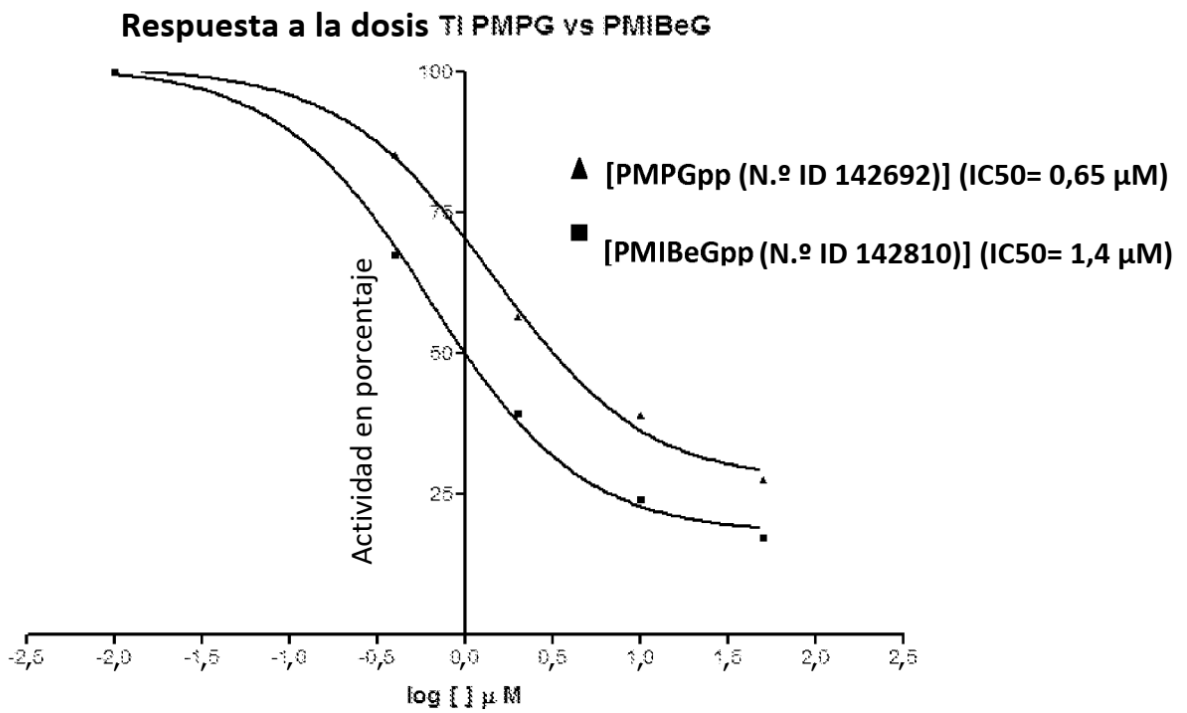
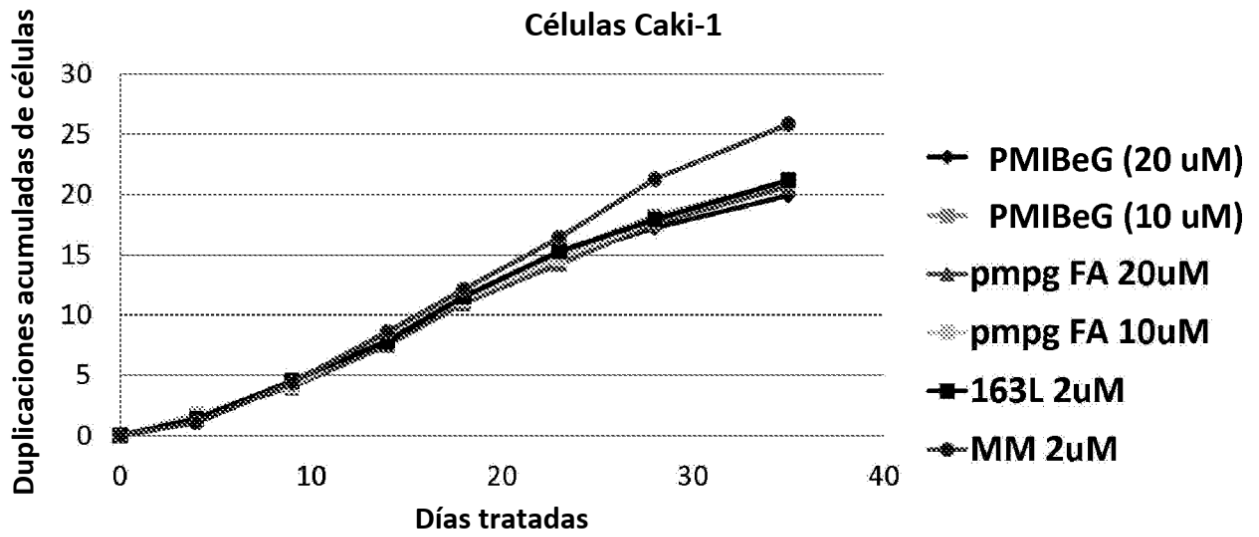


Figura 9



*PMIBeG = PMIBeG (N.º ID 142820)

AL pmpg= Ácido libre de PMPG (N.º ID 142693)

Figura 10

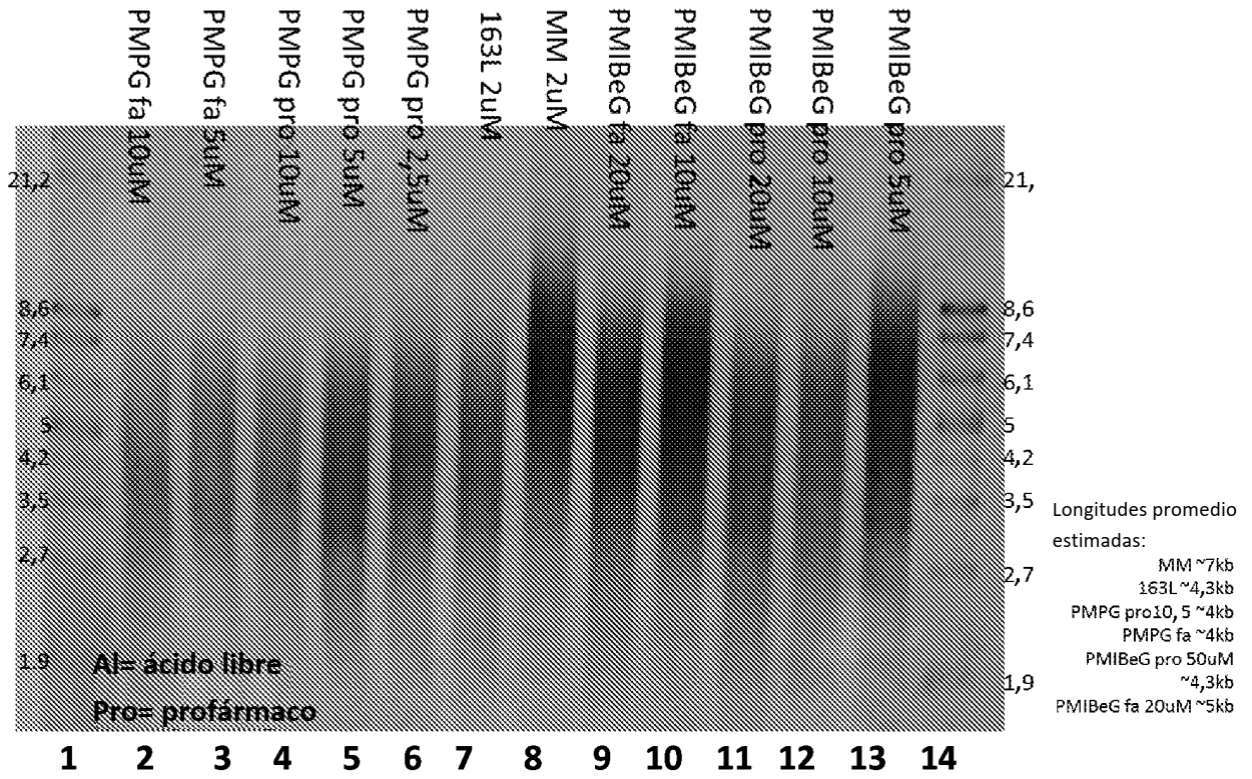
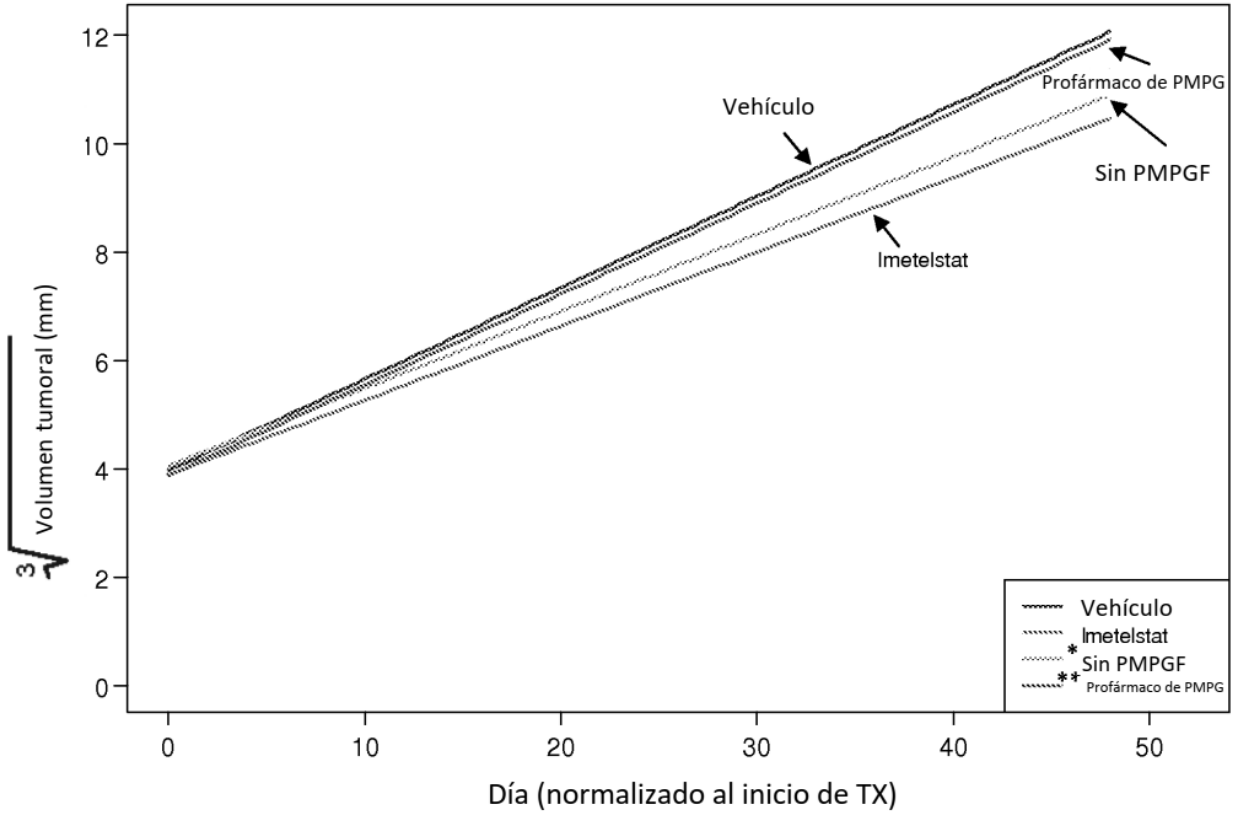


Figura 11

Curvas de crecimiento ajustadas de Caki 1 (Imetelstat Día < 41)



* = Ácido libre de PMPG (N.º ID 142693)

** = Éster de PMPG diisopropiloxi (N.º ID 142715)