

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 796 089**

51 Int. Cl.:

C07D 405/04 (2006.01)

C07F 9/24 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.08.2015 PCT/EP2015/069370**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2016 WO16030335**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2015 E 15756888 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.04.2020 EP 3186244**

54 Título: **Análogos de dioxano de uridina para el tratamiento de cáncer**

30 Prioridad:

25.08.2014 SE 1450983

22.06.2015 SE 1550858

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

25.11.2020

73 Titular/es:

MEDIVIR AKTIEBOLAG (100.0%)

P.O. Box 1086

141 22 Huddinge, SE

72 Inventor/es:

BETHELL, RICHARD;

ENEROTH, ANDERS;

KLASSON, BJÖRN y

ÖBERG, FREDRIK

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 796 089 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 dioxano de uridina para el tratamiento de cáncer

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a profármacos de fósforo de troxacitabina y derivados de los mismos que son útiles en el tratamiento de cánceres, en particular el cáncer de hígado, como el carcinoma hepatocelular (CHC) y cánceres de hígado secundarios. La invención se refiere además a composiciones y combinaciones que comprenden estos compuestos y a procedimientos para su uso en el tratamiento de cánceres, particularmente cáncer de hígado tal como CHC.

Antecedentes de la Invención

15 El cáncer primario de hígado es el sexto cáncer más frecuente a nivel mundial y la segunda causa principal de muerte por cáncer. El cáncer más frecuente de hígado, que representa aproximadamente el 85 % de todos los cánceres de hígado primarios malignos y tiene una incidencia creciente, es el carcinoma hepatocelular (CHC), que es formado por hepatocitos que se vuelven malignos. Otro tipo de cáncer formado por hepatocitos es el hepatoblastoma, un tumor maligno raro que se desarrolla principalmente en niños, y representa aproximadamente el 1 % de todos los cánceres en niños y el 79 % de todos los cánceres de hígado primarios en menores de 15 años. El cáncer de hígado secundario, o metástasis en el hígado, es un cáncer que comienza en alguna parte del cuerpo y luego se extiende al hígado. Ejemplos de cáncer de hígado secundario incluyen muchos tipos comunes de cáncer, como el de colon, recto, pulmón, y cáncer de mama. El cáncer de hígado puede formarse también a partir de otras estructuras dentro del hígado tales como el conducto biliar, los vasos sanguíneos y células inmunes. El cáncer de los conductos biliares (colangiocarcinoma y cistadenocarcinoma colangiocelular) representan aproximadamente el 6 % de los cánceres de hígado primarios.

Aunque la resección quirúrgica y el trasplante hepático son tratamientos potencialmente curativos para CHC en etapas tempranas, más del 20 % de los pacientes con el tiempo tendrán recaída o encontrarán más problemas, y la mayoría de los diagnósticos de CHC ocurren en una etapa que está demasiado avanzada para estos tratamientos. Terapias regionales, tales como la ablación por radiofrecuencia, se asocian con tasas de respuesta superiores a 60 %, pero sólo son adecuadas para una cierta proporción de los pacientes y no siempre son curativas. La quimioterapia, utilizada hasta ahora, ha sido poco eficaz en el CHC y las tasas de respuesta hasta la fecha no han superado el 25 %. En la actualidad, el sorafenib es el único fármaco eficaz en el mercado para el tratamiento del CHC avanzado o no resecable, por lo tanto, hay una gran necesidad de nuevos tratamientos de CHC para reducir las tasas de recaída y aumentar las tasas de supervivencia global.

Se ha encontrado que muchos análogos de nucleósidos poseen actividad anticáncer y constituyen una clase importante de agentes quimioterapéuticos que se utilizan ampliamente para el tratamiento de pacientes con cáncer. Este grupo de agentes, conocido como antimetabolitos, incluye una variedad de derivados de nucleósidos de pirimidina y purina con actividad citotóxica.

Quinasas de nucleótidos celulares fosforilan nucleósidos a sus correspondientes 5'-monofosfatos que se convierten además en su difosfato y posteriormente en el trifosfato farmacológicamente activo. Se sabe que algunos nucleósidos son débilmente activos, porque no pueden ser fosforilados eficientemente por quinasas o no son sustratos para quinasas en absoluto. En la secuencia de fosforilación, la primera fosforilación de los análogos de nucleósidos es limitante de la velocidad, mientras que la segunda y tercera fosforilaciones son menos sensibles a modificaciones en el nucleósido. Monofosfatos de nucleósidos (nucleótidos) propiamente dichos son generalmente inestables en la sangre y muestran pobre permeación de membrana y por lo tanto no son adecuados para uso como fármacos. Debido a la alta inestabilidad y pobre permeación celular del trifosfato de los nucleósidos y análogos de nucleósidos, los mismos tampoco pueden ser considerados como posibles candidatos a fármacos.

La troxacitabina, (beta-L-dioxolano citidina) es un análogo de la desoxicitidina citotóxica con una L-configuración poco natural que ha demostrado una amplia actividad contra ambas neoplasias, sólida y hematopoyética, in vitro e in vivo. En particular, la impresionante actividad se ha observado frente a líneas celulares de cáncer en humanos y xenoinjertos de origen hepatocelular, prostático y renal (Cancer Res., 55, 3008-3011, 1995). La troxacitabina ha demostrado dar lugar a una mutación de la quinasa desoxicitidina quinasa (dCK) que normalmente es responsable de la primera etapa de fosforilación del nucleósido, que conduce a ningún o muy bajos niveles de monofosfato de troxacitabina, lo que conduce a resistencia.

60

La troxacitabina entró en fase III de ensayos clínicos en 2008 en la indicación para leucemia mielógena aguda, pero no procedió a registro. Los ensayos interrumpidos en la fase II con troxacitabina incluyen cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, melanoma, NSCLC, renal, de próstata y tumores de ovario. La troxacitabina era administrada generalmente como una infusión intravenosa, exponiendo de este modo muchos tejidos al fármaco, con independencia del sitio del cáncer.

Se ha demostrado que la troxacitabina, a pesar de su carácter hidrófilo, es transportada en las células por difusión pasiva, pero es sólo acumulada muy lentamente en células de cáncer en comparación con otros nucleósidos, transportados por vehículo.

10

En el documento WO2008/030373 se describen derivados de troxacitabina que llevan un grupo profármaco en la fracción base de citosina y se evalúa la relación entre la lipofilicidad de los profármacos y su actividad antitumoral. La patente declara que una modificación de base es deseable para evitar dificultades de esterasa con modificación de 5'-OH.

15

Profármacos de fosforamido en la función 5' hidroxilo de D-nucleósidos se han empleado con éxito en fármacos antivirales, tales como sofosbuvir, utilizado en el tratamiento de la infección por HCV. Desenmascarar el profármaco sofosbuvir para revelar el monofosfato intracelularmente es un procedimiento complejo, de múltiples etapas que implica varios enzimas hidrolasas en una secuencia particular.

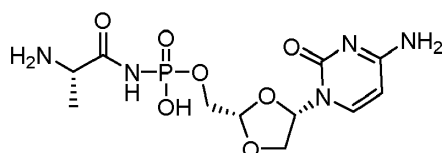
20

El uso de profármacos de fosforamido en nucleósidos contra el cáncer ha tenido menos éxito. Nucana está desarrollando Acelarin (Nuc-1031), un profármaco de fosforamido del D-nucleósido gemcitabina para el tratamiento de cáncer de páncreas (para estructura: ver página 71 del documento WO2005012327). Sin embargo, a pesar de que se piensa que el fosforamido podría mejorar la lipofilia y la permeabilidad celular del compuesto, el profármaco

25 Acelarin debe todavía ser administrado como una infusión IV, exponiendo así muchos tejidos saludables al metabolito citotóxico.

Hay incluso menos experiencia con profármacos de monofosfato de L-nucleósidos tales como troxacitabina. El documento WO2008048128 describe un pequeño número de profármacos de monofosfato de troxacitabina que

30 incluyen el compuesto en el Ejemplo 14:



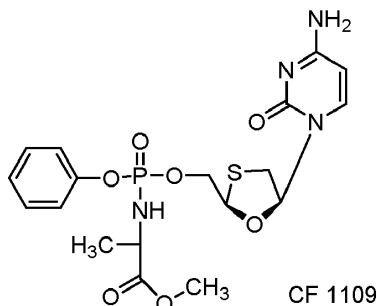
No se revela cáncer u otra actividad biológica para cualquiera de los compuestos, ya sea en la memoria descriptiva

35 WO2008048128 o en cualquier otro lugar en la bibliografía académica. No hay informes de un profármaco tal que haya entrado en ensayos clínicos. Sin embargo, los inventores de WO2008048128 han publicado ampliamente profármacos similares sobre el D-nucleósido gemcitabina (Baraniak y col. *Biorg Med Chem* 2014 2133-2040), donde la estrategia del profármaco parece trabajar en ciertos tejidos, y el D-nucleósido azidotimidina (Kulic y col. *Antivir Chem Chemother* 2011 21(3) 143-150), donde los profármacos eran 2-20 veces menos potentes que el correspondiente nucleósido

40 padre. Kulic especula que los profármacos de azidotimidina tendían a ser primero desfosforilados al nucleósido y sólo entonces fosforilados a la especie activa de trifosfato. En el sentido de que la estrategia del profármaco funciona con gemcitabina (que se asemeja a ARN en virtud de su función 2' sustituida), y no funciona en azidotimidina (que es 2'-desoxi, asemejándose, por tanto, al ADN), se presume que los profármacos del documento WO2008048128 de troxacitabina (que es un análogo de ADN, aunque L-ADN), es probable que estén inactivos, como los profármacos de

45 azidotimidina.

Balzarini y col. *Biochem Biophys Res Comm* 225, 363-369 (1996) describen la actividad VIH y VHB de CF 1109, un profármaco de fosforamido del L-nucleósido lamivudine/3TC, que tiene la estructura:



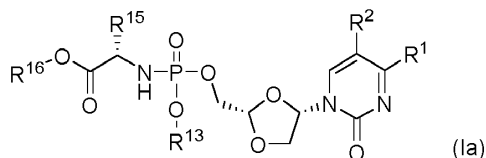
Balzarini afirma que este profármaco de fosforamidato era -250 veces menos activo contra el VIH que su nucleósido 3TC padre, pero que el profármaco es "prácticamente igual de efectivo contra el VHB en células Hep G2.2.15". En 5 otras palabras, la adición de este gran profármaco de éster metílico de fosforamidato no mejoró la potencia antiviral en una línea celular hepática. Balzarini no analizó si el profármaco se estaba metabolizando a 3TC antes de ser fosforilado al trifosfato activo.

La presente invención proporciona profármacos de fósforo de troxacitabina, particularmente profármacos dirigidos al 10 hígado, tales como fosforamidatos, que son adecuados para administración oral. Estos profármacos tienen la ventaja de mejorar la permeabilidad celular debido al aumento de la lipofilia en comparación con troxacitabina per se, y a una forma más eficiente del trifosfato activo debido a evitar la primera etapa de fosforilación que limita la velocidad. Además, los compuestos de la invención son metabolizados principalmente al trifosfato activo en el hígado proporcionando, de este modo, una alta concentración de compuesto activo en el órgano diana y, al mismo tiempo, manteniendo los 15 efectos colaterales debidos a la toxicidad en otros órganos en un mínimo.

Descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos representados por la Fórmula (Ia):

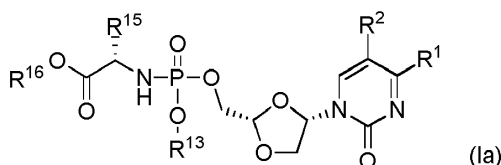
20



donde:

- 25 R¹ es OR¹¹, o NR⁵R^{5'};
 R² es H;
 R⁵ es H, C₁-C₆alquilo, OH, C(=O)R⁶, O(C=O)R⁶ u O(C=O)OR⁶;
 R⁵ es H o C₁-C₆alquilo;
 R⁶ es C₁-C₂₂alquilo o C₃-C₇cicloalquilo;
 30 R¹¹ es H o C₁-C₆alquilo;
 R¹³ es H, fenilo, piridilo, bencilo, indolilo o naftilo, donde el fenilo, piridilo, bencilo, indolilo y naftilo es opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 R²²;
 R¹⁵ es H, C₁-C₆alquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₁-C₃alquilo, fenilo, bencilo o indolilo;
 R¹⁶ es H, C₁-C₁₀alquilo, C₂-C₁₀alqueno, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₁-C₃alquilo, bencilo, o fenilo,
 35 cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 grupos, cada uno seleccionado independientemente de halo, OR¹⁸ y N(R¹⁸)₂;
 cada R¹⁸ es independientemente H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆haloalquilo o C₃-C₇cicloalquilo;
 cada R²² se selecciona independientemente de halo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alqueno, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alcoxi, C₁-C₆haloalcoxi, fenilo, hidroxilC₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alquilocarbonilo, C₃-C₆cicloalquilocarbonilo,
 40 carboxilC₁-C₆alquilo, hidroxil, amino CN, y NO₂ o cualesquiera dos grupos R²² unidos a átomos de carbono de un anillo adyacente pueden combinarse para formar -O-(CR²³R^{23'})₁₋₆-O-;
 R²³ y R^{23'} son independientemente H o C₁-C₃alquilo;
 o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

45 En una realización, la invención proporciona compuestos representados por la fórmula Ia:



donde:

- 5
- R¹ es OR¹¹, o NR⁵R^{5'};
 R² es H;
 R⁵ es H, C₁-C₆alquilo, OH, C(=O)R⁶, OC(=O)R⁶ u OC(=O)OR⁶;
 R^{5'} es H o C₁-C₆alquilo;
 10 R⁶ es C₁-C₂₂alquilo o C₃-C₇cicloalquilo;
 R¹¹ es H o C₁-C₆alquilo;
 R¹³ es H, fenilo, piridilo, bencilo, indolilo o naftilo, donde el fenilo, piridilo, bencilo, indolilo y naftilo es opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 R²²;
 R¹⁵ es H, C₁-C₆alquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₁-C₃alquilo, fenilo, bencilo o indolilo;
 15 R¹⁶ es H, C₁-C₁₀alquilo, C₂-C₁₀alqueno, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₁-C₃alquilo, bencilo, o fenilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 grupos, cada uno seleccionado independientemente de halo, OR¹⁸ y N(R¹⁸)₂;
 cada R¹⁸ es independientemente H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆haloalquilo o C₃-C₇cicloalquilo;
 cada R²² se selecciona independientemente de halo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alqueno, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alcoxi,
 20 C₁-C₆haloalcoxi, fenilo, hidroxil-C₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alquilcarbonilo, C₃-C₆cicloalquilcarbonilo, carboxil-C₁-C₆alquilo, hidroxil, amino, CN, NO₂ y trimetilsililo, o cualesquiera dos grupos R²² unidos a átomos de carbono de un anillo adyacente pueden combinarse para formar -O-(CR²³R^{23'})₁₋₆-O-; R²³ y R^{23'} son independientemente H o C₁-C₃alquilo;
 o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

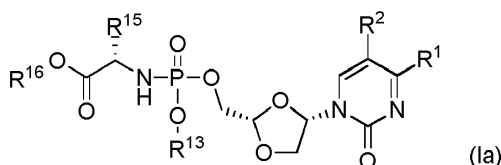
25 Los compuestos de Fórmula (1a) pueden obtenerse opcionalmente en la forma de una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable. En una realización, el compuesto de la invención es obtenido en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable. En una segunda realización, el compuesto de la invención es obtenido en la forma de un solvato farmacéuticamente aceptable. En una tercera realización, el compuesto de la invención es obtenido en su
 30 forma libre.

En realizaciones típicas de la invención, R¹ es NR⁵R^{5'}, tal como NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo.

En realizaciones preferidas, R¹ es NH₂.

35 Típicamente en los compuestos de fórmula (1a), la fracción -NHC(R¹⁵)-C(=O)OR¹⁶ forma un residuo de ésteres de aminoácidos, incluyendo residuos de aminoácidos naturales y no naturales. De particular interés son los residuos de aminoácidos donde R¹⁵ es metilo, isopropilo, isobutilo o bencilo. En una configuración típica, R¹⁵ es C₁-C₃alquilo, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo.

40 En compuestos donde R¹⁵ es distinto de hidrógeno, la configuración en el átomo de carbono asimétrico es la de un L-aminoácido, proporcionando así compuestos que tienen la estereoquímica indicada en la fórmula (1a):



45 En una configuración preferida de compuestos de fórmula 1a, R¹⁵ es metilo.

En una configuración preferida de compuestos de fórmula 1a, R¹⁵ es bencilo.

50 En una configuración representativa de compuestos de fórmula 1a,

R¹ es NH₂;

R² es H;

R¹³ es fenilo, naftilo o indolilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con halo, por ejemplo, bromo o

5 C₃-C₄cicloalquilo, por ejemplo, ciclopropilo;

R¹⁵ es C₁-C₃alquilo;

R¹⁶ es C₁-C₈alquilo.

En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula Ia,

10

R¹ es NH₂;

R² es H;

R¹³ es naftilo;

R¹⁵ es C₁-C₃alquilo;

15 R¹⁶ es C₁-C₈alquilo o bencilo.

En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula Ia,

R¹ es NH₂;

20 R² es H;

R¹³ es fenilo, que es opcionalmente sustituido en la 4-posición con halo, por ejemplo, bromo o con C₃-C₄cicloalquilo, por ejemplo, ciclopropilo;

R¹⁵ es metilo;

R¹⁶ es C₃-C₈alquilo.

25

En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula Ia,

R¹ es NH₂;

R² es H;

30 R¹³ es fenilo;

R¹⁵ es metilo;

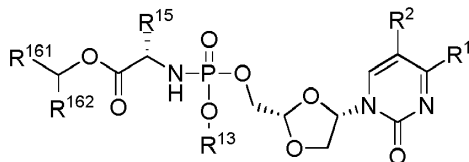
R¹⁶ es C₃-C₈alquilo.

R¹⁶ es típicamente C₁-C₁₀alquilo o C₃-C₇cicloalquilo.

35 Valores representativos para R¹⁶ incluyen C₁-C₃alquilo, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo. Un valor preferido para R¹⁶ es metilo, un valor preferido para R¹⁶ es isopropilo.

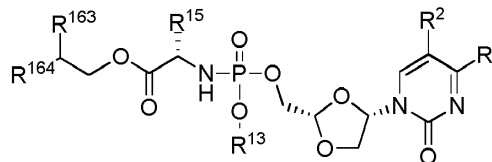
En una realización, R¹⁶ es C₃-C₁₀alquilo.

40 Valores representativos para R¹⁶ según esta realización incluyen C₅-C₈alquilo ramificado. En una realización, el punto de ramificación de R¹⁶ está en C₁. En una realización alternativa, el punto de ramificación de R¹⁶ está en C₂. Según estas realizaciones, la estereoquímica en el átomo de carbono al que R¹⁵ está unido es la de un L-aminoácido, proporcionando así compuestos de las fórmulas generales:



45

(Ia')



(Ia'')

donde R¹⁶¹ y R¹⁶² son los mismos o diferentes C₁-C₃alquilo, y R¹⁶³ y R¹⁶⁴ son los mismos o diferentes C₁-C₃alquilo.

Típicamente, en compuestos de fórmula (Ia'), R¹⁶ es 2-pentilo, es decir, R¹⁶¹ es propilo y R¹⁶² es metilo.

50

En una configuración típica adicional de compuestos de fórmula (Ia'), R¹⁶ es 2-butilo, es decir, R¹⁶¹ es etilo y R¹⁶² es metilo.

Típicamente, en compuestos de fórmula (Ia"), R¹⁶ es 2-propilpentilo o 2-etilbutilo, es decir, R¹⁶³ y R¹⁶⁴ son ambos propilo o etilo respectivamente.

Otros valores representativos de R¹⁶ incluyen C₃-C₇cicloalquilo, tal como ciclohexilo.

5

Un valor representativo adicional de R¹⁶ es ciclopentilo.

Un valor representativo adicional de R¹⁶ es bencilo.

10 R¹³ es típicamente fenilo, naftilo o indolilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con 1 o 2 R²².

En una realización de la invención, R¹³ es fenilo o naftilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido.

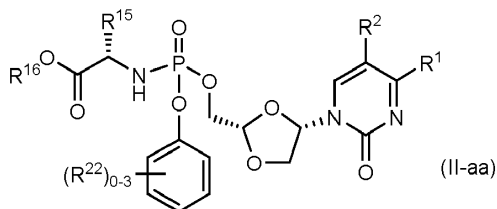
En una realización de la invención, R¹³ es naftilo.

15

En una realización preferida de la invención, R¹³ es fenilo.

Ejemplos representativos de R¹³ incluyen fenilo, que es opcionalmente sustituido con uno, dos o tres R²², proporcionando así compuestos de la fórmula (II-aa):

20



donde cada R²², cuando está presente, se selecciona independientemente de halo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alqueno y C₁-C₆alcoxi. Típicamente, el anillo de fenilo no es sustituido o es sustituido con un R²².

25

En una configuración de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo no es sustituido.

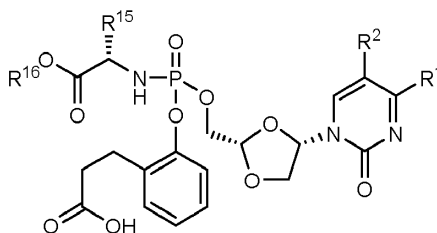
En una configuración adicional de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo se sustituye con un R²². Típicamente, en esta configuración, el sustituyente R²² se encuentra a la 4-posición del anillo de fenilo.

30

En una realización de compuestos de la invención, R¹³ es fenilo que es sustituido en la 4-posición con halo, por ejemplo, bromo o con C₃-C₄cicloalquilo, por ejemplo, ciclopropilo.

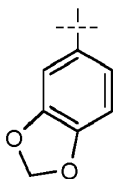
En una configuración de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo se sustituye con carboxiC₁-C₆alquilo. Un ejemplo, representativo de esta configuración se ilustra en la fórmula parcial:

35



En una configuración adicional de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo es sustituido con dos R²² situados en átomos de carbono adyacentes y los dos R²² se combinan para formar -O-CH₂-O-, formando así la estructura parcial:

40



Otros valores representativos de R¹³ incluyen piridilo opcionalmente sustituido. Típicamente, la fracción de piridilo está sin sustituir o sustituida con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alqueno, C₁-C₆alcoxi, hidroxilo, amino.

En una realización típica de compuestos de fórmula (Ia),

- R¹ es NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo;
 10 R¹³ es fenilo, naftilo o indolilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con halo, C₁-C₃alquilo, C₁-C₃alcoxi, C₃-C₆cicloalquilo o C₁-C₃haloalquilo;
 R¹⁵ es C₁-C₃alquilo o bencilo;
 R¹⁶ es C₁-C₁₀alquilo o C₃-C₇cicloalquilo.

En una realización típica de compuestos de fórmula (Ia),

- 15 R¹ es NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo;
 R¹³ es fenilo o naftilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con halo, C₁-C₃alquilo, C₁-C₃alcoxi, C₃-C₆cicloalquilo o C₁-C₃haloalquilo;
 R¹⁵ es C₁-C₃alquilo o bencilo;
 20 R¹⁶ es C₂-C₁₀alquilo o C₃-C₇cicloalquilo.

En una forma de realización típica adicional de compuestos de fórmula (Ia),

- R¹ es NH₂;
 R² es H;
 25 R¹³ es fenilo;
 R¹⁵ es C₁-C₃alquilo;
 R¹⁶ es C₁-C₃alquilo o ciclohexilo.

En una forma de realización típica adicional de compuestos de Fórmula (Ia),

- 30 R¹ es NH₂;
 R² es H;
 R¹³ es fenilo;
 R¹⁵ es C₁-C₃alquilo o bencilo;
 35 R¹⁶ es C₃-C₈alquilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

Los compuestos de la presente invención muestran actividad contra el cáncer, especialmente cáncer de hígado tales como CHC, y se pueden utilizar como medicamento en el tratamiento de animales de sangre caliente, particularmente seres humanos, que tienen cáncer. Especialmente los compuestos se pueden utilizar como medicamento en el

40 tratamiento de seres humanos que tienen cáncer de hígado tales como CHC.

Con el fin de evitar efectos secundarios no deseados, en particular la toxicidad en otros órganos, es crucial el suministro del fármaco al sitio del tumor, al tiempo que se reduce la exposición al tejido normal. Los compuestos de la invención son estables en fluido gástrico, pero fácilmente metabolizados por las enzimas del hígado, que, por tanto,

45 pueden ser absorbidos en el estómago y se transportan como un agente citotóxico enmascarado al hígado, donde se produce la absorción, el metabolismo y la formación del trifosfato citotóxico activo. Por consiguiente, la invención proporciona compuestos que son absorbidos y se procesan principalmente en el hígado, reduciendo así al mínimo la exposición a otros órganos en el cuerpo y efectos secundarios tóxicos.

50 Sin desear estar obligado por la teoría, la actividad anti-oncogénica de los compuestos de la invención puede ser ejercida directamente contra procesos celulares de las células tumorogénicas del cáncer que actúan rápidamente, pero pueden, adicional o alternativamente, ejercer sus efectos a través de la modulación del microambiente del tumor, tal como la inhibición de la angiogénesis, privando, de esta forma, al tumor de alimento, conduciendo a la inhibición del crecimiento del tumor.

Los compuestos de la presente invención también son útiles en el tratamiento de cánceres secundarios del hígado, metástasis en el hígado, es decir, el cáncer que se origina a partir de órganos en otras partes del cuerpo, tales como el de colon, de pulmón o de mama y que migra al hígado.

5

La presente invención también se refiere a un procedimiento de tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos, que tienen cáncer, especialmente cáncer de hígado tales como CHC, dicho procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia) o cualquier subgrupo del mismo.

10 La presente invención también se refiere a un procedimiento de tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos, que tienen un cáncer de hígado secundario, dicho procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia) o cualquier subgrupo del mismo.

Dicho uso como un medicamento o procedimiento de tratamiento comprende la administración sistémica a un sujeto
15 que tiene cáncer de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia).

En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento del cáncer, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento del cáncer, tal como CHC, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
25

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de un cáncer de hígado secundario, que comprende un compuesto de Fórmula (Ia) en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
30

En un aspecto adicional, la invención se refiere a un procedimiento de preparación de una composición farmacéutica como se especifica en esta invención, que comprende mezclar íntimamente un adyuvante, diluyente, excipiente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia).
35

En un aspecto adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o la inhibición mencionados anteriormente, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente contendrán típicamente una cantidad eficaz (por ejemplo, para seres humanos) del compuesto de Fórmula (Ia), aunque cantidades sub-terapéuticas del compuesto de Fórmula (Ia), no obstante, pueden ser de valor cuando destinadas para uso en combinación con otros agentes o en dosis múltiples.
40

En este contexto, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para producir un resultado deseado.
45 La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo de los requerimientos individuales en cada caso particular. Características que influyen en la dosis son, por ejemplo, la gravedad de la enfermedad a tratar, edad, peso, estado general de salud, etc., del sujeto a ser tratado. Con respecto a un efecto anti-cáncer, ese efecto puede ser la inhibición del crecimiento adicional del tumor, la reducción de la probabilidad o la eliminación de la metástasis o la producción de muerte celular en el tumor, lo que resulta en una reducción del tumor o prevenir el rebrote de un tumor después
50 que el tumor del paciente está en remisión.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso como un medicamento.

55 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento del cáncer.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento del cáncer de hígado, como CHC.

60

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento de un cáncer de hígado secundario.

5 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en el tratamiento como se describe anteriormente en combinación con uno o más tratamientos adicionales del cáncer, tales como otros fármacos anti-cáncer, cirugía, inmunoterapia y/o terapias regionales como la ablación por radiofrecuencia.

En una realización adicional, un tratamiento adicional contra el cáncer es la radioterapia.

10 En una realización, un tratamiento adicional contra el cáncer es uno u otro más análogos de nucleósido que presentan una potente actividad antitumoral.

En un aspecto la presente invención proporciona una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (Ia) y uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados del grupo que consiste en agente quimioterapéutico, agente inversor de resistencia a múltiples fármacos y modificador de respuesta biológica.

En una realización de este aspecto, un agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico.

20 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en la fabricación de un medicamento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer.

25

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del cáncer de hígado como CHC.

30 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un cáncer de hígado secundario.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento del cáncer que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia), a un sujeto, por ejemplo, un ser humano en necesidad del mismo.

35

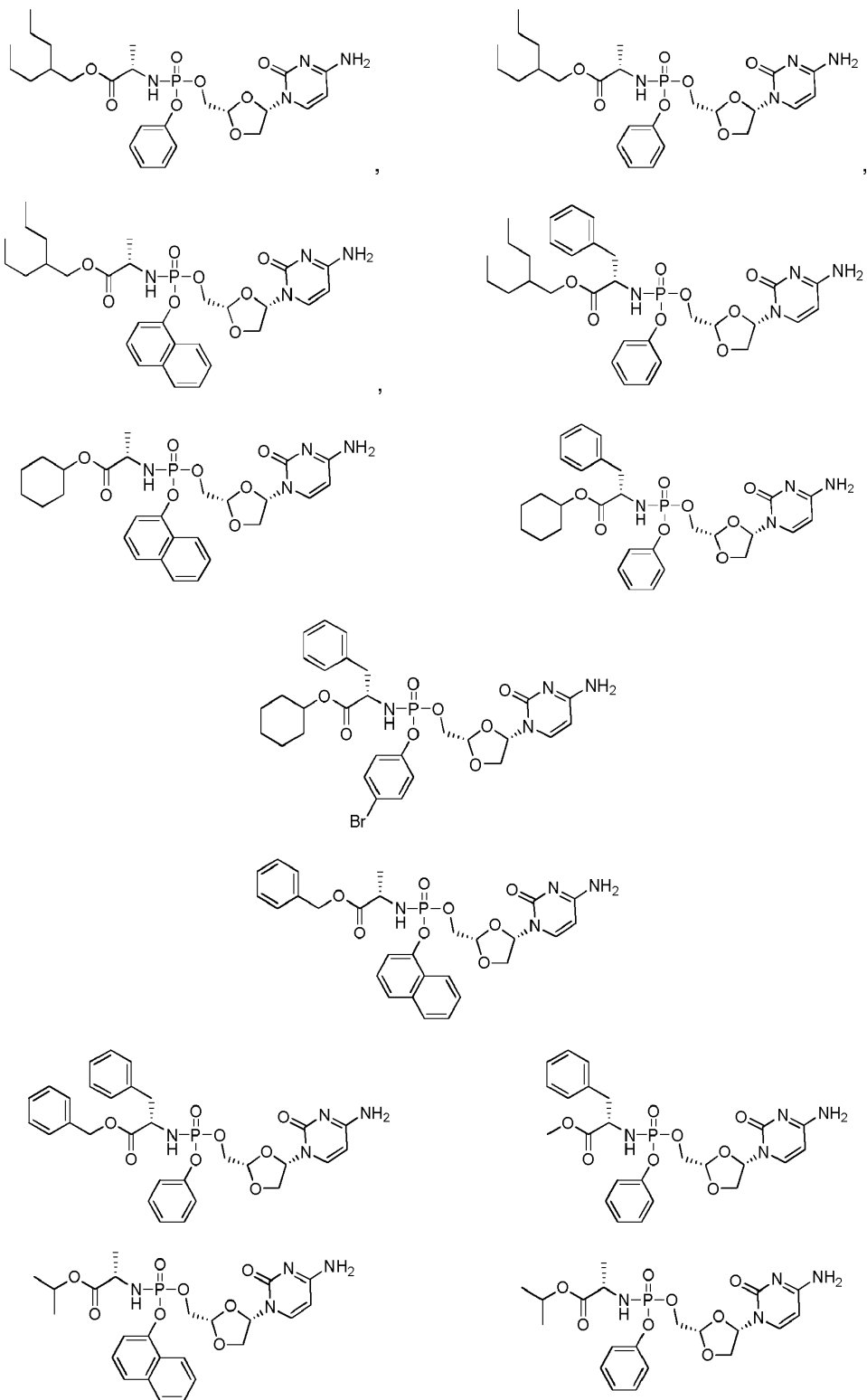
En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento de cáncer de hígado, como CHC, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia), a un sujeto, por ejemplo, un ser humano en necesidad del mismo.

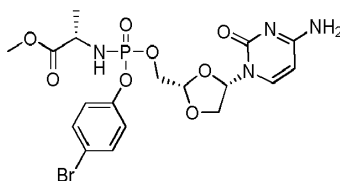
40 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento de cáncer de hígado secundario, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (Ia), a un sujeto, por ejemplo, un ser humano en necesidad del mismo.

45 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para el tratamiento como se describe anteriormente en combinación con tratamientos adicionales del cáncer, tales como otros fármacos anti-cáncer, cirugía, inmunoterapia y/o terapias regionales como la ablación por radiofrecuencia.

En un aspecto la presente invención proporciona un procedimiento de tratamiento de un cáncer de hígado primario o secundario comprendiendo la administración de una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula Ia, comprendiendo además uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados del grupo que consiste en agente quimioterapéutico, agente inversor de resistencia a múltiples fármacos y modificador de respuesta biológica.

55 En una realización de este aspecto, un agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico. En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (Ia) que se selecciona de los compuestos representados a continuación:





o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Además, la invención se refiere a un procedimiento para fabricar un compuesto de Fórmula (Ia), a nuevos compuestos intermedios para su uso en la fabricación de compuestos de Fórmula (Ia) y a la fabricación de tales compuestos intermedios.

Siempre que el término 'compuestos de Fórmula (Ia)', 'los compuestos de la invención', 'los compuestos de la presente invención' o términos similares se utilicen en lo que antecede y en lo sucesivo, se entiende que incluye los compuestos de Fórmula (Ia) y cualquier subgrupo de compuestos de Fórmula (Ia), incluyendo todas las posibles formas estereoquímicamente isómeras, sus sales, solvatos, aminas cuaternarias y complejos metálicos farmacéuticamente aceptables.

15 Los compuestos de la presente invención se pueden formular en diversas formas farmacéuticas para fines de administración. Como composiciones apropiadas se pueden citar todas las composiciones empleadas usualmente para administración oral de fármacos. Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición o solvato, como el ingrediente activo, se combina en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, cuyo vehículo puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para su administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseables en forma de dosificación unitaria adecuada para la administración oral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, cualquiera de los medios farmacéuticos habituales puede ser empleado tal como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas, y tabletas. Debido a su facilidad de administración, las tabletas y las cápsulas representan las formas unitarias de dosificación oral más ventajosas, en cuyo caso obviamente se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. También se incluyen preparaciones en forma sólida destinadas a convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida.

30 Es especialmente ventajoso formular composiciones orales o parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. Forma de dosificación unitaria como se usa en esta invención hace referencia a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosificación unitarias son tabletas (incluyendo tabletas ranuradas o recubiertas), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas y similares, y múltiples segregados de los mismos.

40 En general, se contempla que una cantidad diaria contra el cáncer eficaz sería de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 700 mg/kg, o aproximadamente 0,5 a aproximadamente 400 mg/kg, o aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg/kg, o aproximadamente 2 a aproximadamente 200 mg/kg, o aproximadamente 10 a aproximadamente 150 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más sub-dosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas sub-dosis se pueden formular como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen aproximadamente 1 a aproximadamente 5000 mg, o aproximadamente 50 a aproximadamente 3000 mg, o aproximadamente 100 a aproximadamente 1000 mg, o aproximadamente 200 a aproximadamente 600 mg, o aproximadamente 100 a aproximadamente 400 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

50 Los compuestos de la presente invención pueden exhibir un efecto anti-cáncer solos y/o mejorar la capacidad de otro agente anti-cáncer de exhibir un efecto anti-cáncer.

Los compuestos de la invención se representan como un estereoisómero definido. La configuración absoluta de tales compuestos se puede determinar usando procedimientos conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, difracción de rayos X o RMN y/o implicación a partir de materiales iniciales de estereoquímica conocida. Composiciones

farmacéuticas según la invención comprenderán preferentemente preparaciones sustancialmente estereoisoméricamente puras del estereoisómero indicado.

Las formas estereoisómeras puras de los compuestos y productos intermedios como se menciona en esta invención se definen como isómeros sustancialmente exentos de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o compuestos intermedios. En particular, el término "estereoisoméricamente puro" se refiere a compuestos o compuestos intermedios que tienen un exceso de estereoisómero de al menos 80 % (es decir, mínimo 90 % de un isómero y máximo 10 % de los otros isómeros posibles) hasta un exceso de estereoisómero de 100 % (es decir, 100 % de un isómero y nada del otro), más en particular, compuestos o compuestos intermedios que tienen un exceso de estereoisómero de 90 % hasta 100 %, incluso más en particular que tienen un exceso de estereoisómero de 94 % hasta 100 % y lo más en particular que tienen un exceso de estereoisómero de 97 % hasta 100 %. Los términos "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" deben entenderse de manera similar, pero haciendo referencia entonces al exceso enantiomérico, y al exceso diastereomérico, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

Las formas estereoisoméricas puras de los compuestos y compuestos intermedios de esta invención se pueden obtener mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros pueden separarse entre sí mediante la cristalización selectiva de sus sales diastereoméricas con ácidos o bases ópticamente activos. Ejemplos de los mismos son ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluoiltartárico y ácido canforsulfónico. De manera alternativa, los enantiómeros se pueden separar mediante técnicas cromatográficas utilizando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas también pueden derivarse de las formas estereoquímicamente isoméricas correspondientes de los materiales de partida apropiados con la condición de que la reacción ocurra de forma estereoespecífica. Preferentemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetiza por procedimientos de preparación estereoespecíficos. Estos procedimientos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

Los racematos diastereoméricos de los compuestos de la invención pueden obtenerse por separado por procedimientos convencionales. Procedimientos apropiados de separación física que ventajosamente pueden ser empleados son, por ejemplo, cristalización selectiva y cromatografía, por ejemplo, cromatografía en columna.

Cuando un átomo de fósforo está presente en un compuesto de la invención, el átomo de fósforo puede representar un centro quiral. La quiralidad en este centro se designa "R" o "S" según las reglas de prioridad de Cahn-Ingold-Prelog. Cuando no se indica la quiralidad, se contempla que tanto los R-isómeros como los S-isómeros están destinados a ser incluidos, así como una mezcla de ambos, es decir, una mezcla diastereomérica.

En realizaciones preferidas de la invención, están incluidos los estereoisómeros que tienen la S-configuración en el átomo de fósforo. Estos estereoisómeros se designan S_p .

En otras realizaciones de la invención, están incluidos los estereoisómeros que tienen la R-configuración en el átomo de fósforo. Estos estereoisómeros se designan R_p .

En otras formas de realización de la invención, son incluidas mezclas diastereoméricas, es decir, mezclas de compuestos que tienen la R-configuración o la S- configuración en el átomo de fósforo.

La presente invención incluye también compuestos marcados por isótopos de Fórmula (Ia), donde uno o más de los átomos se sustituye por un isótopo de ese átomo, es decir, un átomo que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica diferente de los que se encuentran típicamente en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de Fórmula (Ia), incluyen, pero no están limitados a isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H (también denominado D para deuterio y T para tritio, respectivamente), carbono, tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , nitrógeno, tales como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo, tales como ^{31}P y ^{32}P , azufre, tal como ^{35}S , flúor, tal como ^{18}F , cloro, tal como ^{36}Cl , bromo tales como ^{75}Br , ^{76}Br , ^{77}Br y ^{82}Br , y yodo, tales como ^{123}I , ^{124}I , ^{125}I y ^{131}I . La elección del isótopo incluido en un compuesto marcado por isótopo dependerá de la aplicación específica de ese compuesto. Por ejemplo, para ensayos de distribución tisular de fármacos o sustratos, generalmente serán más útiles los compuestos donde se incorpora un isótopo radiactivo tal como ^3H o ^{14}C . Para aplicaciones con radio-imágenes, por ejemplo, tomografía por emisión de positrones (PET), será útil un isótopo emisor de positrones tal como ^{11}C , ^{18}F , ^{13}N o ^{15}O . La incorporación de un isótopo más pesado, tal como deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar una mayor estabilidad metabólica a un compuesto de Fórmula (Ia) que puede resultar en, por ejemplo, un aumento de la vida media in vivo del compuesto o requisitos de dosificación reducida.

Compuestos marcados por isótopos de la invención se pueden preparar por procedimientos análogos a los descritos

en los Esquemas y/o Ejemplos en esta invención más abajo usando el reactivo o material de partida apropiado marcado por isótopos en lugar del reactivo o material de partida correspondiente no marcado por isótopos, o mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica.

- 5 Las sales de adición farmacéuticamente aceptables comprenden las formas de sales de adición ácidas y básicas terapéuticamente activas de los compuestos de Fórmula (Ia). De interés son las formas libres, es decir, formas no salinas de los compuestos de Fórmula (Ia) o cualquier subgrupo de los mismos.

- Las sales de adición ácidas farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse convenientemente tratando la forma básica con dicho ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrohálicos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propiónico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico (es decir, ácido hidroxilbutanodioico), tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, 15 ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico y similares. Por el contrario, dichas formas de sales se pueden convertir por tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

- Los compuestos de Fórmula (Ia) que contienen un protón ácido también se pueden convertir en sus formas de sal por adición de amina o metal no tóxico mediante tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Formas de sales básicas apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo, de litio, sodio, potasio, magnesio, sales de calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo, las sales de benzatína, *N*-metil-D-glucamina, sales de hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

- 25 Algunos de los compuestos de Fórmula (Ia) pueden existir también en su forma tautómera. Por ejemplo, las formas tautómeras de los grupos amida (-C(=O)-NH-) son iminoalcoholes (-C(OH)=N-), que pueden llegar a ser estabilizados en anillos con carácter aromático. Tales formas, aunque no se indican explícitamente en las fórmulas estructurales representadas en esta invención, se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

- 30 Los términos y expresiones utilizados en esta invención en todo el resumen, memoria descriptiva y reivindicaciones se interpretarán como se define a continuación a menos que se indique lo contrario. El significado de cada término es independiente en cada aparición. Estas definiciones se aplican independientemente de si un término es utilizado por sí mismo o en combinación con otros términos, a menos que se indique lo contrario. Un término o expresión que se usa en esta invención que no se define explícitamente, se interpretará como que tiene su significado ordinario utilizado en la técnica. Los nombres químicos, nombres comunes y estructuras químicas se pueden usar de forma 35 intercambiable para describir la misma estructura. Si un compuesto químico se denomina utilizando tanto una estructura química como un nombre químico y existe una ambigüedad entre la estructura y el nombre, predomina la estructura.

- 40 " C_m - C_n alquilo" por sí solo o en expresiones compuestas tales como C_m - C_n haloalquilo, C_m - C_n alquilocarbonilo, C_m - C_n alquilamina, etc. representa un radical hidrocarburo alifático lineal o ramificado que tiene el número de átomos de carbono designado, por ejemplo, C_1 - C_4 alquilo significa un radical alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. C_1 - C_6 alquilo tiene el significado correspondiente, incluyendo también todos los isómeros lineales y de cadena ramificada de pentilo y hexilo. Radicales alquilo preferidos para uso en la presente invención son C_1 - C_6 alquilo, incluyendo metilo, 45 etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo, especialmente C_1 - C_4 alquilo tal como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *t*-butilo, *n*-butilo e isobutilo. Metilo e isopropilo son típicamente preferidos. Un grupo alquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, -O-alquilo, -O-arilo, -alquilenilo-O-alquilo, alquiltio, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, - 50 NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-arilo, -O-C(=O)-cicloalquilo, -C(=O)OH y -C(=O)O-alquilo. En general, se prefiere que el grupo alquilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

- " C_2 - C_n alqueno" representa un radical hidrocarburo alifático lineal o ramificado que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono y que tiene el número de átomos de carbono designado, por ejemplo, C_2 - C_4 alqueno significa un radical alqueno que tiene de 2 a 4 átomos de carbono; C_2 - C_6 alqueno significa un radical alqueno que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Grupos alqueno no limitantes incluyen etenilo, propenilo, *n*-butenilo, 3-metilbut-2-enilo, *n*- 55 pentenilo y hexenilo. Un grupo alqueno puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, -O-alquilo, -O-arilo, -alquilenilo-O-alquilo, alquiltio, -NH₂, - 60 NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-arilo, -O-C(=O)-cicloalquilo, -C(=O)OH y -

C(=O)O-alquilo. En general, se prefiere que el grupo alquenilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

"C₂-C_nalquinilo" representa un radical hidrocarburo alifático lineal o ramificado que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono y que tiene el número de átomos de carbono designado, por ejemplo, C₂-C₄alquinilo significa un radical alquinilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono; C₂-C₆alquinilo significa un radical alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Grupos alquenilo no limitantes incluyen etinilo, propinilo, 2-butinilo y 3-metilbutinilo pentinilo y hexinilo. Un grupo alquinilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, -O-alquilo, -O-arilo, -alquilenilo-O-alquilo, alquiltio, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-arilo, -O-C(=O)-cicloalquilo, -C(O)OH y -C(O)O-alquilo. En general, se prefiere que el grupo alquinilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

El término "C_m-C_nhaloalquilo", como se usa en esta invención representa C_m-C_nalquilo donde al menos un átomo de C está sustituido con un halógeno (por ejemplo, el grupo C_m-C_nhaloalquilo puede contener de uno a tres átomos de halógeno), preferentemente cloro o flúor. Grupos haloalquilo típicos son C₁-C₂haloalquilo, en los que halo representa adecuadamente flúor. Grupos haloalquilo ejemplares incluyen fluorometilo, difluorometilo y trifluorometilo.

El término "C_m-C_n hidroxialquilo", como se usa en esta invención representa C_m-C_nalquilo, donde al menos un átomo de C es sustituido con un grupo hidroxilo. Grupos C_m-C_nhidroxialquilo típicos son C_m-C_nalquilo, donde un átomo de C es sustituido con un grupo hidroxilo. Grupos hidroxialquilo ejemplares incluyen hidroximetilo e hidroxietilo.

El término "C_m-C_naminoalquilo", como se usa en esta invención, representa C_m-C_nalquilo, donde al menos un átomo de C es sustituido con un grupo amino. Grupos C_m-C_naminoalquilo típicos son C_m-C_nalquilo, donde un átomo de C es sustituido con un grupo amino. Grupos aminoalquilo ejemplares incluyen aminometilo y aminoetilo.

El término "C_m-C_nalquilenilo" tal como se usa en esta invención representa un radical alquilo bivalente lineal o ramificado que tiene el número de átomos de carbono indicado. Radicales C_m-C_nalquilenilo preferidos para uso en la presente invención son C₁-C₃alquilenilo. Ejemplos no limitantes de grupos alquilenilo incluyen -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₃)- y -CH(CH(CH₃)₂)-

El término "Me" significa metilo, y "MeO" significa metoxi.

El término "C_m-C_nalquilocarbonilo" representa un radical de la fórmula C_m-C_nalquilo-C(=O)- donde la fracción C_m-C_nalquilo es como se definió anteriormente. Típicamente, "C_m-C_nalquilocarbonilo" es C₁-C₆alquilo-C(=O)-.

"C_m-C_nalcoxi" representa un radical C_m-C_nalquilo-O- donde C_m-C_nalquilo es como se definió anteriormente. De particular interés es C₁-C₄alcoxi, que incluye metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, t-butoxi, n-butoxi e isobutoxi. Metoxi e isopropoxi son típicamente preferidos. C₁-C₆alcoxi tiene un significado correspondiente, expandido para incluir también todos los isómeros lineales y de cadena ramificada de pentoxi y hexoxi.

El término "C_m-C_nalcoxycarbonilo" representa un radical de la fórmula C_m-C_nalcoxi-C(=O)- donde la fracción C_m-C_nalcoxi es como se definió anteriormente. Típicamente, "C_m-C_nalcoxycarbonilo" es C₁-C₆alcoxi-C(=O)-.

El término "amino" representa el radical -NH₂.

El término "halo" representa un radical halógeno tal como fluoro, cloro, bromo o yodo. Típicamente, grupos halo son fluoro o cloro.

El término "arilo" significa un grupo fenilo, bifenilo o naftilo.

El término "heterocicloalquilo" representa un anillo monocíclico estable saturado de 3-7 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N. En una realización, el anillo estable saturado monocíclico de 3-7 miembros contiene 1 heteroátomo seleccionado de O, S y N. En una segunda realización, el anillo estable saturado monocíclico de 3-7 miembros contiene 2 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N. En una tercera realización el anillo estable saturado monocíclico de 3-7 miembros contiene 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N. El anillo monocíclico estable saturado de 3-7 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N puede ser típicamente un anillo de 5-7 miembros, tal como un anillo de 5 ó 6 miembros. Un grupo heterocicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, -O-alquilo, -O-arilo, -alquilenilo-O-alquilo,

alquiltio, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-arilo, -O-C(=O)-cicloalquilo, -C(=O)OH y -C(=O)O-alquilo. En general, se prefiere que el grupo heterocicloalquilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

5 El término "heteroarilo" representa un sistema de anillo aromático mono o bicíclico estable que contiene 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N, cada anillo tiene 5 o 6 átomos en el anillo. En una realización de la invención, el sistema de anillo aromático mono o bicíclico estable contiene un heteroátomo seleccionado de O, S y N, cada anillo tiene 5 o 6 átomos en el anillo. En una segunda realización de la invención, el sistema de anillo aromático mono o bicíclico estable contiene dos heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N, cada anillo tiene 5 o 6 átomos en el anillo. En una tercera realización de la invención, el sistema de anillo aromático mono o bicíclico estable contiene tres heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N, cada anillo tiene 5 o 6 átomos en el anillo. En una cuarta realización de la invención, el sistema de anillo aromático mono o bicíclico estable contiene cuatro heteroátomos seleccionados independientemente de O, S y N, cada anillo tiene 5 o 6 átomos en el anillo.

15 Una realización de heteroarilo comprende flavona.

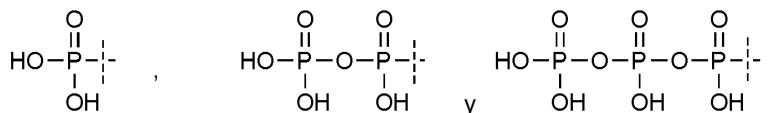
El término "C₃-C_ncicloalquilo" representa un radical alquilo monovalente cíclico que tiene el número de átomos de carbono indicado, por ejemplo, C₃-C₇cicloalquilo significa un radical alquilo monovalente cíclico que tiene de 3 a 7 átomos de carbono. Radicales cicloalquilo preferidos para uso en la presente invención son C₃-C₄ alquilo es decir, ciclopropilo y ciclobutilo. Un grupo cicloalquilo puede estar no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes que pueden ser iguales o diferentes, seleccionándose cada sustituyente independientemente del grupo que consiste en halo, alqueno, alquino, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxilo, -O-alquilo, -O-arilo, -alqueno-O-alquilo, alquiltio, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-arilo, -O-C(=O)-cicloalquilo, -C(=O)OH y -C(=O)O-alquilo. En general, se prefiere que el grupo cicloalquilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

El término "aminoC_m-C_nalquilo" representa un radical C_m-C_nalquilo como se define anteriormente que está sustituido con un grupo amino, es decir, un átomo de hidrógeno de la fracción alquilo es reemplazado por un grupo NH₂. Típicamente, "aminoC_m-C_nalquilo" es aminoC₁-C₆alquilo.

El término "aminoC_m-C_nalquilocarbonilo" representa un radical C_m-C_nalquilocarbonilo como se define anteriormente, donde un átomo de hidrógeno de la fracción alquilo es reemplazado por un grupo NH₂. Típicamente, "aminoC_m-C_nalquilocarbonilo" es aminoC₁-C₆alquilocarbonilo. Ejemplos de aminoC_m-C_nalquilocarbonilo incluyen, pero no se limitan a glicilo: C(=O)CH₂NH₂, alanilo: C(=O)CH(NH₂)CH₃, valinilo: C(=O)OCH(NH₂)CH(CH₃)₂, leucinilo: C(=O)CH(NH₂)(CH₂)₃CH₃, Isoleucinilo: C(=O)CH(NH₂)CH(CH₃)(CH₂)₃CH₃ y norleucinilo: C(=O)CH(NH₂)(CH₂)₃CH₃ y similares. Esta definición no se limita a aminoácidos de origen natural.

Tal como se utiliza en esta invención, el término "(=O)" forma una fracción carbonilo cuando está unido a un átomo de carbono. Cabe señalar que un átomo sólo puede llevar un grupo oxo cuando la valencia del átomo de que así lo permita.

El término "monofosfato, difosfato y trifosfato éster" se refiere a los grupos:



45 Como se utiliza en esta invención, las posiciones de los radicales en cualquier fracción molecular utilizada en las definiciones pueden estar en cualquier parte de esta fracción siempre que sea químicamente estable. Cuando cualquier variable presente se produce más de una vez en cualquier fracción, cada definición es independiente.

50 El término "solvatos" cubre cualquier solvato farmacéuticamente aceptable que los compuestos de Fórmula (Ia), así como las sales de los mismos, sean capaces de formar. Tales solvatos son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos, por ejemplo, etanolatos, propanolatos y similares, especialmente hidratos.

El término "profármaco", como se usa en esta invención, denota un compuesto que es un precursor de fármaco que tras la administración a un sujeto son fácilmente convertibles in vivo por procedimientos metabólicos y/o químicos para producir el compuesto activo.

La expresión "profármaco dirigido al hígado" tal como se utiliza en esta invención denota un profármaco que se metaboliza a su especie activa predominantemente en el hígado.

La expresión "cáncer de hígado" como se usa en esta invención se entiende que incluye tanto el cáncer de hígado primario y secundario, es decir, cáncer que se origina en el hígado, y las metástasis hepáticas de cáncer en otros órganos, respectivamente.

Términos relacionados han de interpretarse según las definiciones proporcionadas anteriormente y el uso común en el campo técnico.

10

En general, los nombres de los compuestos utilizados en esta solicitud se generan utilizando ChemDraw Ultra 12.0. Además, si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no es indicada, por ejemplo, con líneas en negrita o discontinua, la estructura o porción de esa estructura debe interpretarse como que abarca todos los estereoisómeros de la misma.

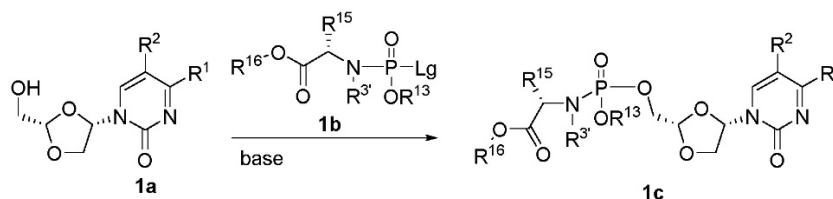
15

Procedimientos generales de síntesis

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar mediante una variedad de procedimientos, por ejemplo, como se representa en los esquemas sintéticos ilustrativos mostrados y descritos a continuación. Los materiales de partida y los reactivos utilizados están disponibles de proveedores comerciales o se pueden preparar según procedimientos de la bibliografía establecidos en antecedentes usando procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica.

El Esquema 1 ilustra una ruta general para compuestos de Fórmula (1a).

25



Esquema 1

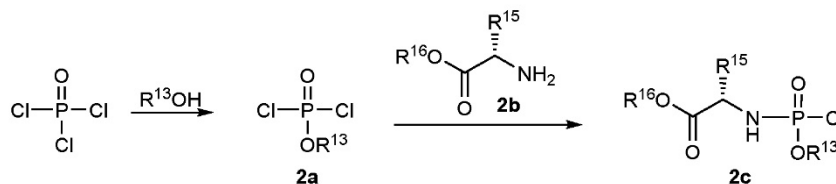
Lg es un grupo de salida, por ejemplo, halo o pentafluorofenol

Condensación del derivado comercialmente disponible troxacitabina (1a), preparado como se ha descrito anteriormente, con un reactivo de fosoramidato deseado (1b) donde Lg es un grupo saliente adecuado tal como un halógeno como cloruro o un fenol activado como pentaclorofenol, p-nitrofenol, pentafluorofenol o similares, en un disolvente inerte tal como un éter, por ejemplo, éter dietílico o THF, o un hidrocarburo halogenado, por ejemplo, diclorometano, en presencia de una base tal como un N-metilimidazol (NMI) o un reactivo de Grignard como terc.butilomagnesio cloruro o similar, el derivado de fosoramidato (1c).

Reactivos de fosoramidato (1b) para ser utilizados en el esquema anterior, donde Lg es cloro, es decir, fosoramidocloridatos, se pueden preparar en una reacción de dos etapas partiendo de oxicloruro de fósforo ($POCl_3$) como se ilustra en el Esquema 2.

40

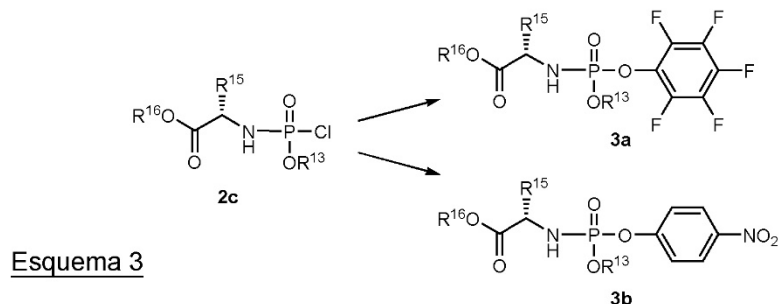
Condensación de $POCl_3$ con un alcohol $R^{13}OH$ deseado en un disolvente inerte como Et_2O proporciona alcoxi o ariloxi fosfordicloridato (2a). La reacción posterior con un derivado de aminoácido (2b) proporciona los fosoramidocloridatos,



Esquema 2

donde R^{3'} es H (2c).

Si se desea, los fosforamidocloridatos obtenidos (2c) se pueden convertir en el agente de fosforilación correspondiente que tiene un fenol activado como grupo saliente, por ejemplo, pentafluorofenol o *p*-NO₂-fenol como se ilustra generalmente en el Esquema 3.



Esta conversión se lleva a cabo convenientemente por reacción del derivado de cloro (2c) con el fenol activado deseado en presencia de una base como trietilamina o similar, proporcionando así agentes de fosforilación (3a) y (3b).

El uso de diversos grupos protectores (PG) utilizados en los esquemas anteriores son conocidos por la persona experta, y su utilidad y otras alternativas se describen extensamente en la bibliografía, ver por ejemplo, Greene T.W., Wuts P.G.M. Protective groups in organic synthesis, 2a ed. New York: Wiley; 1995.

15

El término "grupo N-protector" o "N-protegido" como se usa en esta invención se refiere a aquellos grupos destinados a proteger el N-terminos de un aminoácido o péptido o para proteger un grupo amino contra reacciones indeseables durante procedimientos sintéticos. Grupos N-protectores comúnmente utilizados se describen en Greene. Grupos N-protectores incluyen grupos acilo tales como formilo, acetilo, propionilo, pivaloilo, t-butiloacetilo, 2-cloroacetilo, 2-bromoacetilo, trifluoroacetilo, tricloroacetilo, ftalilo, o-nitrofenoxiacetilo, α -clorobutirilo, benzoilo, 4-clorobenzoilo, 4-bromobenzoilo, 4-nitrobenzoilo, y similares; grupos sulfonilo tales como bencenosulfonilo, p-toluenosulfonilo, y similares; grupos formadores de carbamato tales como benciloxicarbonilo, p-clorobenciloxi-carbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo, p-bromobenciloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitro-4,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, 3,4,5-trimetoxibenciloxicarbonilo, 1-(p-bifenilo)-1-metiletoxicarbonilo, α,α -dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, benzohidriloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, diisopropilmetoxicarbonilo, isopropiloxicarbonilo, etoxicarbonilo, metoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, fenoxicarbonilo, 4-nitrofenoxicarbonilo, fluorenilo-9-metoxicarbonilo, ciclopentiloxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, ciclohexiloxicarbonilo, feniltiocarbonilo, y similares; grupos alquilo tales como bencilo, trifenilmetilo, benciloximetilo y similares; y grupos sililo tales como trimetilsililo y similares. Grupos N-protectores favorecidos incluyen formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, t-butiloacetilo, fenilsulfonilo, bencilo (Bz), t-butoxicarbonilo (BOC) y benciloxicarbonilo (Cbz).

Grupos protectores hidroxilo y/o carboxi también se revisan extensamente en Greene ibid e incluyen éteres tales como metilo, éteres metílicos sustituidos tales como metoximetilo, metiltiometilo, benciloximetilo, t-butoximetilo, 2-metoxietoximetilo y similares, éteres de sililo tales como trimetilsililo (TMS), t-butilodimetilsililo (TBDMS) tribencilsililo, trifenilsililo, t-butilodifenilsililo, trisopropil sililo y similares, éteres etílicos sustituidos tales como 1-etoximetilo, 1-metilo-1-metoxietilo, t-butilo, alilo, bencilo, p-metoxibencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo y similares, grupos aralquilo tales como tritilo, y pixilo (derivados de 9-hidroxi-9-fenilxanteno, especialmente el cloruro). Grupos protectores de hidroxilo éteres incluyen ésteres tales como formato, bencilformato, cloroacetato, metoxiacetato, fenoxiacetato, pivaloato, adamantato, mesitoato, benzoato y similares. Grupos protectores de hidroxilo carbonatos incluyen vinilo metilo, alilo, cinamilo, bencilo y similares.

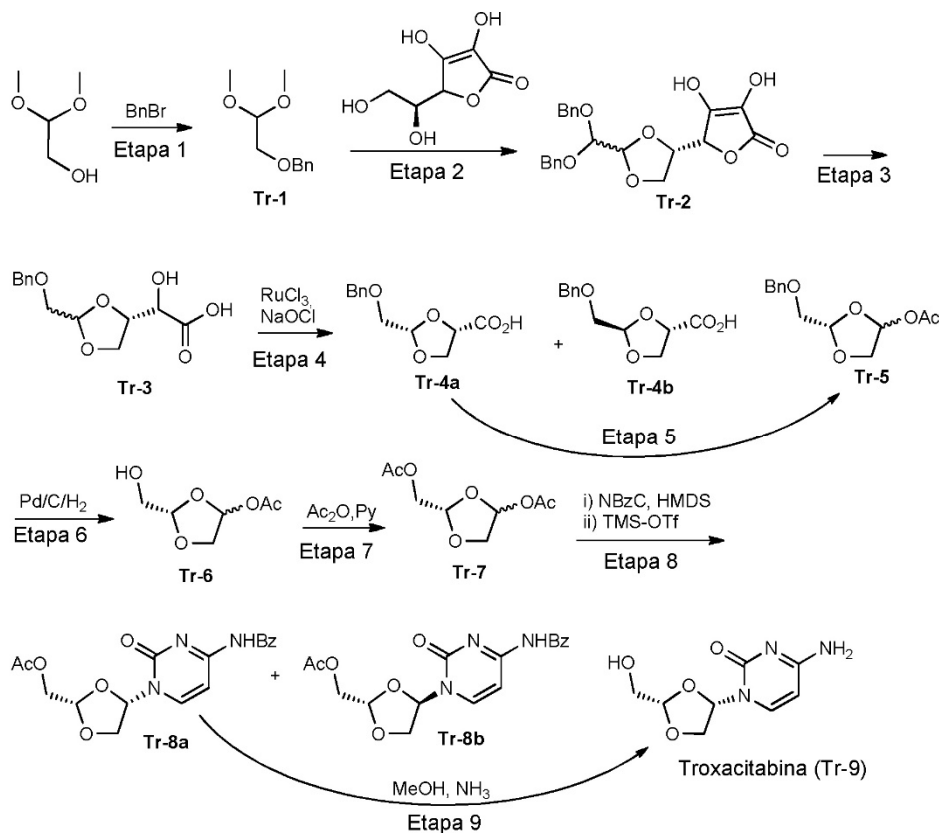
Descripción Detallada de las Realizaciones

Diversas realizaciones de la invención e intermedios, por tanto, serán ahora ilustrados mediante los siguientes ejemplos. Los Ejemplos sólo pretenden ilustrar adicionalmente la invención y de ninguna manera limitan el alcance de la invención. Los nombres de los compuestos se generaron mediante el software ChemDraw Ultra, CambridgeSoft, versión 12.0.2.

Además de las definiciones anteriores, las siguientes abreviaturas se utilizan en los esquemas sintéticos anteriores y en los ejemplos siguientes. Si una abreviatura usada en esta invención no está definida, tiene su significado que se acepta generalmente.

| | | |
|----|-------------------|---|
| 5 | Bn | Bencilo |
| | BOP-Cl | Bis(2-oxo-3-oxazolidinilo)fosfínico cloruro |
| | DCC | Diciclohexilcarbodiimida |
| | DCM | Diclorometano |
| 10 | DIEA | Diisopropiletilamina |
| | DMAP | 4-Dimetilaminopiridina |
| | DMF | <i>N,N</i> -Dimetilformamida |
| | EtOAc | Acetato de etilo |
| | Et ₃ N | Trietilamina |
| 15 | EtOH | Etanol |
| | Et ₂ O | Éter dietílico |
| | LC | Cromatografía líquida |
| | HOAc | Ácido acético |
| | HPLC | Cromatografía líquida de alto rendimiento |
| 20 | MeCN | Acetonitrilo |
| | MeOH | Metanol |
| | NT | 3-Nitro-1,2,4-triazol |
| | on | Durante la noche |
| | Pg | Grupo protector |
| 25 | Ph | Fenilo |
| | rt | Temperatura ambiente |
| | TEST | bis(trietoxisililo)propil-tetrasulfuro |
| | THF | Tetrahidrofurano |
| | TFA | Ácido trifluoroacético |
| 30 | TFAA | Anhídrido trifluoroacético |
| | TIPS | Triisopropilsililo |

Preparación de troxacitabina



Etapa 1) ((2,2-dimetoxietoxi)metilo)benceno (Tr-1)

5 A una solución agitada de 2,2-dimetoxietanol (50 g, 0,471 mol) en DMF (200 mL), se añadió bromuro de bencilo (56,03 ml, 0,471 mol) y NaOH (20,7 g, 0,518 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h . Después de la terminación de la reacción (TLC), se añadió una solución saturada de cloruro de sodio (500 mL) y la mezcla de reacción se extrajo con DCM (1 l), la fase orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró y el producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice en sílice 60-120 como EtOAc al 4-6 % en hexano
10 para obtener el compuesto del título (60 g, 60 %) como un líquido.

Etapa 2) (5S)-5-((4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-4-ilo)-3,4-dihidroxfuran-2(5H)-ona (Tr-2)

Se añadió ácido L-Ascórbico (44,9 g, 0,255 mol) a una solución del compuesto Tr-1 (60 g, 0,306 mol) en acetonitrilo seco (898 mL) seguido de la adición de pTSA monohidrato (15,5 g, 0,076 mol) y la mezcla de reacción se calentó a 90 °C durante 1 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), la mitad del volumen del acetonitrilo fue destilada y el procedimiento se repitió dos veces. El disolvente se eliminó completamente y se obtuvo el compuesto del título como una mezcla de estereoisómeros (91 g). El producto fue llevado directamente a la siguiente etapa sin más purificación.
15
20

Etapa 3) (2R)-2-((4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-4-ilo)-2-ácido hidroxiaacético (Tr-3)

Fue añadido el compuesto Tr-2 (91,7 g, 0,297 mol) a una solución agitada de K₂CO₃ (86,3 g, 0,625 mol) en H₂O (509 mL) a temperatura ambiente. H₂O₂ (80 ml, 0,71 mol, 30 % v/v) se añadió lentamente y la solución se enfrió a 0 °C
25 y después se agitó durante 24 h. El disolvente se eliminó a presión reducida, se añadió EtOH (100 mL) y la mezcla se calentó a reflujo durante 30 min, a continuación se filtró. Se añadió EtOH (100 mL) al residuo sólido obtenido y la mezcla se calentó a reflujo durante 30 min (dos veces). Los filtrados recogidos se concentraron al vacío lo que dio el compuesto del título (90 g) como un sólido.

Etapa 4) (2S,4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolano-4-ácido carboxílico(Tr-4a) & (2R,4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolano-4-ácido carboxílico (Tr-4b)

Hipoclorito de sodio (650 ml, 0,881 mol, 9-10 % en agua) se añadió gota a gota durante un período de 30 min a una solución vigorosamente agitada del compuesto Tr-3 (90 g, 0,294 mol) y RuCl₃·xH₂O (1,22 g, 0,0058 mol) en agua (ml pH=8 a temperatura ambiente). El pH se mantuvo en 8 mediante la adición de solución de NaOH 1M. La mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente y luego se calentó a 35 °C durante 12 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), HCl 1,5 N se añadió a la mezcla de reacción a 0 °C hasta que se alcanzó pH 6, a continuación, se añadió EtOAc (1 L). La fase orgánica fue lavada con salmuera (2x100 mL), secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto en bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice sobre sílice 230-400 como EtOAc al 20 % en éter de Petróleo que dio compuestos 4a+4b como una mezcla de isómeros. Los isómeros se separaron a continuación por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 usando 0,9 % de MeOH en DCM y AcOH al 0,1 % como eluyente, lo que dio el isómero 2R (20 g, 28 %)

15 Etapa 5) (2S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-4-ilacetato(Tr-5)

A una solución del compuesto Tr-4a se añadió (33 g, 0,138 mol) en acetonitrilo (660 mL) piridina (13,2 mL) y acetato de plomo (79,8 g, 0,180 mol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), la mezcla de reacción se filtró, el filtrado se concentró y el residuo se recogió en EtOAc (500 mL), se lavó con agua (100 mL) y solución saturada de cloruro sódico (100 mL) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la eliminación del disolvente, la sustancia bruta se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 60-120 como un gradiente de EtOAc al 12-15 %/Éter de petróleo que dio el compuesto del título (16 g, 47 %) como un líquido.

25 Etapa 6) (2S)-2-(hidroximetilo)-1,3-dioxolan-4-il acetato (Tr-6)

A una solución agitada del compuesto Tr-5 (16 g,) en metanol seco (160 mL), se añadió Pd/C (3,2 g, 20 % w/w), la mezcla de reacción se hidrogenó durante 3 h. Después de completar la reacción (TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celite. El filtrado se concentró a presión reducida y el compuesto bruto del título obtenido (10 g, 97 %) se recogió directamente para la siguiente etapa.

30 Etapa 7) ((2S)-4-acetoxi-1,3-dioxolan-2-ilo)metilacetato(Tr-7)

A una solución agitada del compuesto Tr-6 (5,74 g, 0,0354 mol) en piridina (107 mL), se añadió anhídrido acético (8,22 ml, 0,080 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), la mezcla de reacción se interrumpió con HCl (10 mL) diluido y se extrajo con EtOAc (100 mL). La fase orgánica fue separada, secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 eluida con un gradiente de EtOAc al 10-15 % /éter de petróleo que dio el compuesto del título (4,97 g, 68 %) como un líquido.

40 Etapa 8) ((2S,4S)-4-(4-(bencilamino)-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)acetato de metilo (Tr-8a)

Una mezcla de N-benzoilcitosina (12,1 g, 56.3mmol), sulfato de amonio (cantidad catalítica) y hexametildisilazano (HMDS) (67,4 ml, 418 mmol) se calentó a reflujo durante 1 h. El HMDS se eliminó a presión reducida a 40 °C y el residuo se recogió en seco 1, 2-dicloroetano (57 mL) y se añadió la solución del compuesto Tr-7 (5,7 g, 27,9 mmol) en seco 1,2-dicloroetano (57 mL) seguido de adición gota a gota de TMSOTf (10,2 ml, 45,7 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, a continuación se añadió una solución acuosa de NaHCO₃ y la mezcla se agitó durante 30 min. El sólido resultante se filtró a través de celite y el filtrado fue tomado en EtOAc (200 mL), se lavó con agua (50 mL) y se secó (Na₂SO₄). Después de eliminar el disolvente a presión reducida el producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 usando un gradiente de EtOAc al 10-15 % /Éter de petróleo para dar una mezcla de anómeros que se separó adicionalmente mediante purificación SFC para obtener el compuesto del título (3 g, 30 %) como un sólido blanco.

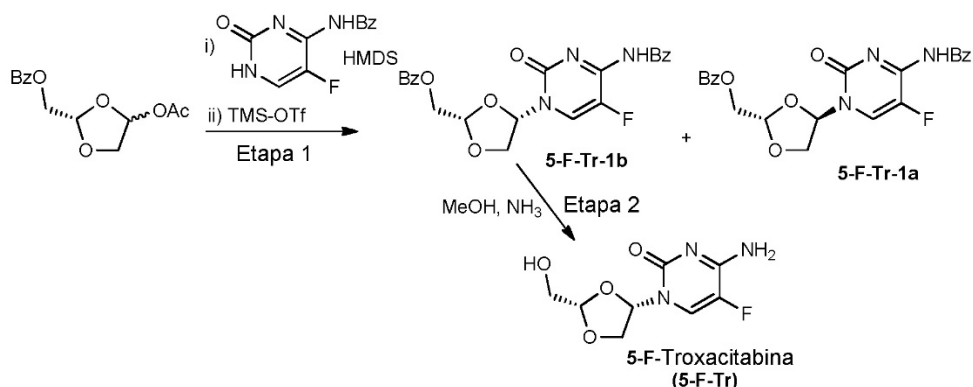
Etapa 9) 4-amino-1-((2S,4S)-2-(hidroximetilo)-1,3-dioxolan-4-ilo)pirimidin-2(1H)-ona(Tr-9)

55 Una mezcla del compuesto Tr-8a (3 g), solución saturada de amoníaco metanólico (180 mL) se agitó a temperatura ambiente en un tubo sellado durante 16 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), el disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 se eluyó con un gradiente de 10-13 % MeOH en DCM, que dio el compuesto del título (1,5 g, 85 %) como un sólido.

60 ¹H RMN 400 MHz DMSO-d₆ δ: 3,63-3,65 (2H), 4,04-4,07 (2H), 4,92-4,94 (1H), 5,18-5,21 (1H), 5,72-5,74 (1H), 6,16-

6,18 (1H), 7,14 (1H), 7,26 (1H), 7,80-7,82 (1H).

Preparación de 5-F-troxacitabina



Etapa 1) ((2S,4R)-4-(4-benzamido-5-fluoro-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)benzoato de metilo (5-F-Tr-1a) & ((2S,4S)-4-(4-benzamido-5-fluoro-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)benzoato de metilo (5-F-Tr-1b)

10 Una mezcla de 5-fluoro benzoil citosina (9,1 g, 39,5 mmol), sulfato de amonio (cantidad catalítica) y hexametildisilazano (140 mL) se calentó a reflujo durante 14 h. El HMDS se eliminó a presión reducida a 40 °C y el residuo se tomó en 1,2-dicloroetano seco (50 mL) y se añadió la solución del compuesto ((2S)-4-acetoxi-1,3-dioxolan-2-ilo)benzoato de metilo (7 g, 26,30 mmol) en 1,2-dicloroetano seco (50 mL) seguido de la adición gota a gota de TMS-OTf (11,6 g, 52,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, a continuación, se añadió una solución acuosa de NaHCO₃ a la mezcla de reacción y la mezcla se agitó durante 30 min. El sólido resultante se filtró a través de celite y el filtrado fue tomado en EtOAc (500 mL), se lavó con agua (50 mL) y se secó (Na₂SO₄). El disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 como un gradiente de EtOAc al 50-60 % /Éter de petróleo para obtener el compuesto del título puro (1,7 g, 18 %) como un sólido.

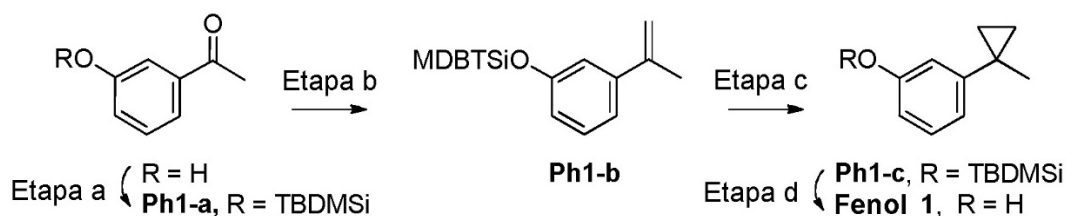
Etapa 2) 4-amino-5-fluoro-1-((2S,4S)-2-(hidroximetilo)-1,3-dioxolan-4-ilo)pirimidin-2(1H)-ona (5-F-Tr)

25 Una mezcla del compuesto 5-F-Tr-1b (1,7 g), solución saturada de amoníaco metanólico (34 mL) se agitó a temperatura ambiente en un tubo sellado durante 16 h, después el disolvente se eliminó a presión reducida y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 como MeOH al 5 % en gradiente de DCM para producir el compuesto del título (0,8 g, 68 %) como un sólido.

Los siguientes fenoles se prepararon y utilizaron en la preparación de intermedios a los compuestos de la invención:

30

Fenol 1



35 Etapa a) 1-(3-((Terc-butildimetilsililo)oxi)fenilo)etanon (Ph1-a)

Se añadió imidazol (4,46 g, 65,5 mmol) a una solución de 3-hidroxiacetofenona (4,46 g, 32,8 mmol) en DMF (6 mL). Después de 5 min, se añadió una solución de TBDMS-Cl (4,69 g, 31,1 mmol) en DMF (4 mL). La mezcla de reacción

se agitó a temperatura ambiente durante 90 min, después se vertió en hexano que contenía EtOAc al 5 % (200 mL) y se lavó con HCl 1 M (60 mL), agua (60 mL), bicarbonato de sodio saturado (2x60 mL), agua (60 mL) y salmuera (60 mL). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y concentró y el residuo obtenido se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con hexano / EtOAc, lo que dio el compuesto del título (5,7 g, 5 69 %).

Etapa b) Terc-butilodimetil(3-(prop-1-en-2-ilo)fenoxi)silano (Ph1-b)

Metil(trifenilfosfonio)bromuro (10,2 g, 28,4 mmol) se suspendió en THF seco (30 mL) bajo nitrógeno y la suspensión se enfrió a 0 °C. n-Butilolitio (17,8 ml, 28,4 mmol) se añadió gota a gota a la mezcla y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se añadió Ph1-a (5,7 g, 22,8 mmol) a la mezcla y la reacción se dejó proceder a temperatura ambiente durante 60min. La reacción se interrumpió con bicarbonato de sodio acuoso y se extrajo con éter dietílico (50 mL). La capa orgánica fue lavada con solución de bicarbonato de sodio, secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El residuo obtenido se purificó por un tapón de gel de sílice eluido con hexano, lo que dio el compuesto del título (3,9 g, 69 %).

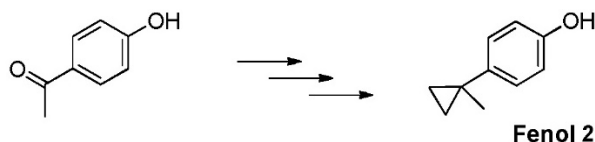
Etapa c) terc-butildimetil(3-(1-metilciclopropilo)fenoxi)silano (Ph1-c)

Se añadió dietilzinc en hexano (439,2 mmol) gota a gota en atmósfera de nitrógeno durante 10 minutos a una solución enfriada (0 °C) de la olefina Ph1-b (3,9 g, 15,7 mmol) en 1,2-dicloroetano (60 mL). Se añadió diyodometano (6,32 ml, 78,5 mmol) gota a gota y la mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 min y después se dejó que alcanzara la temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se vertió en una solución helada de cloruro de amonio y se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica fue lavada con bicarbonato de sodio saturado, secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto se recogió en hexano y se descartó el diyodometano restante. La capa de hexano se concentró hasta un producto bruto que se llevó a la siguiente etapa sin más purificación.

Etapa d) 3-(1-metilciclopropilo)fenol (Fenol 1)

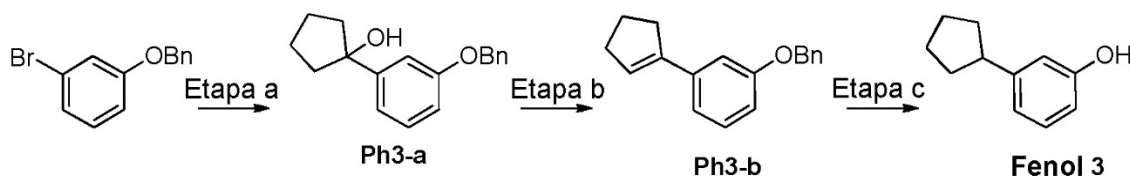
Ph1-c (3,45 g, 13,1 mmol) se tomó en solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio en THF (20 ml, 20 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se interrumpió con HCl 1M (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (100 mL). La capa orgánica fue lavada con salmuera (2x50 mL), secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluido con una mezcla de 2-propanol, EtOAc y hexano, lo que dio el compuesto del título (0,56 g, 29 %). MS 147,1 [M-H]⁻.

Fenol 2



El compuesto del título se preparó a partir 4-hidroxiacetofenona (6,0 g, 44,1 mmol) usando el procedimiento descrito para la preparación de Fenol 1. Rendimiento 53 %.

Fenol 3



45

Etapa a) 1-(3-(benciloxi)fenilo)ciclopentanol (Ph3-a)

Yodo, calentado con magnesio, se añadió a una suspensión de virutas de magnesio (1,29 g, 52,8 mmol) en THF seco

(50 mL). La mezcla se calentó a reflujo y se añadió alrededor de 5 % de una solución de 3-bromofenol (13,9 g, 52,8 mmol). Cuando la reacción había comenzado, se añadió la solución del bromuro gota a gota y después la mezcla se calentó a reflujo durante una hora más. La mezcla se enfrió hasta aproximadamente 5 °C y una solución de la ciclopentanona (4,44 g, 52,8 mmol) en THF (50 mL) fue añadida gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 h, entonces la reacción se interrumpió con solución saturada de cloruro amónico enfriada y se extrajo con éter dietílico (x3). La fase orgánica fue lavada con salmuera, secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (8,5 g, 54 %).

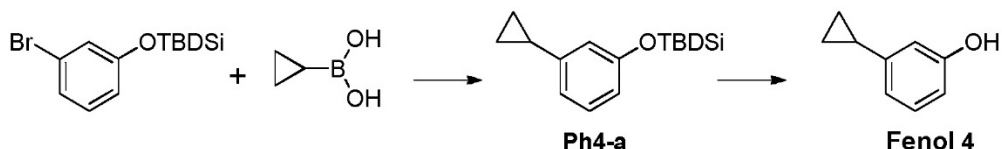
10 **Etapa b) 1-(benciloxi)-3-(ciclor)ent-1-en-1-ilo)benzeno (Ph3-b)**

Se añadió ácido p-Toluenosulfónico a una solución de Ph3-a (8,4 g, 28,2 mmol) en benceno (100 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante tres horas con una trampa de DMF, después se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con éter dietílico y se lavó con una solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio y salmuera. La fase orgánica fue secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto se purificó por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (6,45 g, 91 %). MS 249,4 [M-H].

Etapa c) 3-Ciclopentilfenol (Fenol 3)

Una solución de Ph3-b (6,4 g, 26 mmol) en EtOAc (75 mL) y EtOH (75 mL) se hidrogenó a 22 °C y 40PSI en presencia de Pd al 10 % sobre carbono (1,5 g) en un Parr durante la noche. El catalizador se filtró y se lavó con EtOAc y EtOH. El disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se aisló por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (3,6 g, 82 %). MS 161,2 [M-H].

25 **Fenol 4**



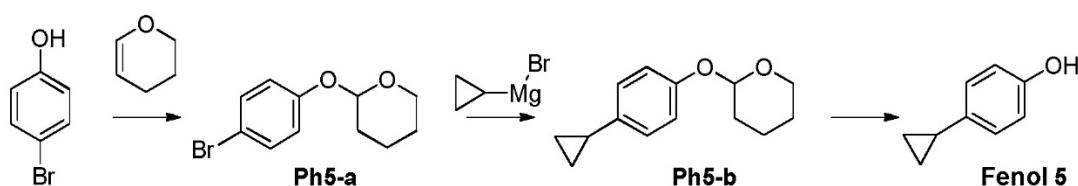
Etapa a) Terc-butilo(3-ciclopropilfenoxi)dimetilsilano (Ph4-a)

Una suspensión de (3-bromofenoxi)(terc-butilo)dimetilsilano (5,46 g, 19 mmol), ácido ciclopropilborónico (2,12 g, 24,7 mmol), fosfato de potasio tribásico (14,1 g, 66,5 mmol), triciclohexilfosfina (0,53 g, 1,9 mmol) y Pd(OAc)₂ (0,21 g, 0,95 mmol) en tolueno (80 mL) y agua (4 mL) se agitó a 110 °C durante la noche. La suspensión se diluyó con éter dietílico y se lavó con agua y salmuera. La fase orgánica fue secada (MgSO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (EtOAc/hexano), lo que dio el compuesto del título (1,94 g, 41 %).

Etapa b) 3-Ciclopropilfenol (Fenol 4)

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio 1 M (10,1 ml, 10,1 mmol) a una solución de Ph4-a (1,94 g, 7,81 mmol) en THF (25 mL). La solución se agitó durante 2 horas, después el disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc y se lavó dos veces con NH₄Cl concentrado (ac) y una vez con salmuera. La fase orgánica fue secada (MgSO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (hexano/ acetato de etilo 9:1 con isopropanol al 1 %) que dio el compuesto del título ligeramente impuro (1,24 g, 119 %).

45 **Fenol 5**



Etapa a) 2-(4-Bromofenoxi)tetrahidro-2H-piran(Ph5-a)

Se disolvió 4-Bromfenol (3,75 g, 21,7 mmol) en 3,4-dihidro-2H-piran (16 ml, 175 mmol), se añadió una cantidad catalítica de p-ácido toluenosulfónico (15 mg, 0,09 mmol) y la mezcla se agitó a 22 °C durante 45 min. La mezcla se diluyó con éter dietílico y se lavó con NaOH 1 M (ac) x2, agua, se secó (Na₂SO₄) y se concentró, lo cual dio el compuesto del título (5,57 g, 99 %).

Etapa b) 2-(4-Ciclopropilfenoxi)tetrahidro-2H-piran (Ph5-b)

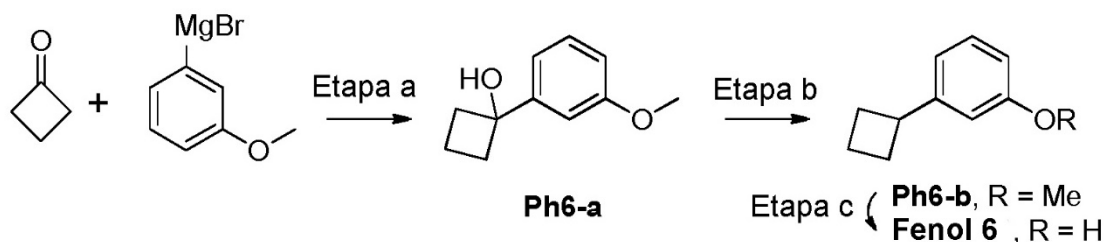
10 Se añadió una solución de ciclopropil bromuro de magnesio 0,5 M en THF (6,5 ml, 3,25 mmol) durante 15 min a una solución de Ph5-a (552,5 mg, 2,15 mmol), ZnBr (144 mg, 0,64 mmol), tri-terc-butilfosfina tetrafluoroborato (35,6 mg, 0,12 mmol) y Pd(OAc)₂ (29,5 mg, 0,13 mmol) en THF (4 mL). La mezcla se agitó a 22 °C durante 90 min, después se enfrió en un baño de hielo y se añadió agua helada (10 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc x3 y los extractos se lavaron con salmuera y después se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (éter de petróleo / EtOAc) que dio el compuesto del título (292 mg, 62 %).

Etapa c) 4-Ciclopropilfenol (Fenol 5)

20 Se añadió p-Toluenosulfónico ácido monohidrato (18,9 mg, 0,1 mmol) a una solución de Ph5-b (2,28 g, 10,45 mmol) en MeOH (15 mL). La mezcla se calentó a 120 °C durante 5 min en un reactor de microondas, luego se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (éter de petróleo / EtOAc). Los sólidos obtenidos se cristalizaron en éter de petróleo, lo que dio el compuesto del título (1,08 g, 77 %).

Fenol 6

25

**Etapa a) 1-(3-Metoxifenilo)ciclobutanol (Ph6-a)**

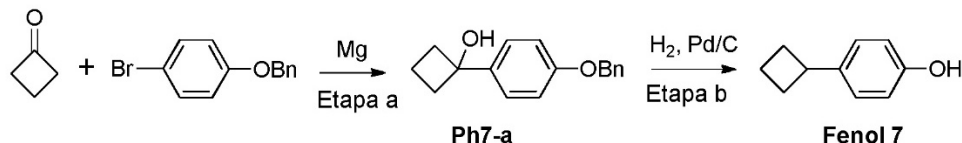
30 Una solución 1 M de 3-metoxifenil bromuro de magnesio en THF (2,11 g, 99,8 mmol) se añadió gota a gota entre 0 y 10 °C a una solución agitada de ciclobutanona (6,66 g, 95 mmol) en éter dietílico (65 mL). La mezcla se agitó durante tres horas a 0-10 °C, a continuación, la mezcla se añadió a una solución enfriada con hielo de NH₄Cl saturado (300 mL) y agua (300 mL). La mezcla se agitó durante 10 min y después se extrajo tres veces con éter dietílico. La fase orgánica fue secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (16,9 g, 86 %).

Etapa b) 1-ciclobutilo-3-metoxibenceno (Ph6-b)

40 Se añadió Pd al 10 % sobre carbono (2,5 g) a una solución de Ph6-a (15,4 g, 86,1 mmol) en etanol (200 mL) y la mezcla se hidrogenó en un Parr a 60 psi. Después de 18 h, se añadió Pd al 10 % adicional sobre carbono (1,5 g) y la mezcla se hidrogenó durante otras 18 horas a 60 psi. El catalizador se filtró y se lavó con EtOAc y EtOH. La solución se concentró a presión reducida y el producto bruto se aisló por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (14,0 g, 77 %).

Etapa c) 3-Ciclobutilofenol (Fenol 6)

50 Se añadió una solución de tribromuro de boro 1M (18,1 g, 72,2 mmol) en DCM gota a gota a 0 °C a una solución de Ph6-b (10,6 g, 65,6 mmol) en DCM seco (65 mL). La mezcla se agitó durante 2,5 horas a -5 °C, después la reacción se interrumpió con solución saturada enfriada de NH₄Cl y se extrajo tres veces con DCM. La fase orgánica fue secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en gel de sílice (isohexano / EtOAc), lo que dio el compuesto del título (9,73 g, 88 %).

Fenol 7

5

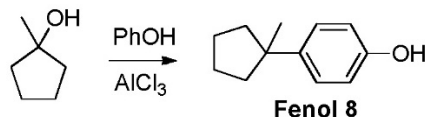
Etapa a) 1-(4-(benciloxi)fenilo)ciclobutanol (Ph7-a)

Una solución de 1-(benciloxi)-4-bromobenceno (2,63 g, 100 mmol) en éter dietílico:THF 1:1 (100 mL) se añadió gota a gota a reflujo durante ≈ 1 h a una suspensión de virutas de magnesio (2,43 g) y un yodo de rastreo en éter dietílico (50 mL). Cuando se completó la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante cuatro horas, después se enfrió a ≈ 0 °C. Se añadió THF seco (50 mL) seguido de la adición lenta de una solución de ciclobutanona (7,01 g, 100 mmol) en éter dietílico (50 mL) y la mezcla se dejó para alcanzar la temperatura ambiente. Después de agitar durante 2 h, fue añadida una solución saturada fría de NH_4Cl (500 mL) y la mezcla se agitó durante 15 minutos y después se extrajo dos veces con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de sodio y se evaporó bajo presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice, para dar el compuesto del título (12,5 g, 42 %).

Etapa b) 4-Ciclobutilfenol (Fenol 7)

Pd al 10 % sobre carbono (2,55 g, 21,5 mmol) se añadió bajo argón a una solución de Ph7-a (12,4 g, 41,4 mmol) en EtOH abs (110 mL) el y la mezcla se hidrogenó a 45 psi a temperatura ambiente durante 18 h. El catalizador se filtró, se lavó con etanol y la solución se concentró. El producto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (isohexano - EtOAc). Fracciones apropiadas se reunieron y se concentraron y el residuo se cristalizó en éter de petróleo que dio el compuesto del título (3,15 g, 51 %).

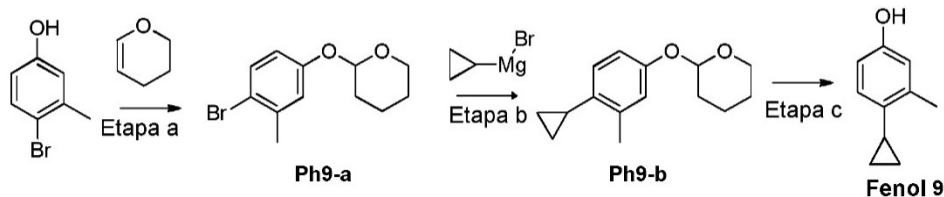
25

Fenol 8**30 4-(1-Metilciclopentilo)fenol (Fenol 8)**

Una solución de 1-metilciclopentanol (2,00 g, 20,0 mmol) y fenol (2,07 g, 22,0 mmol) en pentano (50 mL) se añadieron gota a gota durante 30 min a una suspensión de AlCl_3 fresco (1,33 g, 10 mmol) en pentano (100 mL). La mezcla resultante se agitó bajo N_2 a temperatura ambiente durante 72 h, a continuación, la mezcla de reacción se vertió en agua/hielo y HCl (12 M, 20 mmol, 1,66 mL). La fase orgánica fue lavada con agua (50 mL) y salmuera (50 mL), secada (Na_2SO_4), filtrada y concentrada. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (MeOH - DCM), para dar el compuesto del título (426 mg, 12 %).

Fenol 9

40

**Etapa a) 2-(4-Bromo-3-metilfenoxi)tetrahidro-2H-piran(Ph9-a)**

PTS (16 mg, 0,086 mmol) se añadió a una solución de 4-bromo-3-metilfenol (4,0 g, 21,4 mmol) en 3,4-dihidro-2H-piran (16 ml, 175 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se diluyó con éter dietílico y se lavó con NaOH 1 M (ac) y agua. La fase orgánica fue secada (Na_2SO_4), filtrada y concentrada. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (EtOAc / heptano), para dar el compuesto del título (3,32 g, 57 %).

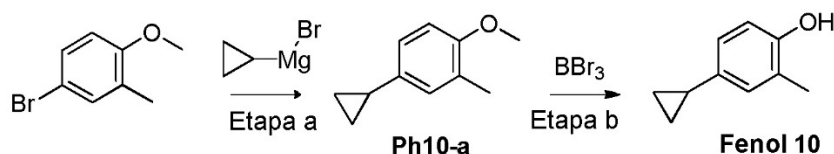
Etapa b) 2-(4-Ciclopropilo-3-metilfenoxi)tetrahidro-2H-piran (Ph9-b)

10 Ph9-a (3,12 g, 11,5 mmol), ZnBr_2 (2,59 g, 11,5 mmol), tri-terc-butilfosfina tetrafluoroborato de (0,2 g, 0,69 mmol) y $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (258 mg, 1,15 mmol) se puso en un matraz y el matraz se lavó abundantemente con N_2 un par de veces. Se añadió THF (10 mL) mientras se agitaba, seguido de la adición gota a gota de 0,5 M de bromuro de ciclopropilmagnesio en THF (35 ml, 17,4 mmol) durante 5 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente, después se filtró a través de un tapón de Celite, se eluyó con MeOH. La solución fue concentrada y el producto bruto se purificó por
15 cromatografía en columna sobre sílice (EtOAc / heptano), para dar el compuesto del título (1,69 g, 57 %).

Etapa c) 4-Ciclopropilo-3-metilfenol (Fenol 9)

Ph9-b (1,70 g, 7,30 mmol) fue disuelto en MeOH (20 mL) y se añadió $p\text{TsxH}_2\text{O}$ (318 mg, 1,67 mmol). La mezcla se
20 agitó a 22°C durante 30 h, y después se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna (EtOAc / heptano), para dar el compuesto del título (704 mg, 65 %).

Fenol 10



Etapa a) 4-ciclopropilo-1-metoxi-2-metilbenceno (Ph10-a)

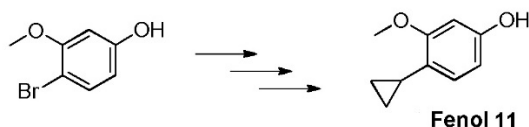
Se hizo reaccionar 4-Bromo-1-metoxi-2-metilbenceno (4,39 g, 21,9 mmol) con bromuro de ciclopropilmagnesio según
30 el procedimiento descrito en Ph9 etapa b, que dio el compuesto del título (1,54 g, 43 %).

Etapa b) 4-ciclopropilo-2-metilfenol (Fenol 10)

Se añadió BBr_3 (5 ml, 5 mmol) bajo N_2 a 0 °C a una solución de Ph10-a (1,54 g, 9,49 mmol) en DCM (7,5 mL). La
35 reacción se agitó durante 2 h, después se interrumpió con MeOH (3 mL) y se concentró. El producto bruto se disolvió en EtOAc y se lavó con salmuera. La fase orgánica fue secada (Na_2SO_4), filtrada y concentrada. El producto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice, para dar el compuesto del título (826 mg, 59 %). MS 147.11 [M-H]⁻.

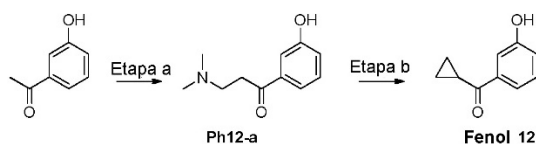
Fenol 11

40



4-ciclopropilo-3-metoxifenol (Fenol 11)

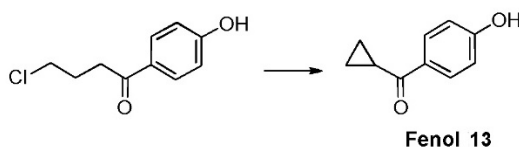
45 El compuesto del título se preparó a partir 4-bromo-3-metoxifenol (1,11 g, 5,49 mmol) según el procedimiento descrito para la preparación de Fenol 9. Rendimiento 40 %.

Fenol 12**5 Etapa a) 3-(dimetilamino)-1-(3-hidroxi-fenilo)propan-1-ona (Ph12-a)**

Unas pocas gotas de HCl se añadieron a una solución de 3-hidroxi acetofenona (4,08 g, 30 mmol), paraformaldehído (4,05 g, 45 mmol) y clorhidrato de dimetilamina (2,69 g, 33 mmol) en EtOH absoluto (100 mL) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 18 h. Se añadieron clorhidrato de dimetilamina adicional (0,55 eq., 1,22 g),
 10 paraformaldehído (0,5 eq., 1,35 g) y HCl (0,5 mL) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h adicionales, después se enfrió a temperatura ambiente. Se recogió el sólido blanco precipitado y se lavó con EtOH frío (50 mL) y acetona fría (10 mL) y después se liofilizó, lo que dio el compuesto del título (2,59 g, 38 %) que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 Etapa b) ciclopropilo(3-hidroxi-fenilo)metanona (Fenol 12)

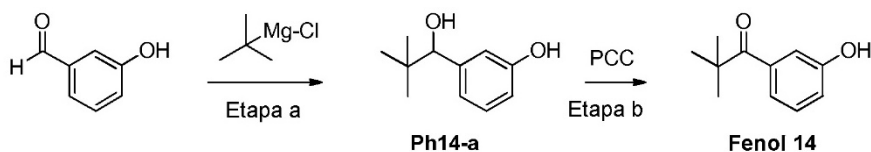
Se añadió NaH (dispersión en aceite mineral al 60 %) (1,13 g, 28,2 mmol) en porciones a temperatura ambiente a una suspensión agitada de trimetilsulfoxonio yoduro (6,20 g, 28,2 mmol) en DMSO (100 mL). Después de 1 h, Ph12-a sólido (2,59 g, 11,3 mmol) se añadió en porciones con agitación y enfriamiento. La mezcla de reacción se agitó a
 20 temperatura ambiente durante 40 h, luego se vertió en agua fría (200 mL) y se extrajo con DCM (3x100 mL). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl (2 x 100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre sílice (MeOH / DCM), para dar el compuesto del título (883 mg, 48 %).

25 Fenol 13**Etapa a) ciclopropilo(4-hidroxi-fenilo)metanona (Ph13)**

30 Se añadió *p*-hidroxi- γ -clorobutirofenona (4,95 g) en porciones durante aproximadamente 30 min a una solución de NaOH (8 mL, ac, 50 % w/w), luego se añadió NaOH (35 mL, ac, 25 % w/w) seguido de *p*-hidroxi γ -clorobutirofenona (4,95 g) en una porción. La temperatura se bajó a 140 °C y se añadió NaOH (8 g). Después de 90 min, se añadió H₂O (10 mL), y después de 60 minutos adicionales, se enfrió la mezcla de reacción, se diluyó con H₂O y se neutralizó con
 35 HOAc (\approx 27-30mL) a pH \approx 7. El precipitado formado se filtró, se lavó con H₂O y se secó al vacío. Los sólidos se trituraron en CHCl₃ (200 mL) a 40 °C durante 10 min, luego a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión se calentó a 40 °C durante 30 min, después se filtró. El filtrado se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a \approx 70ml. Se añadió hexano y se formó un aceite que finalmente se convirtió en cristales. La suspensión se filtró, los sólidos se lavaron con CHCl₃/hexano y se secó, lo que dio el compuesto del título (4,15 g, 51 %).

40

Fenol 14



Etapa a) 3-(1-hidroxi-2,2-dimetilpropilo)fenol (Ph14-a)

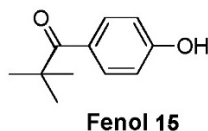
- 5 Se añadió t.Bu-MgBr (1,5 eq.) gota a gota durante 30 minutos a una mezcla fría (-10 °C) de 3-hidroxibenzaldehído (2,00 g, 16,4 mmol) en éter dietílico (20 mL). Durante la adición, fue añadido THF (20 mL). La mezcla se dejó que alcanzara 23 °C y se agitó durante 6 horas. Se añadió más t.Bu-MgBr (0,7 eq.) y la mezcla se dejó en agitación durante la noche, después se enfrió y la reacción se interrumpió con NH₄Cl acuoso saturado. Se añadió EtOAc a la mezcla seguido de adición de HCl acuoso 1 M hasta que se obtuvo una mezcla homogénea. Las fases fueron separadas y la fase orgánica fue lavada con salmuera, secada (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna, para dar el compuesto del título (1,1 g, 37 %).

Etapa b) 1-(3-hidroxifenilo)-2,2-dimetilpropan-1-ona (Ph14)

- 15 A un matraz de fondo redondo secado al horno se añadió 3 Å MS y clorocromato de piridinio (PCC) (1,97 g, 9,15 mmol) seguido de DCM seco (5 mL). La mezcla se agitó a 20 °C durante 5 minutos después de lo cual se añadió una mezcla de AA8019 (1,10 g, 6,10 mmol) en DCM (5 mL) lentamente. Después de la oxidación completa, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, lavando la almohadilla con éter dietílico. El filtrado se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna, para dar el compuesto del título (402 mg, 37 %). MS 179,25 [M+H]⁺.

20

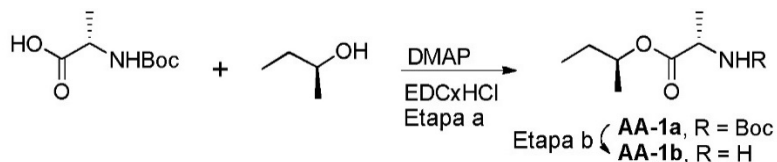
Fenol 15



25 1-(4-Hidroxifenilo)-2,2-dimetilpropano-1-ona (Ph15)

Se hizo reaccionar 4-hidroxibenzaldehído (3 g, 24,6 mmol) según el procedimiento descrito para la preparación de Fenol 14, que dio el compuesto del título (538 mg, 17 %).

30 Aminoácido 1



Etapa a) (S)-(S)-sec-butilo 2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoato (AA1-a)

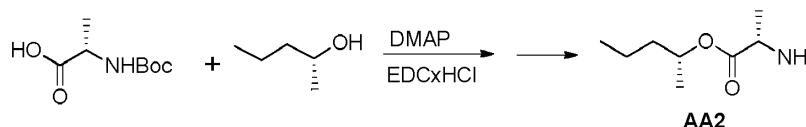
35

Se disolvió L-Boc-Alanina (2,18 g, 11,5 mmol) en DCM seco (40 mL) y se añadió el alcohol (R)-butan-2-ol (938 mg, 12,6 mmol). La mezcla se enfrió a aproximadamente 5 °C y se añadió EDC (3,31 g, 17,2 mmol) en una porción seguido de adición en porciones de DMAP (140 mg, 1,15 mmol). La mezcla se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante la noche, después se diluyó con acetato de etilo (-300 mL) y la fase orgánica se lavó tres veces con una solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó en sulfato de sodio y se evaporó bajo presión reducida. El producto se aisló por cromatografía en gel de sílice, se eluyó con isohexano y acetato de etilo al 10 %, lo que dio el compuesto del título (2,78 g, 98 %).

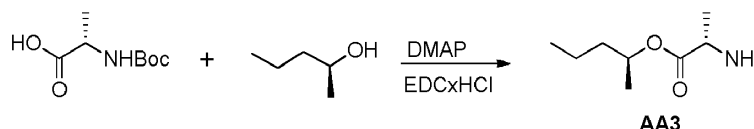
40

Etapa b) (S)-(S)-Sec-butilo 2-aminopropanoato (AA1-b)

Una mezcla de AA1-a (2,77 g, 11,3 mmol) y p-tolueno hidrato de mono ácido sulfónico (2,15 g, 11,3 mmol) en EtOAc (45 mL) se agitó durante 16 h a 65 °C, después se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se cristalizó en éter dietílico, lo que dio el compuesto del título (3,20 g, 89 %).

Aminoácido 2**(S)-(R)-Pentan-2-ilo 2-aminopropanoato (AA2)**

El procedimiento descrito para la preparación de AA1 fue seguido, pero utilizando (R)-pentan-2-ol en lugar de (R)-butan-2-ol, que dio el compuesto del título (4,6 g).

Aminoácido 3**(S)-(S)-Pentan-2-ilo 2-aminopropanoato (AA3)**

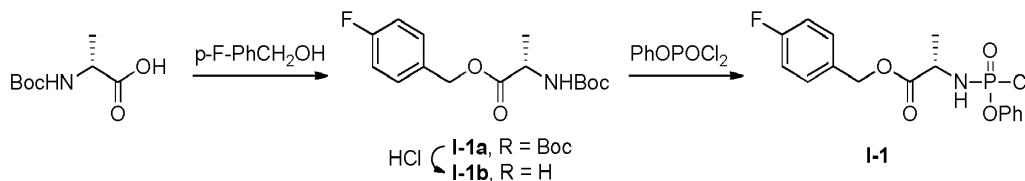
El procedimiento descrito para la preparación de AA1 fue seguido, pero utilizando (S)-pentan-2-ol en lugar de (R)-butan-2-ol, que dio el compuesto del título (8,3 g).

25

Se prepararon los siguientes compuestos intermedios y pueden usarse en la preparación de compuestos de la invención:

Compuesto Intermedio 1

30

**Etapa a) (R)-4-fluorobencilo 2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoato (I-1a)**

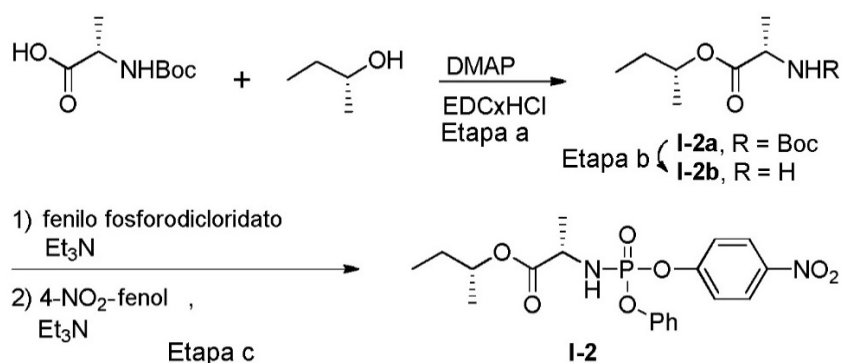
35 Boc-L-AlaOH (19,92 mmol), DMAP (1,99 mmol) y (4-fluorofenilo)metanol (23,9 mmol) se disolvieron en CH₂Cl₂ (100 mL). Se añadió a esta solución trietilamina (23,9 mmol) seguido de EDCI (23,9 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente bajo N₂. La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ (100 mL), se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO₃ (2x50 mL), solución acuosa saturada de NaCl (2x50 mL), se secó con (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (40 y fue eluido con n-hexano-EtOAc (95:5 a 60:40) que dio el compuesto del título (4,44 g) como un sólido ceroso blanco. MS: 296 [M-H]⁻..

Etapa b) (R)-4-fluorobencilo 2-aminopropanoato (I-1b)

45 El compuesto I-1a (14,93 mmol) se disolvió en HCl 4M /dioxano (40 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se evaporó a sequedad que dio la sal de hidrocloreuro del compuesto del título (3,4 g) como un polvo blanco. MS: 198 [M+H]⁺.

Etapa c) (2R)-4-fluorobencilo 2-((cloro(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-1)

Se añadió PhOPOCl₂ (4,28 mmol) gota a gota a -78 °C a una solución del compuesto I-5b (4,28 mmol) en CH₂Cl₂, seguido de la adición gota a gota de trietilamina (8,56 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78°C bajo Ar y se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía (n-hexano/EtOAc (88:12)-(0:100)). que dio el compuesto del título (769 mg). ³¹P-RMN (CDCl₃) δ: 7,85 (s) y 7,54 (s) (diastereómeros R_P y S_P).

10 Compuesto Intermedio 2**Etapa a) (S)-(R)-sec-butilo 2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoato (I-2a)**

15

Se disolvió L-Boc-Alanina (2,18 g, 11,5 mmol) en DCM seco (40 mL) y se añadió el alcohol (R)-butan-2-ol (938 mg, 12,6 mmol). La mezcla se enfrió a aproximadamente 5 °C y se añadió EDC (3,31 g, 17,2 mmol) en una porción seguido de adición en porciones de DMAP (140 mg, 1,15 mmol). La mezcla se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante la noche, después se diluyó con acetato de etilo (-300 mL) y la fase orgánica se lavó tres veces con una solución saturada de hidrógeno carbonato de sodio y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó en sulfato de sodio y se evaporó bajo presión reducida. El producto se aisló por cromatografía en gel de sílice, se eluyó con isohexano y acetato de etilo al 10 %, lo que dio el compuesto del título (2,78 g, 98 %).

20

Etapa b) (S)-(R)-Sec-butilo 2-aminopropanoato (I-2b)

25

Una mezcla de I-10a (2,77 g, 11,3 mmol) y p-tolueno hidrato de mono ácido sulfónico (2,15 g, 11,3 mmol) en EtOAc (45 mL) se agitó durante 16 h a 65 °C, después se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se cristalizó en éter dietílico, lo que dio el compuesto del título (3,20 g, 89 %).

30 Etapa c) (2S)-(R)-Sec-butilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-2)

Se añadió diclorofosfato de fenilo (1 eq) en nitrógeno a -30 °C a una solución del Compuesto I-10b (3,15 g, 9,92 mmol) en DCM (75 mL), seguido de la adición gota a gota de trietilamina (2 eq). La mezcla se dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante la noche, después se enfrió a aproximadamente 5 °C y se añadió 4-nitrofenol (1 eq, 15 mmol) como un sólido seguido de la adición gota a gota de trietilamina (1 eq g, 15 mmol) y la mezcla se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente, después se concentró a presión reducida, se diluyó con acetato de etilo (40 mL) y éter (40 mL) y se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La sal de trietilamina-HCl se filtró y el filtrado fue concentrado a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre sílice, se eluyó con iso-hexano-etil-acetato, para dar el compuesto del título (4,19 g, 79 %).

35

40

Los siguientes compuestos se prepararon según el procedimiento descrito para la preparación de I-2 usando el alcohol apropiado:

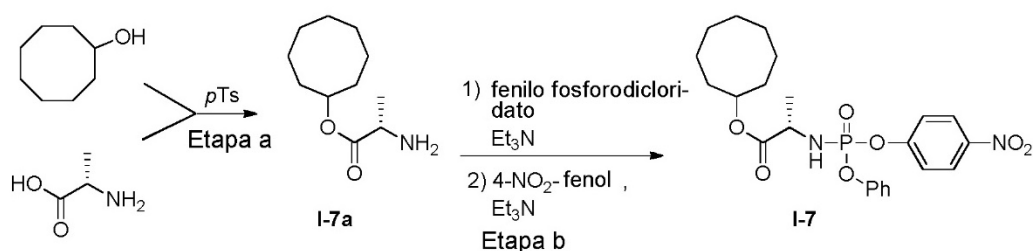
| I-# | Estructura | alcohol |
|-----|------------|---------------------|
| I-3 | | ciclopropilmetanol |
| I-4 | | ciclopentilmetanol |
| I-5 | | pentan-3-ol |
| I-6 | | 2-propilpentan-1-ol |

Compuesto Intermedio 6, diastereómero-1 & -2

Los dos diastereómeros del compuesto I-6 se separaron por SFC, que dio I-6-dia-1 y I-6-dia-2.

5

Compuesto Intermedio 7



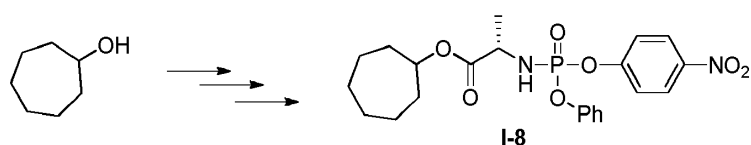
10 **Etapa a) (S)-ciclooctil 2-aminopropanoato (I-7a)**

A una suspensión de L-alanina (1,7 g, 19,1 mmol) y ciclooctanol (25 ml, 191 mmol) en tolueno (100 mL) se añadió monohidrato ácido p-toluenosulfónico (3,6 g, 19,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 25 h y el agua se eliminó de la reacción usando una trampa Dean-Stark. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se mantuvo al vacío durante la noche. Al residuo (27 g) se añadió éter dietílico (100 mL). El precipitado blanco se recogió por filtración, se lavó con éter dietílico (3x50 mL) y se secó al vacío, lo que dio el compuesto del título (4,84 g, 68 %).

20 **Etapa b) (2S)-ciclooctilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-7)**

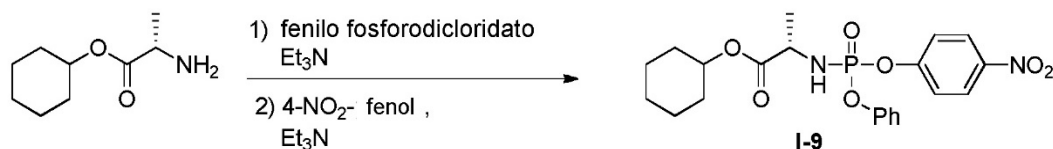
El compuesto I-7a se hizo reaccionar según el procedimiento descrito para la preparación de I-2 etapa c, que dio el compuesto del título (4,7 g, 76 %)

25 **Compuesto Intermedio 8**



(2S)-cicloheptilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-22)

El procedimiento descrito para la preparación del compuesto I-7 fue seguido, pero utilizando cicloheptanol (27 ml, 224 mmol) en lugar de ciclooctanol, lo que dio el compuesto del título (5,72 g, 55 %).

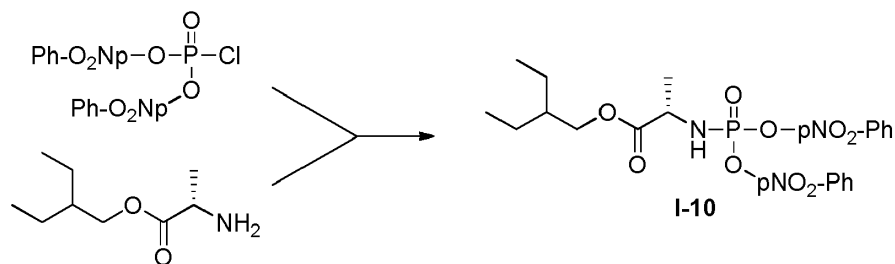
Compuesto Intermedio 9

10

(2S)-Ciclohexilo 2-(((4-nitrofenoxi) (fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-23)

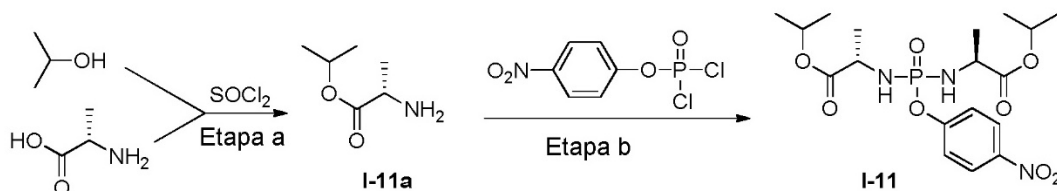
El procedimiento descrito para la preparación de I-2 etapa c fue seguido, pero utilizando (S)-ciclohexilo 2-aminopropanoato en lugar de (S)-3,3-dimetilbutilo 2-aminopropanoato, que dio el compuesto del título (10,6 g, 82 %).

15

Compuesto Intermedio 10**20 (S)-2-Etilbutil 2-((bis(4-nitrofenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-10)**

Se añadió (S)-2-Etilbutil 2-aminopropanoato (5 g, 14,49 mmol) a una solución de bis(4-nitrofenilo) fosforocloridato (6,14 g, 17,1 mmol) en DCM (50 mL), la mezcla se enfrió en un baño de hielo y se añadió Et₃N (4,77 ml, 34,2 mmol) gota a gota. El enfriamiento se retiró después de 15 min y la mezcla de reacción se agitó a 23 °C hasta que la reacción se completó según TLC. Después, se añadió éter dietílico, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre sílice, lo que dio el compuesto del título (2,05 g, 82 %).

25

Compuesto Intermedio 11

30

Etapa a) (S)-isopropilo 2-aminopropanoato (I-11a)

Se añadió SOCl₂ (29 ml, 400 mmol) gota a gota a 0 °C a una suspensión de la sal de HCl de L-alanina (17,8 g, 200 mmol) en isopropanol (700 mL). La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se concentró, lo que dio el compuesto del título (29,2 g, 87 %).

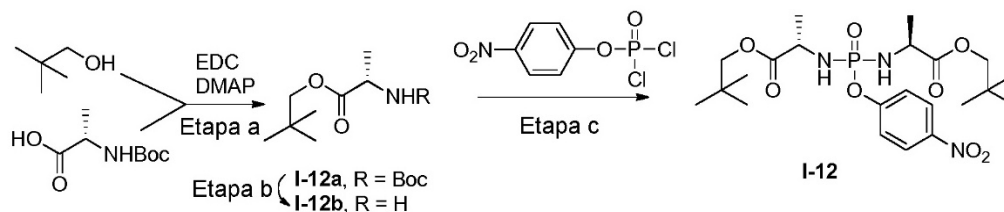
35

Etapa b) (2S)-Isopropilo 2-(((S)-1-isopropoxi-1-oxopropan-2-ilo)amino)(4-nitrofenoxi)fosforilo)-amino)propanoato (I-11)

40

Una solución de 4-nitrofenil diclorofosfato (1,8 g 7 mmol) en DCM se añadió gota a gota a -60 °C a una solución de la amina I-11a (2,35 g, 14 mmol) y trietilamina (7,7 ml, 56 mmol) en DCM. La mezcla de reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente, se agitó durante la noche, se concentró y después se diluyó con acetato de etilo y éter y se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La sal de trietilamina-HCl se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluida con iso-hexano-etil acetato, lo que dio el compuesto del título (1,6 g, 50 %).

Compuesto Intermedio 12



10

Etapa a) (S)-Neopentilo 2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoato (I-12a)

Se añadió EDAC y DMAP en porciones a -5 °C a una solución de Boc-alanina (18,9 g, 100 mmol) y neopentilalcohol (13,0 ml, 120 mmol) en DCM (200 mL). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante 72 h. Se añadió EtOAc (700 mL) y la fase orgánica se lavó tres veces con una solución saturada de NaHCO₃ y una vez con salmuera, después se concentró. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna y fue eluido con n-hexano-EtOAc 90/10 a 80/20, que dio el compuesto del título (21 g, 81 %).

Etapa b) (S)-Neopentilo 2-aminopropanoato (I-12b)

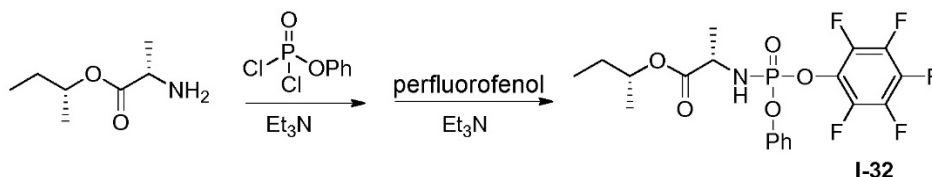
Se añadió p-Tolueno ácido sulfónico (15,6 g, 82,0 mmol) a -65 °C a una solución de la amina protegida con Boc I-12a (21,1 g, 82,0 mmol) en EtOAc (330 mL). La mezcla de reacción se agitó a -65 °C durante 8 h, luego se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante la noche. Luego se filtró la mezcla y se concentró, lo cual dio el compuesto del título (21 g, 78 %).

(2S)-Neopentilo 2-(((S)-1-(neopentiloxi)-1-oxopropan-2-ilo)amino)(4-nitrofenoxi)-fosforilo)amino)propanoato (I-12)

Se añadió 4-Nitrofenol diclorofosfato gota a gota durante 1 h a -50 °C a una solución de la amina I-12b (3,90 g, 24,5 mmol) en DCM (100 mL). La mezcla de reacción se dejó alcanzar la temperatura ambiente, se agitó durante la noche, se concentró y después se diluyó con éter dietílico y se dejó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida y el residuo obtenido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluida con iso-hexano-etil acetato, lo que dio el compuesto del título (4,8 g, 77 %).

35

Compuesto Intermedio 32



(2S)-(R)-sec-butilo 2-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-32)

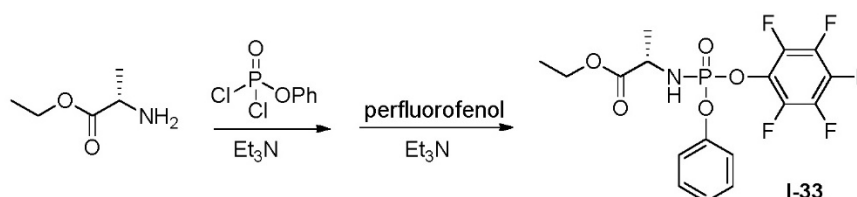
Se añadió Et₃N (10,9 ml, 78,1 mmol) gota a gota a -70 °C en atmósfera de nitrógeno durante 15 minutos a una solución agitada de la sal de PTS de (S)-(R)-sec-butilo 2-aminopropanoato (12,0 g, 37,7 mmol) en DCM (50 mL). A esta mezcla se añadió una solución de diclorofosfato de fenilo (5,61 ml, 37,7 mmol) en DCM (50 mL) durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a -70°C durante 30 minutos adicionales, luego se dejó calentar a 0°C durante 2 h y se agitó durante

45

1 h. Una solución de pentafluorofenol (6,94 g, 37,7 mmol) y Et₃N (5,73 ml, 41,1 mmol) en DCM (30 mL) se añadió a la mezcla durante 20 minutos. La mezcla cruda se dejó agitar a 0°C durante 18 h, y luego se concentró. El residuo se recogió en THF (100 mL), los insolubles se separaron por filtración y se lavaron varias veces con THF. El disolvente se evaporó y el residuo se trituroó con éter metil terc-butilo. La materia insoluble se separó por filtración y se lavó con éter metil terc-butilo. El filtrado combinado se concentró y el sólido bruto se sometió a ultrasonidos con n-hexano/EtOAc (80:20; 100 mL). El sólido se filtró, se lavó con n-hexano/ EtOAc (80:20), que dio el estereoisómero fósforo puro del compuesto del título como un sólido blanco (2,3 g, 13 %).

Compuesto Intermedio 33

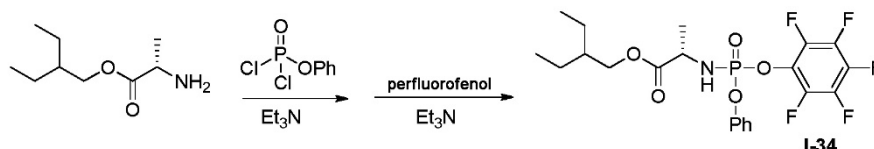
10



(2S)-etilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-33)

15 El estereoisómero fósforo puro del compuesto del título se preparó según el procedimiento descrito para I-32, pero a partir de la sal de HCl de (S)-etilo 2-aminopropanoato (11,0 g, 71,1 mmol). Rendimiento 8,56 g, 27 %.

Compuesto Intermedio 34



20

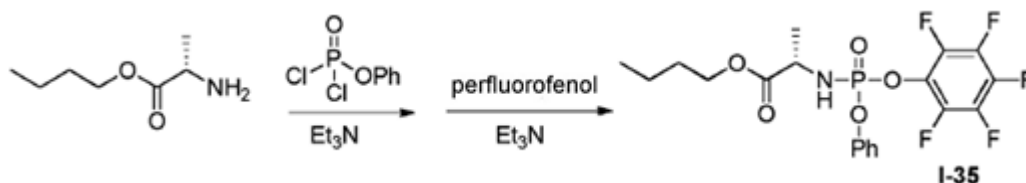
(2S)-2-etilbutilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-34)

El estereoisómero fósforo puro del compuesto del título se preparó según el procedimiento descrito para I-32, pero a partir de la sal de pTs de (S)-2-etilbutilo 2-aminopropanoato (18,8 g, 54,4 mmol). Rendimiento 27,0 g, 99 %.

LC-MS 496,44 [M+H]⁺.

Compuesto Intermedio 35

30

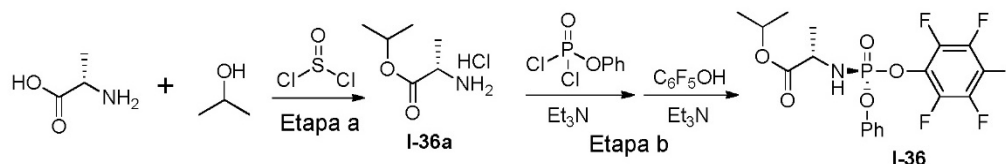


(2S)-butilo 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-35)

35 Se añadió fenil diclorofosfato (12,4 ml, 83,1 mmol) a una suspensión enfriada (-20 °C) de (S)-butilo 2-aminopropanoato (26,4 g, 83,1 mmol) en diclorometano (200 mL). La mezcla se agitó durante 10 min y después se añadió Et₃N (25,5 ml, 183 mmol) gota a gota durante 15 min. La mezcla se agitó a -20 °C durante 1 hora y después a 0 °C durante 30 min. La mezcla se mantuvo enfriada en un baño de hielo y se añadió perfluorofenol (15,3 g, 0,08 mol) seguido por una adición gota a gota de Et₃N (11,6 ml, 0,08 mol). La mezcla se agitó durante la noche y llevada lentamente a 20 °C. Se añadió éter dietílico y la mezcla se filtró a través de Celite, se concentró y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con éter de petróleo / EtOAc (9:1 -> 8:2). Fracciones apropiadas se reunieron, se concentraron y se cristalizaron en éter de petróleo EtOAc (9:1) que dio el estereoisómero fósforo puro del compuesto

del título como un sólido blanco (2,23 g, 5.8 %).

Compuesto Intermedio 36



5

Etapa a) L-Alanina isopropiloéster clorhidrato (I-36a)

Se añadió cloruro de tionilo (80,2 g, 0,674 mol, 1,5 eq) con enfriamiento a 2-propanol (400 mL) a -7 a 0 °C durante un período de 30 minutos, seguido de adición de L-alanina (40,0 g, 0,449 mol) a 0 °C. Un indicador de flujo y un lavador con una mezcla de hidróxido de sodio al 27,65 % (228 g) y agua (225 g) se conectaron a la salida. La mezcla de reacción se agitó a 67 °C durante dos horas, después a 70 °C durante una hora y a 20 - 25 °C durante la noche. La mezcla de reacción se destiló a 47-50 °C bajo presión reducida (250 - 50 mbar) a partir de un baño a 60 °C. Cuando la destilación se hizo muy lenta, se añadió tolueno (100 mL) al aceite residual, y la destilación a 48-51 °C bajo presión reducida (150 - 50 mbar) a partir de un baño de 60 °C se continuó hasta que se hizo muy lenta. Se añadió t-butilometiléter (TBME) (400 mL) al aceite residual, y el sistema de dos fases fue sembrado bajo agitación eficiente a 34 - 35 °C. Cuando se observó la cristalización, la mezcla se enfrió a 23 °C durante un período de una hora, y el precipitado aislado por filtración. La torta del filtro se lavó con TBME (100 mL) y se secó hasta peso constante a presión reducida sin calentar, lo que dio el compuesto del título (67,7 g, 90 %) como sólidos blancos.

20

Etapa b) (S)-Isopropilo 2-(((S)-(perfluorofenoxy)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (I-36)

Se añadió diclorofosfato de fenilo (62,88 g, 0,298 mol, 1,0 eq) en atmósfera de nitrógeno a una solución de L-alanina isopropiloéster hidrocloreto (50,0 g, 0,298 mol) en DCM (310 mL) a 0 °C - la adición se completó por lavado con DCM (39 mL). La mezcla se enfrió y se añadió trietilamina (63,35 g, 0,626 mol, 2,1 eq) durante un periodo de 70 minutos con enfriamiento, manteniendo la temperatura no más alta que -14 °C, la adición fue completada por lavado con DCM (39 mL). La mezcla se agitó durante una hora de -15 a -20 °C, después se calentó a -8 °C y se añadió una solución de pentafluorofenol (60,38 g, 0,328 mol, 1,1 eq) y trietilamina (33,19 g, 0,328 mol, 1,1 eq) en DCM (78 mL) durante un período de 42 minutos con enfriamiento, manteniendo la temperatura no más alta que 0 °C - la adición fue completada por lavado con DCM (39 mL). La mezcla se agitó durante una hora a 0 °C y luego durante la noche a +5 °C. El precipitado formado se separó por filtración, y la torta del filtro se lavó con DCM (95 mL). Los filtrados combinados se lavaron a 5 °C con agua (2x190 mL). La fase orgánica se destiló a 32 - 38 °C a presión reducida (650 - 600 mbar), y la destilación se continuó hasta un volumen residual de aprox. 170 ml, en parte se obtuvo masa cristalizada. Se añadió acetato de etilo (385 mL), y la solución clara resultante se destiló a 43 - 45 °C bajo presión reducida (300 - 250 mbar). Se continuó la destilación hasta que se obtuvo un volumen residual de aprox. 345 mL. La solución clara se enfrió a 36 °C, y la cristalización se indujo por adición de cristales de siembra de (S)-isopropilo 2-(((S)-(perfluorofenoxy)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (20 mg) preparado como se describe en J. Org. Chem., 2011, 76, 8311 - 8319. La mezcla se enfrió a 27 °C durante un período de una hora, luego se añadió n-heptano (770 mL) durante un período de 47 minutos, y la mezcla se agitó durante un período adicional de 37 minutos. Se añadió trietilamina (6,03 g, 0,2 eq), y la mezcla se agitó a 23 - 25 °C durante la noche. El precipitado se aisló por filtración. La torta del filtro se lavó con acetato de etilo:n-heptano (1 :9, 80 mL) y se secó a constante bajo presión reducida (por debajo de 0,1 mbar) sin calentamiento, lo que dio el compuesto del título (75,64 g, 56 %) como un material cristalino de color blanco.

¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ 7,38-7,32 (m, 2 H), 7,27-7,24 (m, 2 H), 7,23-7,19 (m, 1 H), 5,10-4,98 (m, 1 H), 4,20-4,08 (m, 1 H), 4,03-3,96 (m, 1 H), 1,46 (dd, 7,2, 0,6 Hz, 3 H), 1,26-1,23 (2xd, 6 H);

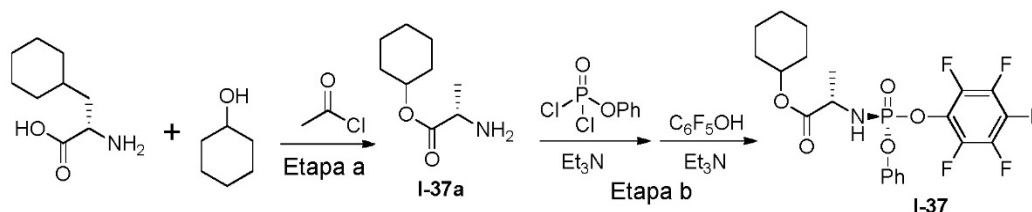
¹³CRMN (CDCl₃, 100 MHz) δ 172,7 (d, J = 8,8 Hz), 150,4 (d, J = 7,1 Hz), 143,4-143,0 (m), 141,0-140,2 (m), 140,0-139,8 (m), 137,6-137,2 (m), 136,8-136,2 (m), 130,0 (d, J = 0,82 Hz), 125,8 (d, J = 1,4 Hz), 120,3 (d, J = 5,0 Hz), 69,8, 50,6, (d, J = 1,9 Hz), 21,8 (d, J = 1,9 Hz), 21,2 (d, J = 4,4 Hz);

50

Las propiedades de cristalización y los datos espectrales de RMN del compuesto del título estaban según los datos publicados (J. Org. Chem., 2011, 76, 8311-8319), confirmando así la estereoquímica S del átomo de fósforo del

compuesto del título.

Compuesto Intermedio 37



5

Etapa a) (S)-ciclohexilo 2-aminopropanoato (I-37a)

Se añadió cloruro de acetilo (4,2 ml, 59,3 mmol) gota a gota a una solución agitada de ciclohexanol (50 mL), seguido de L-fenilalanina (4,0 g, 24,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 16 h, después se concentró a presión reducida, se trituró con éter dietílico/Hexano (1:1) y se secó para obtener el compuesto del título (6 g, 88 %) como sólido blanco que se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

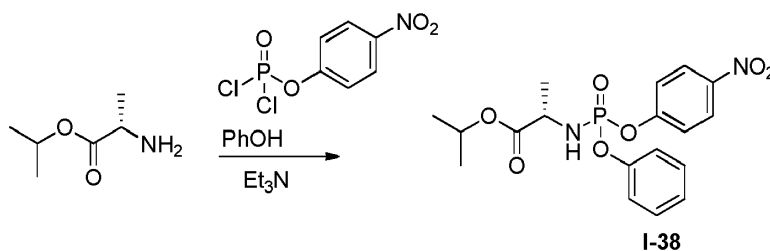
Etapa b) (S)-Ciclohexilo 2-(((S)-((perfluorofenoxy)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (I-37)

15

A una solución agitada del compuesto I-37a (7,0 g, 24,6 mmol) en DCM seco (42 mL) se añadió trietilamina (7,17 ml, 51,5 mmol) gota a gota a -70 °C durante 30 minutos, seguido de la adición de una solución de diclorofosfato de fenilo (5,15 g, 34,5 mmol) en DCM seco (21 mL) durante 1 h. La mezcla de reacción se agitó a -70°C durante 30 minutos adicionales, a continuación se dejó calentar a 0°C durante 2 h y se agitó durante 1 h. A esta mezcla se añadió una solución de pentafluorofenol (4,94 g, 26,8 mmol) y trietilamina (3,74 mL, 26,8 mmol) en DCM seco (28 mL) durante 1 h. La mezcla se dejó en agitación a 0 °C durante 4 h, y después se dejó a 5 °C durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El sólido bruto se disolvió en EtOAc (300 mL), se lavó con agua (50 mL), se secó y el disolvente se eliminó a presión reducida. El sólido obtenido se trituró con EtOAc al 20 % en hexano, se filtró, se lavó con hexano y se secó para obtener el compuesto del título como un solo diastereómero (3,0 g, 21 %) como un sólido.

25

Compuesto Intermedio 38



30

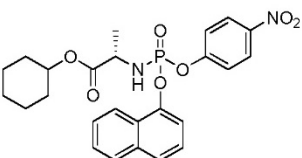
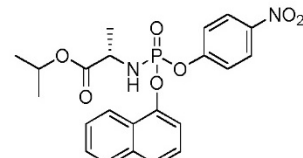
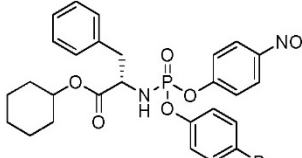
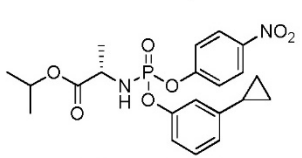
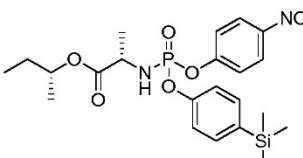
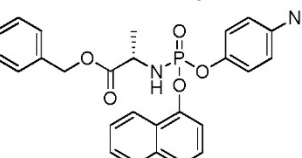
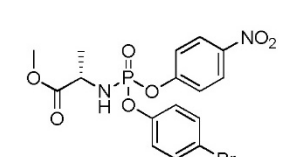
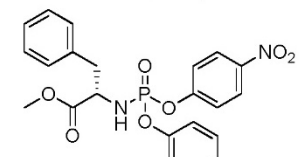
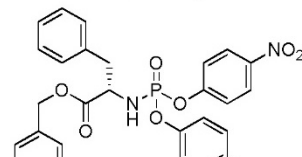
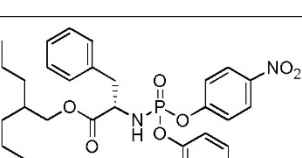
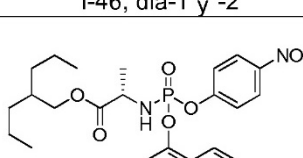
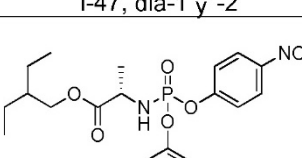
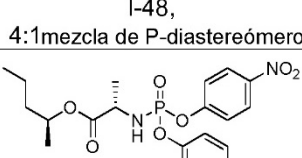
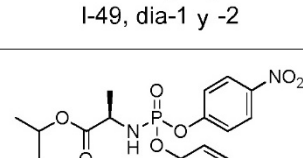
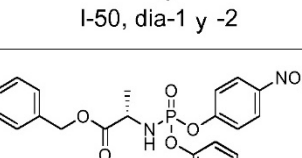
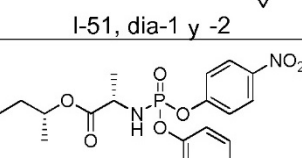
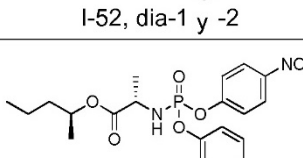
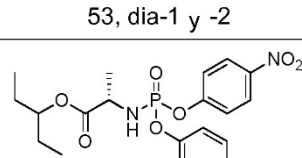
(2S)-Isopropilo 2-(((4-nitrofenoxi)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (I-38)

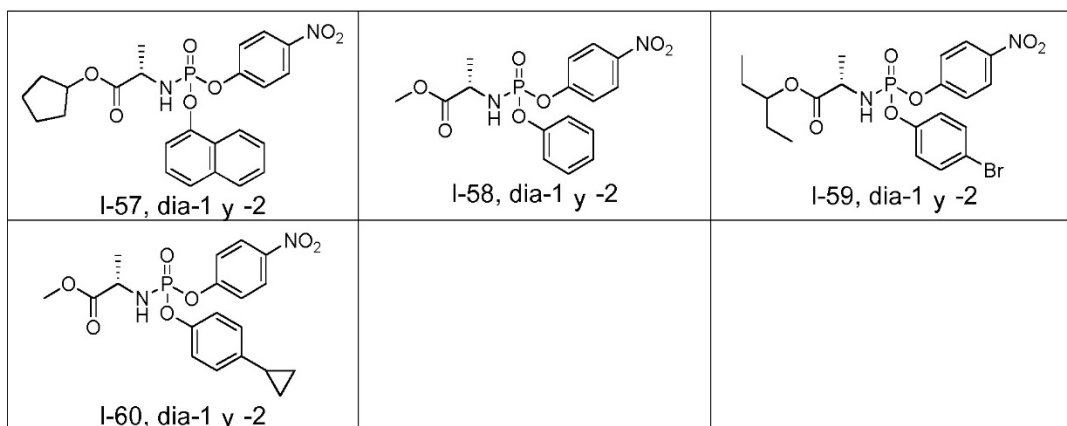
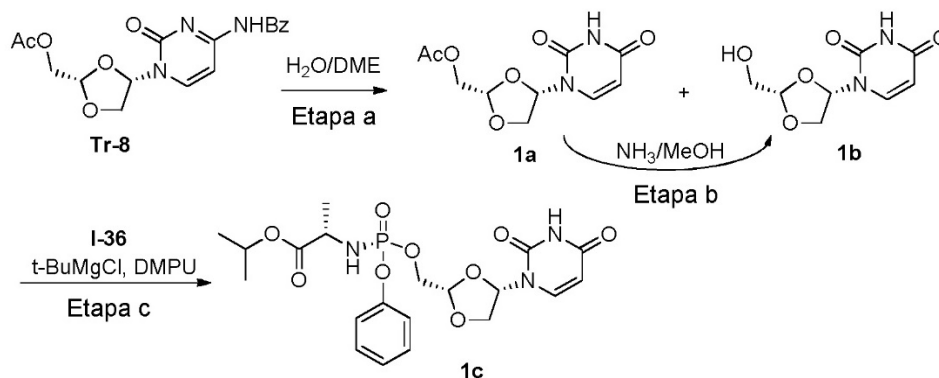
A una solución agitada de 4-nitrofenildiclorofosfato (5 g, 19,8 mmol) en DCM seco (40 mL) se añadió una solución de fenol (1,86 g, 19,8 mmol) y trietilamina (3 mL, 21,8 mmol) en DCM seco (50 mL) a -78 °C durante un período de 30 min. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 60 min, después se transfirió a otro matraz que contenía una solución del compuesto (S)-isopropilo 2-aminopropanoato (3,3 g, 19,8 mmol) en DCM seco (40 mL) a -5 °C durante un período de 15 min. A esta mezcla se añadió una segunda porción de TEA (6 ml, 43,3 mmol) a -5 °C durante un período de 20 min. La mezcla se agitó a 0 °C durante 3 h, después el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se recogió en EtOAc (200 mL) y se lavó con agua (50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y los disolventes se retiraron a presión reducida para dar el producto bruto como un aceite, que se purificó por cromatografía en columna usando gradiente de EtOAc 0-20 %/Hexano y gel de sílice con malla 230-400 para dar una mezcla de diastereómeros en una proporción de aproximadamente 1:1. Los dos diastereómeros se separaron por SFC que dio el compuesto del título, Isómero 1 (1,5 g, 20 %) y el Isómero 2 (1,5 g, 18 %) como sólidos.

45 Los compuestos enumerados en la Tabla 1 se prepararon y los diastereómeros separados según el procedimiento

descrito para la preparación del Compuesto Intermedio I-38, usando el éster aminoácido apropiado y fenol.

Tabla 1

| | | |
|--|---|--|
|  <p>I-39, dia-1 y -2</p> |  <p>I-40, dia-1 y -2</p> |  <p>I-41, dia-1 y -2</p> |
|  <p>I-42, dia-1 y -2</p> |  <p>I-43, dia-1 y -2</p> |  <p>I-44, dia-1 y -2</p> |
|  <p>I-45, dia-1 y -2</p> |  <p>I-46, dia-1 y -2</p> |  <p>I-47, dia-1 y -2</p> |
|  <p>I-48, 4:1mezcla de P-diastereómeros</p> |  <p>I-49, dia-1 y -2</p> |  <p>I-50, dia-1 y -2</p> |
|  <p>I-51, dia-1 y -2</p> |  <p>I-52, dia-1 y -2</p> |  <p>I-53, dia-1 y -2</p> |
|  <p>I-54, dia-1 y -2</p> |  <p>I-55, dia-1 y -2</p> |  <p>I-56, dia-1 y -2</p> |

**Ejemplo 1**

5

Etapa a) ((2S,4S)-4-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)acetato de metilo (1a)

Una mezcla del compuesto Tr-8 (0,15 g, 0,41 mmol), 1,2-dimetoxietano (1,5 mL) y agua (0,96 mL) se calentaron en el tubo sellado a 125 °C durante 48 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y los disolventes se eliminaron a presión reducida. El residuo bruto se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 como gradiente de MeOH al 3-7 %/DCM, que dio el compuesto 1a (0,08 g, 80 %) como un sólido y el compuesto 1b (0,02 g) como un sólido.

15 Etapa b) 1-((2S,4S)-2-(hidroximetilo)-1,3-dioxolan-4-ilo)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (1b)

El Compuesto 1a (0,08 g, 0,31 mmol), en una solución saturada de NH₃ en MeOH (1,6 mL), fue agitado en el tubo sellado a temperatura ambiente durante 4 h. Después de la terminación de la reacción (TLC), se eliminaron los disolventes bajo presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 60-120 usando MeOH al 5-7 %/DCM para obtener el compuesto del título (0,06 g, 90 %) como un sólido.

Etapa c) (2S)-isopropilo 2-(((2S,4S)-4-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (1c)

A una solución agitada del compuesto 1b (60 mg, 0,28 mmol) en DMPU (0,6 mL), se añadió terc-butilomagnesiocloruro (0,57 ml, 0,98 mmol, 1,7 M en THF) gota a gota a -5 °C. La mezcla se agitó a -5 °C durante 30 min, luego a temperatura ambiente durante 30 min. Una solución de isopropil ((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)-L-alaninato (0,25 g, 0,56 mmol) en THF seco (2,5 mL) se añadió a -5 °C y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. Una vez completada la reacción (TLC), se añadió agua (15 mL) y la mezcla se extrajo con EtOAc (30 mL). La fase orgánica se lavó con solución sat. de cloruro sódico (10 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró, y el producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre sílice 230-400 sílice como gradiente de MeOH al 4-5 %/DCM,

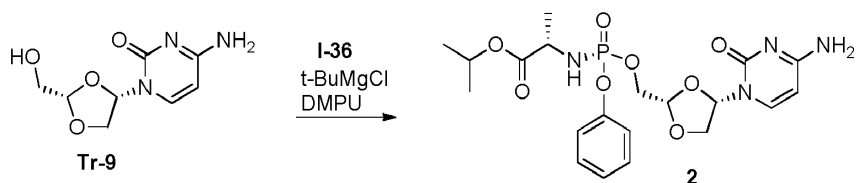
30

que dio el compuesto del título (55 mg, 38 %) como un sólido. MS (ES+) [484,0]⁺.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1.15-1.20 (10H), 3.73-3.75 (1 H), 4.11-4.27 (4H), 4.84-4.90 (1H), 5.14 (1H), 5.51-5.53 (1H), 6.06-6.12 (1H), 6.26-6.27 (1H), 7.17- 7.23 (3H), 7.36-7.40 (2H), 7.57-7.60 (1H), 11.37 (1H).

5

Ejemplo 2



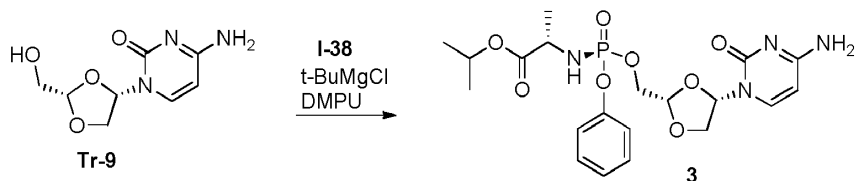
10 (2S)-Isopropilo 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (2)

Se hizo reaccionar troxacitabina (TR-9) (50 mg, 0,23 mmol) con el agente de fosforilación I-36 (0,26 g, 0,58 mmol) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c, que dio el compuesto del título (30 mg, 26 %) como un sólido.

15 MS (ES+) 483,34 [M+H]⁺.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1.14-1.24 (9H), 3.32-3.38 (1H), 4.05-4.21 (4H), 4.84-4.26 (1H), 5.14 (1H), 5.68-5.70 (1H), 6.07-6.13 (1H), 6.23-6.25 (1H), 7.16-7.24 (5H), 7.34-7.39 (2H), 7.59-7.61 (1H).

20 Ejemplo 3



25 (2S)-Isopropilo 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (3)

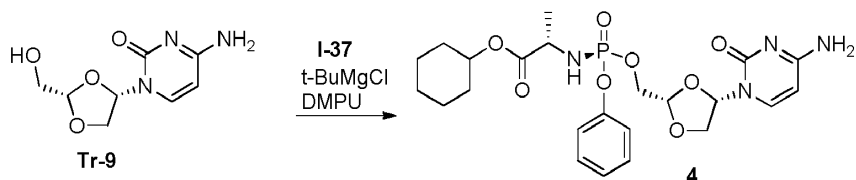
Se hizo reaccionar troxacitabina (50 mg, 0,23 mmol) con el agente de fosforilación I-38 (0,24 g, 0,58 mmol) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c, que dio el compuesto del título (40 mg, 35 %) como un sólido. MS (APCI) 481,0 [M-H]⁻.

30

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1.14-1.20 (9H), 3.76-3.77 (1H), 4.10-4.18 (2H), 4.22-4.25 (2H), 4.84-4.87 (1H), 5.17-5.186 (1H), 5.69-5.70 (1H), 6.03-6.08 (1H), 6.24-6.26 (1H), 7.17-7.25 (5H), 7.36-7.40 (2H), 7.62-7.64 (1H).

Ejemplo 4

35



40 (2S)-Isopropilo 2-((((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (4)

Se hizo reaccionar troxacitabina (50 mg, 0,23 mmol) con el agente de fosforilación I-37 (0,33 g, 0,58 mmol) según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c, que dio el compuesto del título (30 mg, 22 %) como un sólido. MS (APCI) 599,47 [M+H]⁺.

Los compuestos enumerados en la TABLA 2 se prepararon como diastereómeros puros según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c usando el compuesto intermedio apropiado, I-# dia-1 o I-# dia-2.

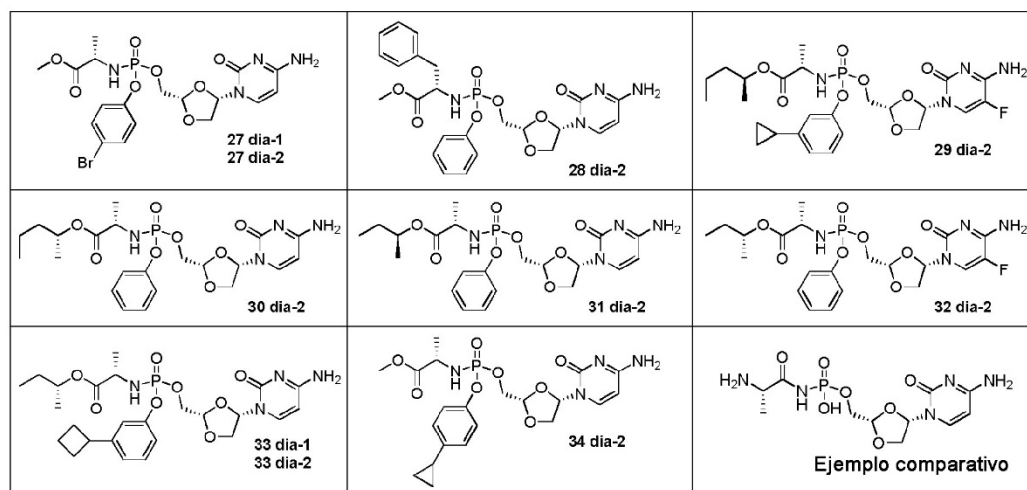
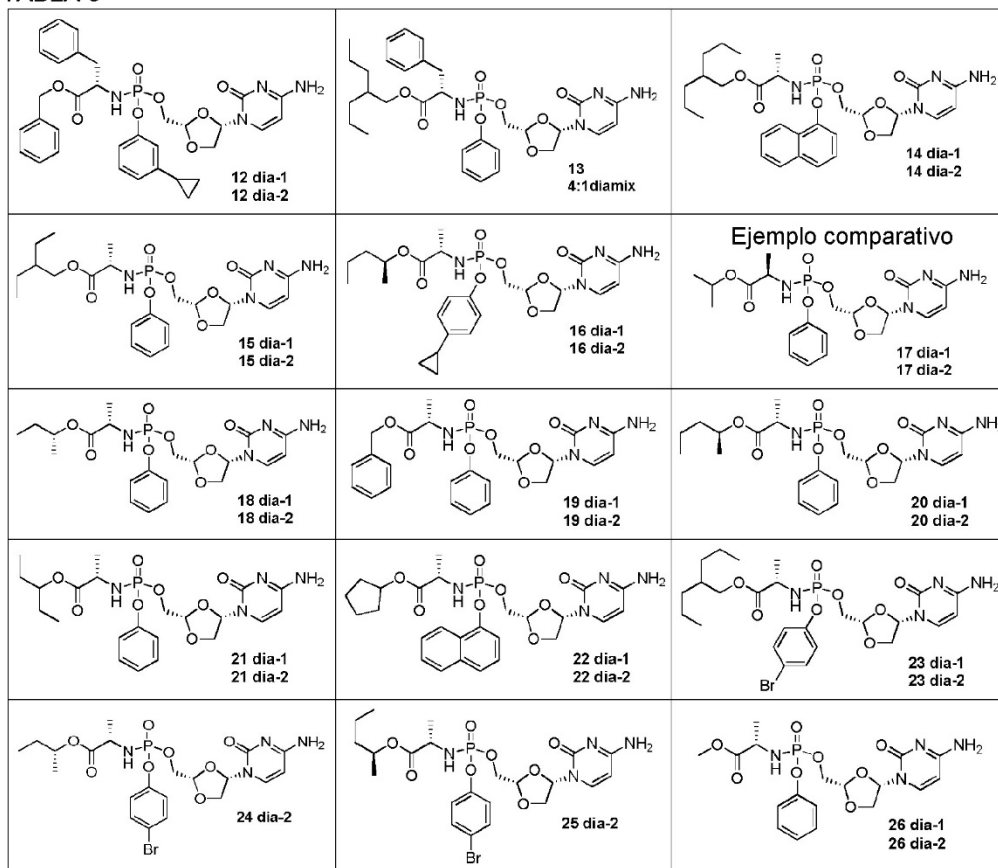
Tabla 2

| Ej. | Compuesto intermedio | R ¹⁵ | R ¹⁶ | Ar | diastereómero 1 | | diastereómero 2 | |
|-----|----------------------|-----------------|------------------|--------------------------|-----------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|
| | | | | | Rendimiento | MS [M+H] ⁺ | Rendimiento | MS [M+H] ⁺ |
| 5 | I-40 | metilo | 2- propilo | 1- naftilo | 25% | 533,40 | 33% | 533,36 |
| 6 | I-39 | metilo | ciclohexilo | 1- naftilo | 19% | 573,35 | 22% | 573,2 |
| 7 | I-41 | bencilo | ciclohexilo | 4-Br-fenilo | 18% | na | 18% | na |
| 8 | I-6 | metilo | 2-propil-pentilo | fenilo | 37% | 553,2 | 35% | 553,2 |
| 9 | I-44 | metilo | bencilo | 1-naftilo | 25% | 581,2 | 30% | 581,2 |
| 10 | I-42 | metilo | 2-propilo | 2- ciclohexilo fenilo | 34% | 523,2 | 27% | 523,2 |

5

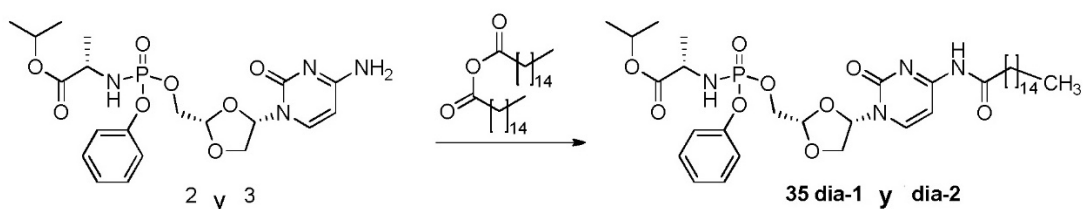
Similarmente, los compuestos listados en la TABLA 3 se prepararon como diastereómeros puros según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c, usando los compuestos intermedios apropiados.

TABLA 3



5 Los datos de RMN y MS se registraron para todos los compuestos ejemplificados confirmando sus estructuras.

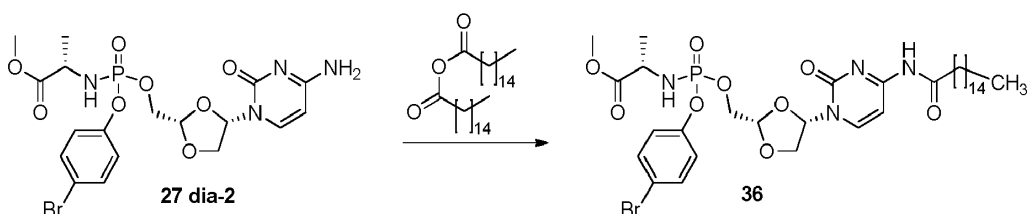
Ejemplo 35



5 **(2S)-isopropilo 2-((((2S,4S)-4-(2-oxo-4-palmitamidopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (35 dia1 & 35 dia-2)**

Los compuestos 2 y 3 fueron ambos acilados con anhídrido palmítico según el procedimiento descrito en el documento WO2008/030373, lo que dio los compuestos del título.

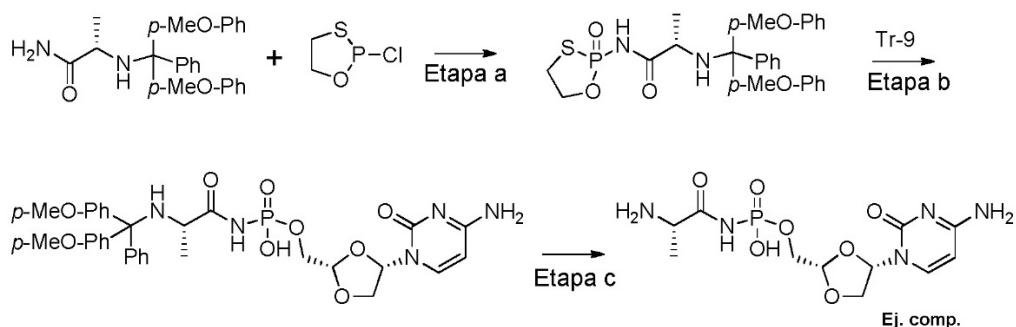
10 **Ejemplo 36**



15 **(2S)-metilo 2-((((2S,4S)-4-(2-oxo-4-palmitamidopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (36)**

El compuesto 27 dia-2 fue acilado con anhídrido palmítico según el procedimiento descrito en el documento WO2008/030373, lo que dio el compuesto del título.

20 **Ejemplo Comparativo**



25 **Etapa a) (2S)-2-((bis(4-metoxifenilo)(fenilo)metilo)amino)-N-(2-oxido-1,3,2-oxatiazofosfolan-2-ilo)propanamida**

A una solución helada de (S)-2-((bis(4-metoxifenilo)(fenilo)metilo)amino)propanamida (1,40 g, 3,58 mmol) y trietilamina (0,60 ml, 4,30 mol) en diclorometano (8 mL) bajo nitrógeno se añadió gota a gota una solución de 2-cloro-1,3,2-oxatiazofosfolano (0,542 g, 3,80 mmol). Se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante el fin de semana. La solución se enfrió a 0 °C y una solución de (terc-butilperoxi)trimetilsilano (1,16 g, 7,17 mmol) en heptano fue añadida lentamente. La mezcla de reacción se agitó durante 90 minutos, luego se concentró al vacío. El residuo se suspendió en acetato de etilo (10 mL), sales de clorhidrato se retiraron por filtración y el disolvente se eliminó al vacío. El residuo se disolvió en acetonitrilo seco (10 mL) y la solución resultante se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Fueron asumidos rendimiento cuantitativo y 80 % de pureza basado en ³¹P-RMN.

Etapa b) ((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metil hidrógeno ((S)-2-((bis(4-metoxifenilo)(fenilo)metilo)amino)propanoilo)fosforamidato

Se añadió DMAP (229 mg, 1,88 mmol) bajo nitrógeno a una solución del Compuesto Tr-9 (100 mg, 0,469 mmol) en piridina seca (5 mL), seguido de la adición lenta de una solución de (2S)-2-((bis(4-metoxifenilo)(fenilo)metilo)amino)-N-(2-oxo-1,3,2-oxatia fosfolanilo)propanamida (361 mg, 0,563 mmol) en acetonitrilo seco (2 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 46 h, luego se concentró. El residuo se purificó por HPLC preparativa en una Gemini-NX 5m C18 (100x30mm) usando un gradiente de 20 %B a 80 %B en 17min y un flujo de 35mL/min. Solvente A: 95 % agua, 5 % acetonitrilo (10 mM en acetato de amonio); Solvente B: 10 % agua, 90 % acetonitrilo (10 mM en acetato de amonio). Fracciones conteniendo el producto fueron combinadas y liofilizadas, lo que dio el compuesto del título (80 mg, 26 %). MS (ES+) 664.26 [M+H]⁺.

Etapa c) ((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metilo hidrógeno ((S)-2-aminopropanoilo)fosforamidato

Se añadió agua (50 mL) a una solución del compuesto de la etapa anterior (80,5 mg, 0,121 mmol) en diclorometano, seguido de la adición de ácido acético (500 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 12 min, después se añadió TFA (75 mL) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 min, se diluyó con tolueno (10 mL), se concentró a sequedad y se secó al vacío. El residuo se recogió en agua que contenía 10 % de acetonitrilo (10 mL) y se lavó con terc-butilo éter metílico que contenía 10 % de hexanos (2x10 mL). La capa acuosa fue recogida y liofilizada durante la noche para dar el producto deseado como la sal bis-TFA (80 mg) con una pureza de -75 % de acuerdo a LC-MS. El residuo obtenido se purificó adicionalmente por HPLC preparativa en una Hipercarb (21,2x100 mm, l=271 nm), utilizando un gradiente de 0 % a 35 % de acetonitrilo en agua. Fracciones que contenían el producto se combinaron y se liofilizaron. MS (ES+) 364.10 [M+H]⁺. La estructura fue confirmada por ¹H y ¹³C RMN.

Datos de RMN para una selección de los compuestos ejemplificados:

Compuesto 8 dia-1

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0.81-0.84 (6H), 1.20-1.22 (11H), 1.59 (1H), 3.82-3.97 (3H), 4.08-4.16 (2H), 4.22-4.23 (2H), 5.16 (1H), 5.67-5.69 (1H), 6.05-6.10 (1H), 6.23-6.24 (1H), 7.16-7.23 (m, 5H), 7.34-7.38 (m, 2H), 7.60-7.62 (m, 1H).

Compuesto 8 dia-2

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0.81-0.84 (6H), 1.22-1.27 (11H), 1.57 (1H), 3.81-3.89 (2H), 3.95-3.98 (1H), 4.05-4.07 (1H), 4.10-4.20 (3H), 5.128 (1H), 5.68-5.69 (1H), 6.13-6.14 (1H), 6.22-6.24 (1H), 7.16-7.21 (5H), 7.34-7.38 (2H), 7.58-7.60 (1H).

Compuesto 9 dia-1

³¹P RMN (DMSO-d₆) δ 4,354.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1.24-1.26 (3H), 3.98-4.01 (1H), 4.12-4.14 (2H), 4.27-4.29 (2H), 5.00-5.08 (2H), 5.16-5.18 (1H), 5.64-5.66 (2H), 6.25-6.27 (1H), 6.34 (1H), 7.17-7.22 (2H), 7.31-7.33 (5H), 7.45-7.46 (2H), 7.55-7.59 (2H), 7.63-7.64 (1H), 7.74-7.77 (1H), 7.95-7.97 (1H), 8.08-8.11 (1H).

Compuesto 9 dia-2

³¹P RMN (DMSO-d₆) δ 4,159.

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1.25-1.26 (3H), 3.97-4.01 (1H), 4.08-4.16 (2H), 4.23-4.29 (2H), 5.04-5.16 (3H), 5.65-5.66 (1H), 6.26 (1H), 6.36-6.42 (1H), 7.17-7.24 (2H), 7.326 (5H), 7.41-7.49 (2H), 7.57-7.64 (3H), 7.74-7.76 (1H), 7.95-7.97 (1H), 8.10-8.12 (1H).

Compuesto 11-dia-1

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0.23 (9H), 0.78-0.82 (3H), 1.08-1.12 (3H), 1.20-1.22 (3H), 1.44-1.49 (2H), 3.77-3.79 (1H), 4.09-4.23 (4H), 4.67-4.72 (1H), 5.16-5.16 (1H), 5.69-5.70 (1H), 6.04-6.10 (1H), 6.23-6.25 (1H), 7.15-7.24 (4H), 7.48-7.50 (2H), 7.61-7.63 (1H).

Compuesto 11 dia-2

¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 0.22-0.24 (9H), 0.78-0.82 (3H), 1.10-1.11 (3H), 1.22-1.24 (3H), 1.46-1.50 (2H), 4.05-4.07 (1H), 4.11-4.22 (4H), 4.70-4.71 (1H), 5.14 (1H), 5.69-5.71 (1H), 6.07-6.11 (1H), 6.23-6.25 (1H), 7.16-7.24 (4H), 7.49-7.51 (2H), 7.60-7.62 (1H).

Para que un profármaco pueda alcanzar el hígado, es crucial un procesamiento correcto del profármaco. El profármaco debe ser estable en el fluido intestinal, y procesado en el hígado por enzimas hepáticas en un metabolismo de primera etapa para formar el monofosfato. El monofosfato formado, a continuación, va a ser anabolizado por quinasas celulares en los hepatocitos a la especie activa de trifosfatos. Además, el fármaco contra el cáncer debe ser tóxico para las células proliferantes. Procedimientos adecuados para evaluar compuestos para estas propiedades son, por ejemplo, tales como se establece a continuación.

15 Estabilidad en la fracción S9 intestinal humana (HIS9) y fracción S9 en el hígado humano (HLS9),

Soluciones madre de cada compuesto de prueba (10 mM) se prepararon en DMSO y se almacenaron a -20 °C. Antes del comienzo del experimento, los compuestos de prueba se diluyeron a 500 μM en 50 % de acetonitrilo en agua. La mezcla de reacción se preparó en un volumen total de 250 μL conteniendo 5 mM MgCl₂, 1 mM NADPH y 5 μM del compuesto de prueba en tampón de fosfato de potasio 50 mM (pH 7,4). La reacción se inició por adición de fracción S9 de hígado humano o intestinal con una concentración final de 0,4 mg de proteína/mL (Xeno Tech). La mezcla de reacción se incubó en un agitador orbital a 37 °C. En los instantes deseados (0, 10, 30 y 60 minutos) fueron tomadas alícuotas de 50 μL y la reacción se detuvo mezclando con 150 μL de acetonitrilo conteniendo patrón interno. Soluciones estándar de cada compuesto de prueba se prepararon a partir de la solución 500 μM por dilución de la solución a una concentración final de 5 μM en S9 humano hervido (0,4 mg proteína/mL), MgCl₂ 5 mM y tampón de fosfato de potasio 50 mM (pH 7,4). Los estándares y las muestras se mantuvieron en hielo durante 30 min, a continuación, se centrifugaron a 3 000 g durante 20 minutos a 10 °C, después 10 μL de sobrenadante fue mezclado con 200 μL 50 % de acetonitrilo en agua. 0,5 μM de cada compuesto de prueba en 50 % de acetonitrilo en agua fue inyectado en el LC/MS-MS para determinar el ion derivado, potencial de desagrupación (DP), energía de colisión (CE) y potencial de salida de celda de colisión (CXP) con el fin de desarrollar un procedimiento LC/MS-MS. Los compuestos se separaron usando una columna C18 con un sistema QTRAP5500. La fase móvil consistía en disolvente A (98 % de agua, 2 % de acetonitrilo, 0,1 % de ácido acético o acetato de amonio 10 mM) y disolvente B (80 % de acetonitrilo, 20 % de agua, 0,1 % ácido acético o acetato de amonio 10 mM). La elución de los compuestos se realizó utilizando un gradiente de disolvente B a partir de 0 % a 100 %. 5 μL de puntos estándar y muestras fueron inyectados para análisis con QTRAP5500.

Se determinó la cantidad de compuesto original sobre la base del área del pico para cada punto de tiempo en comparación con el estándar que se estableció a 5 μM. Aclaramiento intrínseco (CL_{int}) y vida media (t_{1/2}) se determinaron a partir de las curvas de desaparición del compuesto de ensayo utilizando el software Excel.

40

Ensayos de Citotoxicidad Celular

Células fueron sembradas 24 horas antes de la adición del compuesto. Cada compuesto de prueba (diluido en serie a partir de 100 μM) fue añadido a Huh7 (1,5 x 10⁴ células/pocillo) o HepG2 (1,5 x 10⁴ células/pocillo), y se dejó incubar durante 5 días a 37 °C. Un control sólo con medio fue usado para determinar el valor mínimo de absorbancia y un valor de célula no tratada. Al final del periodo de crecimiento, se añadió colorante XTT de Polysciences Europe GmbH a cada pocillo. La absorbancia a 450 nm, con una longitud de onda de referencia de 600 nm, fue leída con un Sunrise (Tecan) utilizando los pocillos de control sólo con medio como blancos. El valor de inhibición 50 % (CC₅₀) se determinó comparando el grado de inhibición (comparado con el control celular) planteado contra la concentración del compuesto. Los resultados de la serie de dilución se ajustaron a una curva sigmoideal de dosis-respuesta.

Los compuestos de la invención fueron evaluados en estos ensayos para determinar la estabilidad en una fracción S9 humana intestinal (HIS9) y en una fracción S9 en hígado humano (HLS9), y para Citotoxicidad Celular en células HUH7, HEP3B y HEPG2. Los resultados se resumen en la TABLA B1.

55

TABLA B1

| <u>Ejemplo</u> | <u>HUH7</u> <u>CC₅₀ (μM)</u> | <u>HEP3B</u> <u>CC₅₀ (μM)</u> | <u>HEPG2</u> <u>CC₅₀ (μM)</u> | <u>CL_{int} Hígado S9</u> <u>(μL/min/mg)</u> | <u>CL_{int} Intestinal S9</u> <u>(μL/min/mg)</u> |
|----------------|--|---|---|---|---|
| 1 | >100 | na | >100 | 12 | 6 |

ES 2 796 089 T3

| <u>Ejemplo</u> | <u>HUH7</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>HEP3B</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>HEPG2</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>CL_{int} Hígado S9</u> <u>(µL/min/mg)</u> | <u>CL_{int} Intestinal S9</u> <u>(µL/min/mg)</u> |
|----------------|--|---|---|---|---|
| 2 | 1,75 | na | 0,248 | 13 | 6 |
| 3 | 3,28 | na | 0,371 | 8 | 6 |
| 4 | 12,0 | na | 0,936 | 84 | 123 |
| 4 dia-2 | 1,55 | na | 0,093 | 38 | 18 |
| 5 dia-1 | 0,465 | na | 0,107 | 32 | 21 |
| 5 dia-2 | 0,602 | na | 0,114 | 31 | 13 |
| 6 dia-1 | 0,258 | na | 0,092 | 91 | 36 |
| 6 dia-2 | 0,316 | na | 0,048 | 61 | 25 |
| 7 dia-1 | 1,02 | na | 0,24 | 148 | 147 |
| 7 dia-2 | 0,134 | na | 0,058 | 60 | 27 |
| 8 dia-1 | 0,123 | na | 0,007 | 130 | 86 |
| 8 dia-2 | 0,074 | 0,035 | 0,017 | 143 | 25 |
| 9 dia-1 | 0,164 | na | 0,023 | 133 | 171 |
| 9 dia-2 | 0,158 | na | 0,016 | 94 | 127 |
| 10 dia-1 | 0,392 | na | 0,062 | 26 | 12 |
| 10 dia-2 | 0,556 | na | 0,051 | 22 | 14 |
| 11 dia-1 | 0,026 | 0,018 | 0,054 | 51 | 6 |
| 11 dia-2 | na | 0,031 | 0,054 | 81 | 28 |
| 12 dia-1 | 4,33 | na | 0,481 | 182 | 300 |
| 12 dia-2 | 5,02 | na | 1,09 | 97 | 300 |
| 13 diamix 4:1 | 0,663 | na | 0,163 | 85 | 27 |
| 14 dia-1 | 0,216 | na | 0,016 | 88 | 30 |
| 14 dia-2 | 0,200 | na | 0,012 | 159 | 59 |
| 15 dia-1 | 0,025 | na | 0,037 | 167 | 87 |
| 15 dia-2 | 0,026 | na | 0,019 | 95 | 36 |
| 16 dia-1 | 1,20 | 0,106 | 0,151 | 50 | 8 |
| 16 dia-2 | 0,152 | 0,053 | 0,130 | 59 | 8 |
| 17 dia-1 | 50,0 | na | 50,0 | 6 | 6 |
| 17 dia-2 | 50,0 | na | 50,0 | 6 | 6 |
| 18 dia-1 | 0,461 | 0,228 | 0,248 | 21 | 6 |
| 18 dia-2 | 0,076 | 0,113 | 0,065 | 30 | 7 |
| 19 dia-1 | 0,091 | na | 0,018 | 19 | 26 |
| 19 dia-2 | 0,071 | 0,058 | 0,014 | 24 | 17 |
| 20 dia-1 | 0,216 | na | 0,074 | 45 | 21 |
| 20 dia-2 | 0,073 | 0,078 | 0,060 | 25 | 6 |
| 21 dia-1 | 0,574 | na | 0,163 | 61 | 29 |
| 21 dia-2 | 0,070 | na | 0,048 | 22 | 10 |
| 22 dia-1 | 0,033 | na | 0,012 | 49 | 52 |
| 22 dia-2 | 0,040 | na | 0,011 | 43 | 34 |
| 23 dia-1 | na | 0,01 | 0,0086 | 186 | 32 |

| <u>Ejemplo</u> | <u>HUH7</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>HEP3B</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>HEPG2</u> <u>CC₅₀ (µM)</u> | <u>CL_{int} Hígado S9</u> <u>(µL/min/mg)</u> | <u>CL_{int} Intestinal S9</u> <u>(µL/min/mg)</u> |
|--------------------|--|---|---|---|---|
| 23 dia-2 | na | na | na | 300 | 20 |
| 24 dia-1 | na | na | na | na | na |
| 24 dia-2 | na | na | na | na | na |
| 25 dia-1 | na | na | na | na | na |
| 25 dia-2 | na | na | na | na | na |
| 26 dia-1 | na | 4,34 | 1,21 | 7 | 6 |
| 26 dia-2 | 4,73 | 4,02 | 1,06 | 10 | 6 |
| Troxacitabina | 0,646 | 0,279 | 0,218 | na | na |
| 27 dia-1 | 1,44 | na | 0,151 | 38 | 11 |
| 27 dia-2 | 1,02 | 0,348 | 0,223 | 57 | 6 |
| 28 dia-2 | 15,6 | na | 2,72 | 20 | 40 |
| 29 dia-2 | 0,495 | 0,075 | na | 36 | 18 |
| 30 dia-2 | na | na | na | 120 | 11 |
| 31 dia-2 | na | na | na | 8 | 6 |
| 32 dia-2 | na | na | na | 27 | 8 |
| 33 dia-1 | na | na | na | 180 | 27 |
| 33 dia-2 | na | na | na | 230 | 75 |
| 34 dia-2 | 0,524 | 0,210 | 0,236 | 64 | 6 |
| 35 dia-2 | 0,011 | na | 0,007 | 34 | 51 |
| 36 | 0,009 | 0,019 | na | na | |
| na = no disponible | | | | | |

Ensayo de formación de trifosfato

5 Cada compuesto se probó por triplicado en el ensayo.

Se utilizaron hepatocitos humanos frescos en placas (Biopredic, Francia) en placas de 12 pocillos. Cada pocillo fue sembrado con $0,76 \times 10^6$ células e incubados con una solución de DMSO $10 \mu\text{M}$ de compuesto (0,1 % DMSO) en 1 mL de medio de incubación en una incubadora de CO_2 a 37°C durante 8 horas. Células Huh7 cultivadas en DMEM con antibióticos y 10 % de suero fetal de ternero se sembraron en placas de 12 pocillos, 2×10^5 células/pocillo. Después de 24 h se añadió 1 mL de compuesto $10 \mu\text{M}$ en medio y las células fueron incubadas por otras 6-8 horas.

15 La incubación se detuvo mediante lavado de cada pocillo con 1 mL de solución balanceada de Hank helada, pH 7,2, dos veces, seguido de la adición de 0,5 mL de metanol helado al 70 %. Inmediatamente después de la adición de metanol, la capa de células fue separada de la parte inferior del pocillo con un raspador de células y se aspiró hacia arriba y hacia abajo 5-6 veces con una pipeta automática. La suspensión celular se transfirió a un frasco de vidrio y se almacenó durante la noche a -20°C .

20 Las muestras, cada una compuesta de varios niveles de profármaco, nucleósido libre, y mono-, di- y trifosfato, fueron a continuación agitadas en vórtex y centrifugadas a 10°C durante 10 minutos, a 14.000 rpm en una centrifuga Eppendorf 5417R. Los sobrenadantes se transfirieron a frascos de vidrio de 2 mL con inserto y se sometieron a bioanálisis como sigue:

25 Se añadió un patrón interno (Indinavir) a cada muestra y las muestras (volumen de inyección de $10 \mu\text{L}$) se analizaron en un sistema de dos columnas acoplado a un espectrómetro de masas QTRAP 5000. El sistema de dos columnas constaba de dos bombas binarias, X e Y, dos válvulas de conmutación y un auto-muestreador. Las dos columnas de HPLC utilizadas fueron una Synergy POLAR-RP $50 \times 4,6$ mm, partículas de $4 \mu\text{m}$ y una AX BioBasic $50 \times 2,1$ mm,

partículas de 5µm. Los flujos de LC eran 0,4-0,6 mL/min (El flujo más alto fue usado en la etapa de reacondicionamiento).

5 Las fases móviles de HPLC para la columna POLAR-RP constaban de acetato de amonio 10 mmol/L en acetonitrilo al 2 % (fase móvil A) y acetato de amonio 10 mmol/L en acetonitrilo al 90 % (fase móvil B) y para la columna BioBasic AX acetato de amonio 10 mmol/L en acetonitrilo al 2 % (fase móvil C) y hidróxido de amonio al 1 % en acetonitrilo al 2 % (fase móvil D). El gradiente de HPLC para la bomba Y comenzó a 0 % fase móvil B y se mantuvo durante 2 min. Durante la fase de carga, la fase móvil pasó a través de la columna POLAR-RP y BioBasic AX, y el profármaco, el nucleósido y el patrón interno fueron capturados en la columna POLAR-RP; mientras que los nucleótidos (mono-, di-
10 y trifosfatos) fueron eluidos en la columna BioBasic AX y fueron capturados allí.

En la siguiente etapa, el flujo se cambió de la columna POLAR-RP a la MS y la fase móvil C se cambió de la bomba X a la columna de BioBasic AX. Los compuestos en la columna POLAR-RP se eluyeron con un gradiente de 0 % B hasta 100 % B en unos dos minutos y se analizaron en el modo positivo o negativo usando el modo de monitorización
15 de reacción múltiple (MRM).

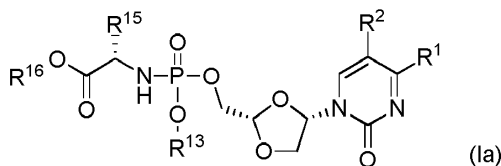
En la última etapa el flujo de la columna BioBasic AX se cambió a la MS y los fosfatos se eluyeron en aproximadamente 7 minutos con un gradiente hasta 50 % D, y se analizó en modo positivo o negativo usando MRM. Durante la última etapa ambas columnas fueron reacondicionadas. La concentración de trifosfato para cada compuesto se determinó
20 continuación por comparación con curvas estándar que se hicieron mediante análisis de muestras estándar con concentraciones conocidas de trifosfato. Los patrones fueron corridos en las mismas matrices, como las muestras de prueba. Debido a variaciones en los niveles de fosforilación entre los donantes de hepatocitos, se requiere un compuesto de referencia interna en cada corrida del ensayo con el fin de permitir la clasificación de los resultados de diferentes corridas entre sí.

25

A lo largo de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto lo exija de otro modo, la palabra 'comprende', y variaciones tales como 'comprenden' y 'que comprende', se entenderá que implican la inclusión de un número entero declarado, etapa, grupo de enteros o etapas, pero no la exclusión de cualquier otro número entero, etapa, grupo de números enteros o etapas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula la:

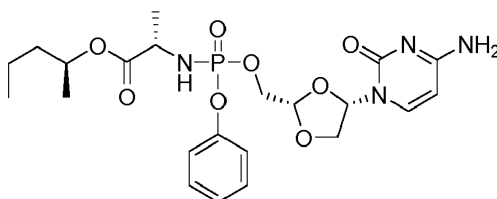


5

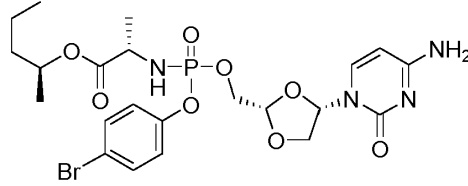
donde:

- 10 R^1 es OR^{11} , o NR^5R^5 ;
 R^2 es H;
 R^5 es H, C_1-C_6 alquilo, OH, $C(=O)R^6$, $OC(=O)R^6$ u $OC(=O)OR^6$;
 R^5 es H o C_1-C_6 alquilo;
 R^6 es C_1-C_{22} alquilo o C_3-C_7 cicloalquilo;
 R^{11} es H o C_1-C_6 alquilo;
15 R^{13} es H, fenilo, piridilo, bencilo, indolilo o naftilo, donde el fenilo, piridilo, bencilo, indolilo y naftilo están opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 R^{22} ;
 R^{15} es H, C_1-C_6 alquilo, C_3-C_7 cicloalquilo, C_3-C_7 cicloalquilo, C_1-C_3 alquilo, fenilo, bencilo o indolilo;
 R^{16} es H, C_1-C_{10} alquilo, C_2-C_{10} alqueno, C_3-C_7 cicloalquilo, C_3-C_7 cicloalquilo- C_1-C_3 alquilo, bencilo, o fenilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos, cada uno seleccionado
20 independientemente de halo, OR^{18} y $N(R^{18})_2$;
cada R^{18} es independientemente H, C_1-C_6 alquilo, C_1-C_6 haloalquilo o C_3-C_7 cicloalquilo;
cada R^{22} se selecciona independientemente de halo, C_1-C_6 alquilo, C_2-C_6 alqueno, C_1-C_6 haloalquilo, C_1-C_6 alcoxi, C_1-C_6 haloalcoxi, fenilo, hidroxi- C_1-C_6 alquilo, C_3-C_6 cicloalquilo, C_1-C_6 alquilocarbonilo, C_3-C_6 cicloalquilocarbonilo, carboxi- C_1-C_6 alquilo, hidroxilo, amino CN, y
25 NO_2 , o cualesquiera dos grupos R^{22} unidos a átomos de carbono de anillo adyacente pueden combinarse para formar $-O-(CR^{23}R^{23'})_{1-6}-O-$;
 R^{23} y $R^{23'}$ son independientemente H o C_1-C_3 alquilo;
o una sal y/o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

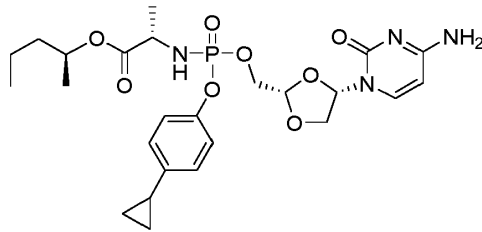
- 30 2. El compuesto según la reivindicación 1, donde R^1 es NH_2 .
3. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde R^{15} es C_1-C_3 alquilo
4. Un compuesto según la reivindicación 3, donde R^{15} es metilo.
- 35 5. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, donde R^{16} es C_3-C_{10} alquilo, preferentemente 2-propilpentilo o 2-etilbutilo.
6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4, donde R^{16} es 2-pentilo
- 40 7. Un compuesto según una de las reivindicaciones 1-6, donde R^{13} es fenilo o naftilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos R^{22} .
8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde R^{13} es fenilo;
- 45 9. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:



10. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:



5 11. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:



12. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para uso como un medicamento.

10

13. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para uso en el tratamiento de cáncer.

14. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, para uso en el tratamiento de cáncer del hígado, preferentemente cáncer hepatocelular.

15

15. Una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, que comprende además uno o más agentes terapéuticos adicionales seleccionados del grupo que consiste en agente quimioterapéutico, agente inversor de resistencia a múltiples fármacos y modificador de respuesta biológica.

20

16. La combinación farmacéutica según la reivindicación 15, donde el agente terapéutico adicional es un agente quimioterapéutico.