

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 927 212**

(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

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2015 E 19177824 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2022 EP 3572410**

(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:
03.11.2022

(73) Titular/es:

MEDIVIR AKTIEBOLAG (100.0%)
P.O. Box 1086
141 22 Huddinge, SE

(72) Inventor/es:

BETHEL, RICHARD;
ENEROTH, ANDERS;
KLASSON, BJÖRN y
ÖBERG, FREDRIK

(74) Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

ES 2 927 212 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 compuestos de fósforo de troxacicatina y derivados de los mismos que son útiles en el tratamiento de cánceres, en particular el cáncer de hígado, como el carcinoma hepatocelular (HCC) y cánceres de hígado secundarios. La invención se refiere además a composiciones y combinaciones 10 que comprenden estos compuestos y a procedimientos para su uso en el tratamiento de cánceres, particularmente cáncer de hígado tal como HCC.

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 (HCC), 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 20 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 25 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.

30 Aunque la resección quirúrgica y el trasplante hepático son tratamientos potencialmente curativos para HCC 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 HCC 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 HCC y las tasas 35 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 HCC avanzado o no resecable, por lo tanto, hay una gran necesidad de nuevos tratamientos de HCC para reducir las tasas de recaída y aumentar las tasas de supervivencia global.

40 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.

45 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 50 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.

55 La troxacicatina, (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 troxacicatina 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 troxacicatina, lo que conduce a resistencia.

65 La troxacicatina 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 troxacicatina incluyen cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de páncreas, melanoma, NSCLC, renal, de próstata y tumores de ovario.

La troxacicatina era administrada generalmente como una infusión intravenosa, exponiendo de este modo muchos tejidos al fármaco, con independencia del sitio del cáncer.

5 Se ha demostrado que la troxacicatina, 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.

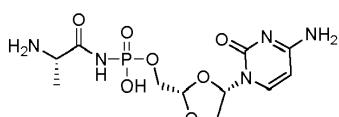
10 En el documento WO2008/030373 se describen derivados de troxacicatina que llevan un grupo profármaco en la fracción base de citosina y se evalúa la relación entre la lipofilicidad de los profármacos y su actividad antitumoral. La patente declara que una modificación de base es deseable para evitar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

15 Profármacos de fosforamidato 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.

15 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 fosforamidato en nucleósidos contra el cáncer ha tenido menos éxito. Nucana está desarrollando Acelerin (Nuc-1031), un profármaco de fosforamidato 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 fosforamidato podría mejorar la lipofilia y la permeabilidad celular del compuesto, el profármaco Acelarin debe todavía ser administrado como una infusión IV, exponiendo así muchos tejidos saludables al metabolito citotóxico.

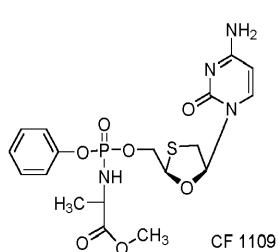
25 Hay incluso menos experiencia con profármacos de monofosfato de L-nucleósidos tales como troxacicatina. El documento WO2008048128 describe un pequeño número de profármacos de monofosfato de troxacicatina que incluyen el compuesto en el Ejemplo 14:



30 No se revela cáncer u otra actividad biológica para cualquiera de los compuestos, ya sea en la memoria descriptiva 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 padre. Kulic especula que los profármacos de azidotimidina tendrían que 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 troxacicatina (que es un análogo de ADN, aunque L-ADN), es probable que estén inactivos, como los profármacos de azidotimidina.

45 El documento WO 2005/012327 se refiere a derivados de fosforamidato de nucleótidos y su uso en el tratamiento del cáncer. Los restos básicos de, por ejemplo, cada uno de desoxiuridina, citarabina, gemcitabina y citidina pueden estar sustituidos en la posición 5'. El resto de fosforamidato tiene unido al átomo de P un resto de aril-O y un resto de alfa-aminoácido.

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



55

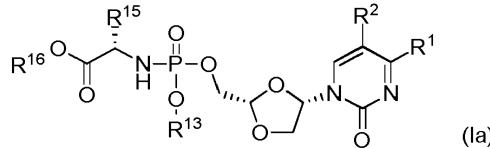
Balzarini afirma que este profármaco de fosforamido era -250 veces menos activo contra el VIH que su nucleósido 3TC padre, pero que el profármaco es "prácticamente igual de efectivo contra el VHB en células Hep G2.2.15". En otras palabras, la adición de este gran profármaco de éster metílico de fosforamido 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 troxacicatina, particularmente profármacos dirigidos al 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 troxacicatina 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 efectos colaterales debidos a la toxicidad en otros órganos en un mínimo.

15

Descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos representados por la fórmula la:



(la)

20

donde:

R¹ es OR¹¹, o NR⁵R⁵;

25

R² es F;

R⁵ es H, C₁-C₆alquilo, OH, C(=O)R⁶, OC(=O)R⁶ u OC(=O)OR⁶;

R^{5'} es H o C₁-C₆alquilo;

R⁶ es C₁-C₂₂alquilo o C₃-C₇cicloalquilo;

R¹¹ es H o C₁-C₆alquilo;

30

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 C₁-C₆alquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₁-C₃alquilo, fenilo, bencilo o indolilo;

35

R¹⁶ es H, C₁-C₁₀alquilo, C₂-C₁₀alquenilo, 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-C₆alquenilo, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alcoxi, C₁-C₆haloalcoxi, fenilo, hidroxiC₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alquilcarbonilo, C₃-C₆cicloalquilcarbonilo, carboxiC₁-C₆alquilo, hidroxi, amino CN, y NO₂ o cualesquier dos grupos R²² unidos a átomos de carbono de un anillo adyacente pueden combinarse para formar -O-(CR²³R²³)₁₋₆-O-;

40

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 típica de la invención, R¹ es NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo.

En una realización típica de la invención, R¹ es NH₂.

En una realización típica de la invención, R¹⁵ es C₁-C₃alquilo.

50

En una realización preferida de la invención, R¹⁵ es metilo.

En una realización típica de la invención, R¹⁶ es C₃-C₁₀alquilo.

55

En una realización típica de la invención, R¹⁶ es 2-propilpentilo o 2-etilbutilo.

En una realización típica de la invención, R¹⁶ es bencilo.

En una realización típica de la invención, R¹⁶ es C₃-C₇cicloalquilo.

60

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

sustituido con uno o dos R²².

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

- 5 Los compuestos de Fórmula (la) 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 forma libre.

- 10 En una configuración preferida de compuestos de fórmula la, R¹⁵ es bencilo.

En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula la,

- 15 R¹ es NH₂;
R² es F;
R¹³ es fenilo, naftilo o indolilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con halo, por ejemplo, bromo o C₃-C₄cicloalquilo, por ejemplo, ciclopropilo;
R¹⁵ es C₁-C₃alquilo
20 R¹⁶ es C₁-C₈alquilo

En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula la,

- 25 R¹ es NH₂;
R² es F;
R¹³ es naftilo;
R¹⁵ es C₁-C₃alquilo;
R¹⁶ es C₁-C₈alquilo o bencilo;
- 30 En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula la,
- R¹ es NH₂;
R² es F;
R¹³ es fenilo, que es opcionalmente sustituido en la 4-posición con halo, por ejemplo, bromo o con C₃-C₄cicloalquilo, por ejemplo, ciclopropilo;
35 R¹⁵ es metilo;
R¹⁶ es C₃-C₈alquilo.

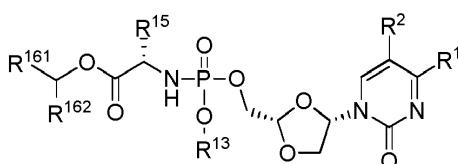
En una configuración representativa adicional de compuestos de fórmula la,

- 40 R¹ es NH₂;
R² es F;
R¹³ es fenilo;
R¹⁵ es metilo;
45 R¹⁶ es C₃-C₈alquilo
R¹⁶ es típicamente C₁-C₁₀alquilo o C₃-C₇cicloalquilo.

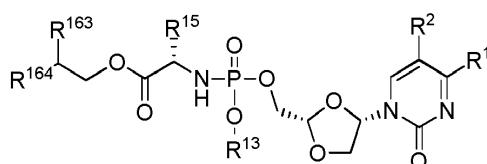
Valores representativos para R¹⁶ incluyen C₁-C₃alquilo, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo. Un valor preferido para R¹⁶ es metilo, un valor preferido para R¹⁶ es isopropilo.

- 50 En una realización, R¹⁶ es C₃-C₁₀alquilo.

- 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. Típicamente según estas realizaciones, R^{15'} es H, y 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:



(la')



(la'')

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.

5

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.

Un valor representativo adicional de R¹⁶ es ciclopentilo.

15

Un valor representativo adicional de R¹⁶ es bencilo.

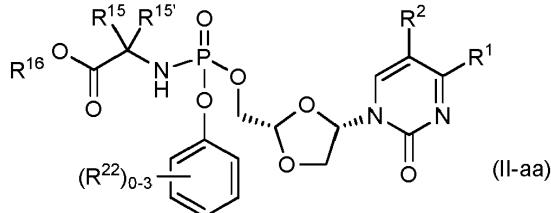
R¹³ es típicamente fenilo, naftilo o indolilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con 1 o 2 R²².

20 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.

25 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):



30

donde cada R²², cuando está presente, se selecciona independientemente de halo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alquenilo y C₁-C₆alcoxi. Típicamente, el anillo de fenilo no es sustituido o es sustituido con un R²².

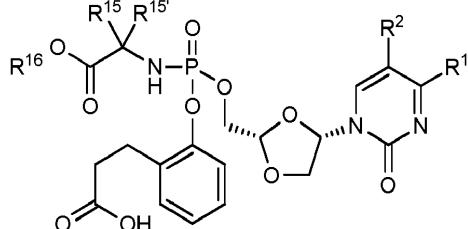
35 En una configuración de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo no es sustituido.

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.

40 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.

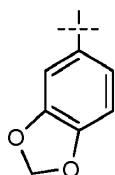
En una configuración de compuestos de Fórmula (II-aa), el anillo de fenilo se sustituye con carboxiC₁-C₆alquilo. Un ejemplo, representativo de esta configuración se ilustra en la fórmula parcial:

45



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:

50 la estructura parcial:

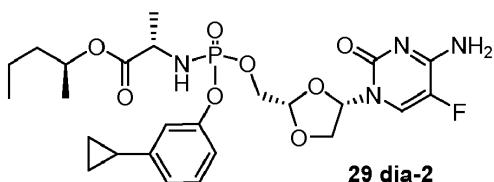


- Otros valores representativos de R¹³ incluyen piridilo opcionalmente sustituido. Típicamente, la fracción de piridilo está sin sustituir o sustituida con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alquenilo, C₁-C₆alcoxi, hidroxi, amino.
- 5

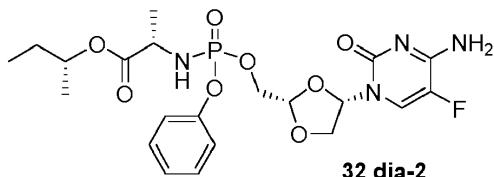
En una realización típica de compuestos de fórmula (Ia),

- R¹ es NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo;
 10 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 H; y R¹⁶ es C₁-C₃alquilo o bencilo;
 R¹⁶ es C₂-C₁₀alquilo o C₃-C₇cicloalquilo.

- 15 En una realización, un compuesto según la invención es:



- 20 En una realización, un compuesto según la invención es:



- En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto según la invención en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 25

- En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto según la invención para uso en el tratamiento del cáncer.
- 30 Los compuestos de la presente invención muestran actividad contra el cáncer, especialmente cáncer de hígado tales como HCC, 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 tratamiento de seres humanos que tienen cáncer de hígado tales como HCC.

- 35 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, 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.
- 40

- 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.
- 45

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 al uso de un compuesto según la invención en el tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos, que tienen cáncer, especialmente cáncer de hígado tales como HCC, mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de mismota invención.

10 La presente invención también se refiere al uso de un compuesto según la invención en el tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos, que tienen un cáncer de hígado secundario, mediante la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de mismota invención.

15 Dicho uso en el tratamiento comprende la administración sistémica a un sujeto que tiene cáncer de una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

En un aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según la invención 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 según definido por las reivindicaciones adjuntas 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 del cáncer, tal como HCC, que comprende un compuesto según definido por las reivindicaciones adjuntas en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 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 según definido por las reivindicaciones adjuntas en asociación con un adyuvante, diluyente, excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 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 según definido por las reivindicaciones adjuntas.

40 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.

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

50 En este contexto, una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad suficiente para producir un resultado deseado. 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 que el tumor del paciente está en remisión.

55 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto según la invención para su uso como un medicamento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto según la invención para su uso en el tratamiento del cáncer.

60 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto según la invención para uso en el tratamiento del cáncer de hígado tal como HCC.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto según la invención para su uso en el tratamiento de un cáncer de hígado secundario.

65 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto según la invención 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.

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

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

- 10 En un aspecto la presente invención proporciona una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula 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.

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

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

- 20 25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de cáncer de hígado, como HCC, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (la), a un sujeto, por ejemplo, un ser humano en necesidad del mismo.

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

- 35 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para uso en 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.

- 40 45 En un aspecto la presente invención proporciona un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de un cáncer de hígado primario o secundario comprendiendo la administración de una combinación farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto según la invención, 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.

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

- 55 60 65 Además, la invención se refiere a un procedimiento para fabricar un compuesto según la invención, a nuevos compuestos intermedios para su uso en la fabricación de compuestos de Fórmula (la) y a la fabricación de tales compuestos intermedios.

Siempre que el término 'compuestos de Fórmula (la)', '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 (la) y cualquier subgrupo de compuestos de Fórmula (la), incluyendo todas las posibles formas estereoquímicamente isómeras, sus sales, solvatos, aminas cuaternarias y complejos metálicos farmacéuticamente aceptables.

- 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.

5 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.

10 En general, se contempla que una cantidad diaria contra el cáncer eficaz sería de aproximadamente 0,01 a 15 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 20 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.

25 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.

30 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.

35 Las formas estereoisoméricas 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 40 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.

45 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, 50 ácido ditoluolotartárico 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 55 por procedimientos de preparación estereoespecíficos. Estos procedimientos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

60 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.

65 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.

5 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.

10 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 15 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 ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C, nitrógeno, tales como ¹³N y ¹⁵N, oxígeno, tales como ¹⁵O, ¹⁷O y ¹⁸O, fósforo, tales como ³¹P y ³²P, azufre, tal como ³⁵S, flúor, tal como ¹⁸F, cloro, tal como ³⁶Cl, bromo tales como ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br y ⁸²Br, y yodo, tales como ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I. La elección del isótopo incluido 20 en un compuesto marcado por isótopo dependerá de la aplicación específica de ese compuesto. Por ejemplo, para ensayos de distribución tisular de fármacos o substratos, generalmente serán más útiles los compuestos donde se incorpora un isótopo radiactivo tal como ³H o ¹⁴C. Para aplicaciones con radio-imágenes, por ejemplo, tomografía por emisión de positrones (PET), será útil un isótopo emisor de positrones tal como ¹¹C, ¹⁸F, ¹³N o ¹⁵O. La incorporación de un isótopo más pesado, tal como deuterio, es decir, ²H, puede proporcionar una mayor estabilidad metabólica a un compuesto de Fórmula (I) que puede resultar en, por ejemplo, un aumento de la vida media in vivo del compuesto o requisitos de dosificación reducida.

30 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.

35 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.

40 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 hidrohídricos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propiónico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, mágico (es decir, ácido hidroxilbutanodioico), tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, 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 45 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 benzatina, N-metil-D-glucamina, sales de hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

50 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.

55 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 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.

65 "C_m-C_nalquilo" por sí solo o en expresiones compuestas tales como C_m-C_nhaloalquilo, C_m-C_nalquilocarbonilo,

$C_m\text{-}C_n$ alquilamina, etc. representa un radical hidrocarburo alifático lineal o ramificado que tiene el número de átomos de carbono designado, por ejemplo, $C_1\text{-}C_4$ alquilo significa un radical alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. $C_1\text{-}C_6$ 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 $C_1\text{-}C_6$ alquilo, incluyendo metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo y n-hexilo, especialmente $C_1\text{-}C_4$ 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, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxi, -O-alquilo, -O-arilo, -alquieno-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 alquilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

" $C_2\text{-}C_n$ alquenilo" 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, $C_2\text{-}C_4$ alquenilo significa un radical alquenilo que tiene de 2 a 4 átomos de carbono; $C_2\text{-}C_6$ alquenilo significa un radical alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Grupos alquenilo no limitantes incluyen etenilo, propenilo, n-butenilo, 3-metilbut-2-enilo, n-pentenilo y hexenilo. Un grupo alquenilo 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, hidroxi, -O-alquilo, -O-arilo, -alquieno-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 alquenilo esté no sustituido, a menos que se indique lo contrario.

25 "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 alquinilo 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, hidroxi, -O-alquilo, -O-arilo, -alquieno-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.

30 "C₂-C_nhaloalquilo" representa un radical hidrocarburo alifático lineal o ramificado 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, diflurometilo y trifluorometilo.

35 "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 hidroxi. Grupos C_m-C_nhidroxialquilo típicos son C_m-C_nalquilo, donde un átomo de C es sustituido con un grupo hidroxi. Grupos hidroxialquilo ejemplares incluyen hidroximetilo e hidroxietilo.

40 "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.

45 "C_m-C_nalquileno" 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_nalquileno preferidos para uso en la presente invención son C₁-C₃alquileno. Ejemplos no limitantes de grupos alquileno incluyen -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂-, -CH(CH₃)CH₂CH₂- y -CH(CH(CH₃)₂)-.

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

55 El término "C_m-C_nalquilcarbonilo" 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_nalquilcarbonilo" es C₁-C₆alquilo-C(=O)-.

60 "C_m-C_nalcoxí" 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_n alcoxicarbonilo" representa un radical de la fórmula C_m-C_n alcoxi-C(=O)- donde la fracción C_m-C_n alcoxi es como se definió anteriormente. Típicamente, " C_m-C_n alcoxicarbonilo" es C_1-C_6 alcoxi-C(=O)-.

El término "amino" representa el radical -NH₂.

- 5 El término "halo" representa un radical halógeno tal como fluoro, cloro, bromo o yodo. Típicamente, grupos halo son fluoro o cloro.
- 10 El término "arilo" significa un grupo fenilo, bifenilo o naftilo.
- 15 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, hidroxi, -O-alquilo, -O-ariilo, -alquileno-O-alquilo, alquiltio,-NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-ariilo, -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.
- 25 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.

Una realización de heteroarilo comprende flavona.

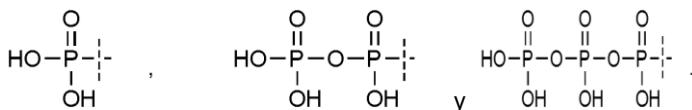
- 40 El término " C_3-C_n cicloalquilo" representa un radical alquilo monovalente cíclico que tiene el número de átomos de carbono indicado, por ejemplo, C_3-C_7 cicloalquilo significa un radical alquilo monovalente cíclico que tiene de 3 a 7 átomos de carbono. Radicales cicloalquilo preferidos para uso en la presente invención son C_3-C_4 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, alquenilo, alquinilo, arilo, cicloalquilo, ciano, hidroxi, -O-alquilo, -O-ariilo, -alquileno-O-alquilo, alquiltio,-NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -NH(cicloalquilo), -O-C(=O)-alquilo, -O-C(=O)-ariilo, -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.

- 50 El término "amino C_m-C_n alquilo" representa un radical C_m-C_n alquilo 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, "amino C_m-C_n alquilo" es amino C_1-C_6 alquilo.

- 55 El término "arnino C_m-C_n alquilcarbonilo" representa un radical C_m-C_n alquilcarbonilo como se define anteriormente, donde un átomo de hidrógeno de la fracción alquilo es reemplazado por un grupo NH₂. Típicamente, "arnino C_m-C_n alquilcarbonilo" es amino C_1-C_6 alquilcarbonilo. Ejemplos de amino C_m-C_n alquilcarbonilo incluyen, pero no se limitan a glicilo: C(=O)CH₂NH₂, alanilo: C(=O)CH(NH₂)CH₃, valinilo: C=OCH(NH₂)CH(CH₃)₂, leucinilo: C(=O)CH(NH₂)(CH₂)₃CH₃, Isoleucinilo: C(=O)CH(NH₂)CH(CH₃)(CH₂CH₃) y norleucinilo: C(=O)CH(NH₂)(CH₂)₃CH₃ y similares. Esta definición no se limita a aminoácidos de origen natural.

- 60 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.

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



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.

5 Cuando cualquier variable presente se produce más de una vez en cualquier fracción, cada definición es independiente.

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, 10 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.

15 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 20 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.

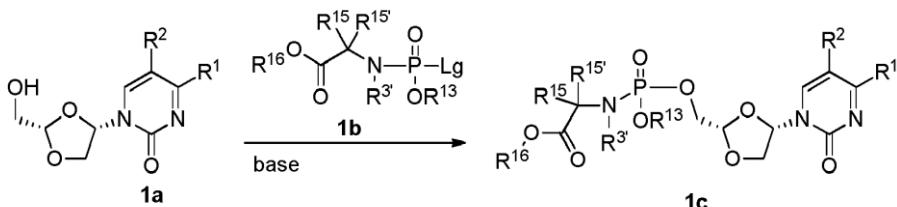
25 En general, los nombres de los compuestos utilizados en esta solicitud se generan utilizando ChemDraw Ultra 12.0. Además, si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no es indicada, por ejemplo, con líneas en negrita o discontinua, la estructura o porción de esa estructura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

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.

35 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 (I).

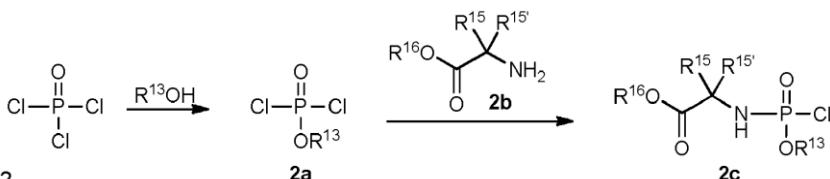


Lg es un grupo de salida, por ejemplo, halo o pentafluorofenol

Esquema 1

Condensación del derivado comercialmente disponible troxacetabina (1a), preparado como se ha descrito anteriormente, con un reactivo de fosforamidato 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 fosforamidato (1c).

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

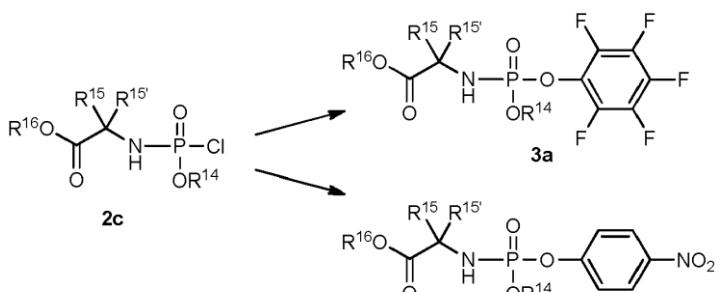


Esquema 2

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

10



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).

15

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.

20

El término "grupo N-protector" o "N-protegido" como se usa en esta invención se refiere a aquellos grupos destinados a proteger el N-términos 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, diisopropilmoxicarbonilo, 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 siliilo tales como trimetilsiliilo y similares. Grupos N-protectores favorecidos incluyen formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, t-butiloacetilo, fenilsulfonilo, bencilo (Bz), t-butoxicarbonilo (BOC) y benciloxicarbonilo (Cbz).

25

Grupos protectores hidroxi y/o carboxi también se revisan extensamente en Greene ibid e incluyen éteres tales como metilo, éteres metílicos sustituidos tales como metoximetilo, metiliometilo, benciloximetilo, t-butoximetilo, 2-metoxietoximetilo y similares, éteres de sililo tales como trimetilsililo (TMS), t-butildimetilsililo (TBDMS) tribencilsililo, trifenilsililo, t-butilodifenilsililo, triisopropil 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 hidroxi ésteres incluyen ésteres tales como formato, benciformato, cloroacetato, metoxiacetato, fenoxiacetato, pivaloato, adamantoato, mesitoato, benzoato y similares. Grupos protectores de hidroxi carbonatos incluyen vinilo metilo, alilo, cinamilo, bencilo y similares.

Descripción Detallada de las Realizaciones

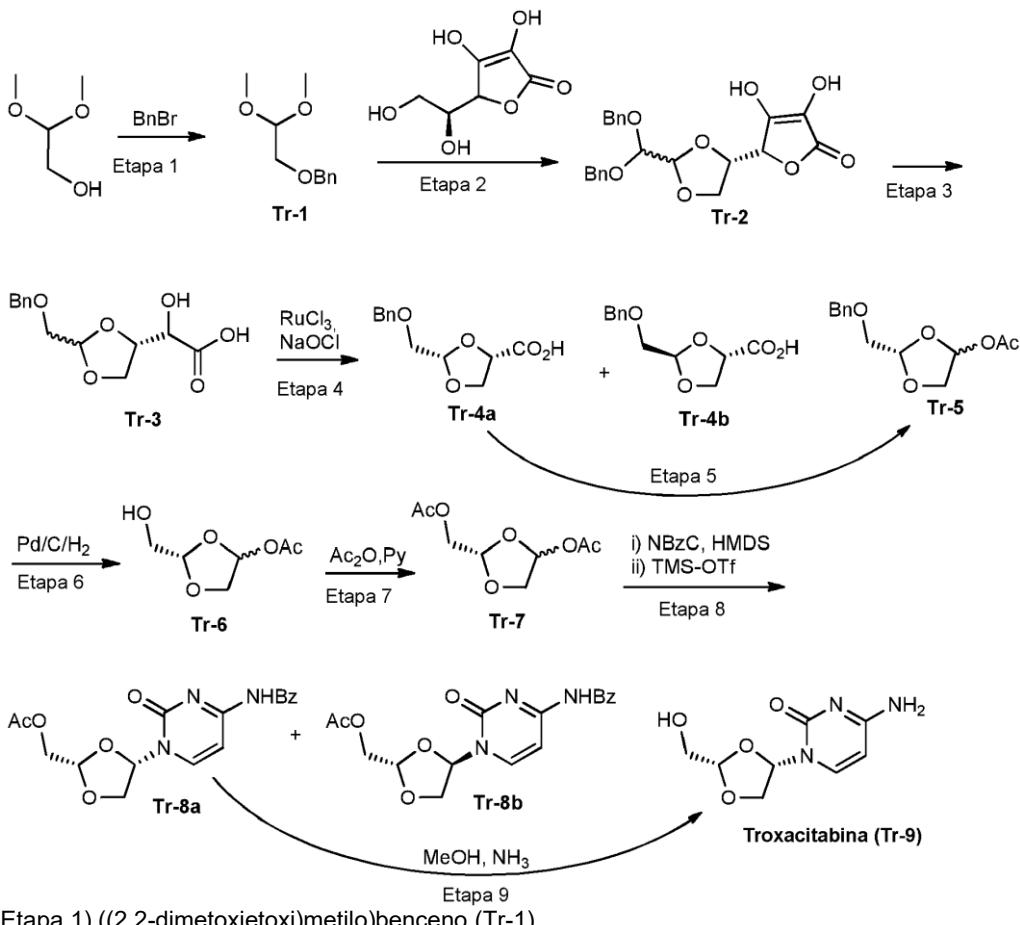
Diversas realizaciones de la invención e intermedios, por tanto, serán ahora ilustrados mediante los siguientes ejemplos. Los nombres de los compuestos se generaron mediante el software ChemDraw Ultra, CambridgeSoft, versión 12.0.2.

5

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.

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

Preparación de troxacetabina

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

- 5 A una solución agitada de 2,2-dimethoxietanol (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 (Na_2SO_4) 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 para obtener el compuesto del título (60 g, 60 %) como un líquido.
- 10

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

- 15 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.
- 20

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

- 25 Fue añadido el compuesto Tr-2 (91,7 g, 0,297 mol) a una solución agitada de K_2CO_3 (86,3 g, 0,625 mol) en H_2O (509 mL) a temperatura ambiente. H_2O_2 (80 ml, 0,71 mol, 30 % v/v) se añadió lentamente y la solución se enfrió a 0 °C 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.
- 30

Etapa 4) (2S,4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-4- ácido carboxílico (Tr-4a) & (2R,4S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-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 5 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 10 eluyente, lo que dio el isómero 2R (20 g, 28 %)

Etapa 5) (2S)-2-((benciloxi)metilo)-1,3-dioxolan-4-il acetato (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 15 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 20 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.

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 % 25 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.

Etapa 7) ((2S)-4-acetoxi-1,3-dioxolan-2-ilo) metil acetato (Tr-7)

A una solución agitada del compuesto Tr-6 (5,74 g, 0,0354 mol) en piridina (107 mL), se añadió anhídrido 30 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 35 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.

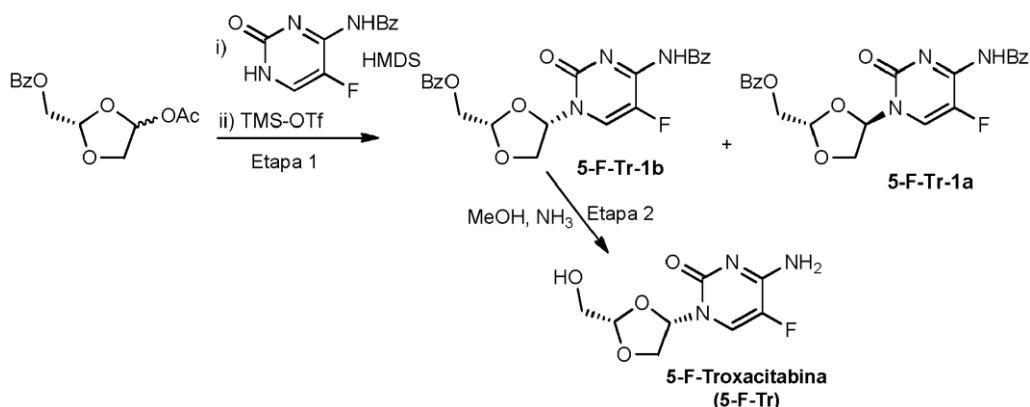
Etapa 8) ((2S,4S)-4-(4-(bencilamino)-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)acetato de metilo (Tr-8a)

40 Una mezcla de N-benzoilicitosina (12,1 g, 56.3mmol), sulfato de amonio (cantidad catalítica) y hexametildisilazano (HMDS) (67,4 ml, 418 mmol) se calentó a refljo 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 45 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 50 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-il)benzoato de metilo (5-F-Tr-1a) &((2S,4S)-4-(4-benzamido-5-fluoro-2-oxopirimidin-1 (2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-il)benzoato de metilo (5-F-Tr-1b)

5

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-il)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.

10

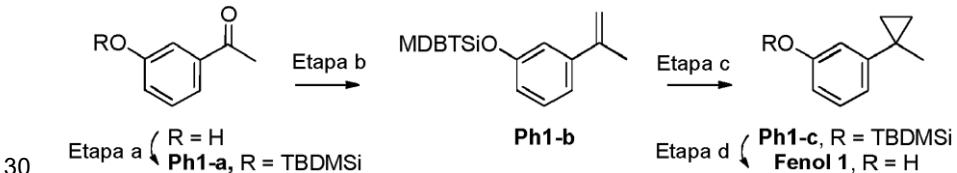
Etapa 2) 4-amino-5-fluoro-1-((2S,4S)-2-(hidroximetilo)-1,3-dioxolan-4-il)pirimidin-2(1H)-ona (5-F-Tr)

15

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.

20

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

Fenol 1

Etapa a) 1-(3-((Terc-butildimetsilsililo)oxi)fenilo)etanona (Ph1-a)

30

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). Despues de 5 min, se añadió una solución de TBDMSCl (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, 69 %).

Etapa b) Terc-butildimetil(3-(prop-1-en-2-il)fenoxi)silano (Ph1-b)

45

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-Butanolito (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 (Na_2SO_4), 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 %).

5 Etapa c) terc-butildimetilo(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 10 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 (Na_2SO_4), 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.

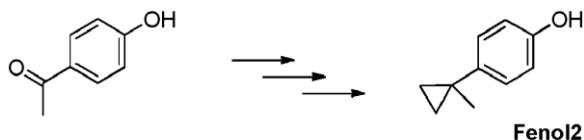
15

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 (Na_2SO_4), 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]⁻.

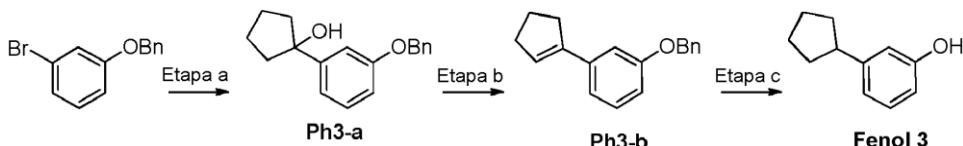
25

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



35

Etapa a) 1-(3-(bencilioxi)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 refluo 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 refluo 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 (Na_2SO_4), 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 %).

Etapa b) 1-(bencilioxi)-3-(ciclopent-1-en-1-il)benceno (Ph3-b)

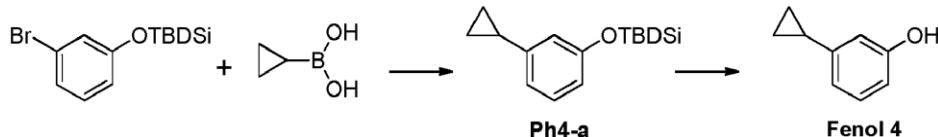
50

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 refluo 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 (Na_2SO_4), 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-Ciclopentilofenol (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]⁻.

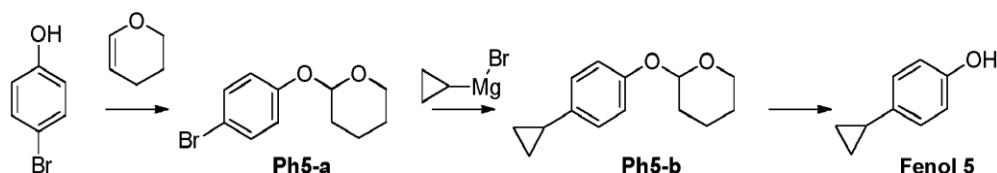
5

Fenol 410 Etapa a) Terc-butilo(3-ciclopropilofenoxy)dimetilsilano (Ph4-a)

Una suspensión de (3-bromofenoxy)(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 %).

15 Etapa b) 3-Ciclopropilfenol (Fenol 4)

20 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 %).

25 Fenol 530 Etapa a) 2-(4-Bromofenoxy)tetrahidro-2H-piran(Ph5-a)

35 Se disolvió 4-Bromofenol (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 %).

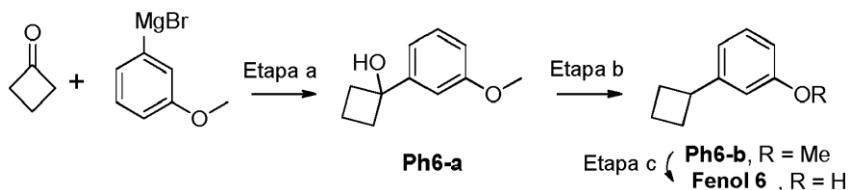
40 Etapa b) 2-(4-Ciclopropilofenoxy)tetrahidro-2H-piran (Ph5-b)

45 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-butilofosfina 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 %).

50 Etapa c) 4-Ciclopropilofenol (Fenol 5)

55 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

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

5 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 %).

10

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

15 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 %).

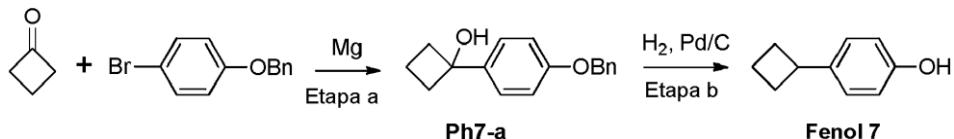
20

Etapa c) 3-Ciclobutilofenol (Fenol 6)

25 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

30

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

35 Una solución de 1-(bencilioxi)-4-bromobenceno (2,63 g, 100 mmol) en éter dietílico:THF 1:1 (100 mL) se añadió gota a gota a refljo 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 refljo 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 NH₄Cl (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 %).

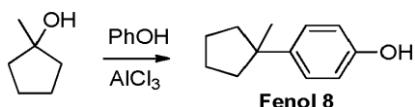
40

45

Etapa b) 4-Ciclobutilfenol (Fenol 7)

50 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) y la mezcla se hidrogenó a 45psi 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 %).

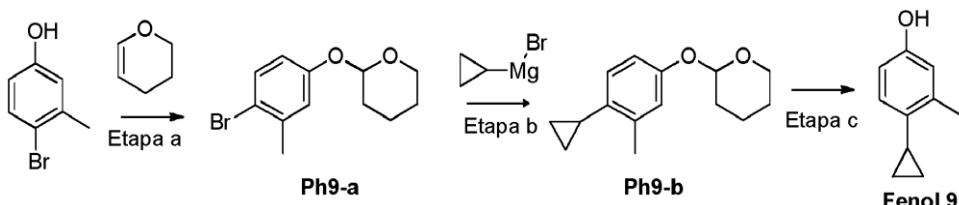
Fenol 8



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

- 5 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 AlCl₃ fresco (1,33 g, 10 mmol) en pentano (100 mL). La mezcla resultante se agitó bajo N₂ 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 (Na₂SO₄), filtrada y concentrada. El producto bruto se purificó por 10 cromatografía en columna sobre sílice (MeOH - DCM), para dar el compuesto del título (426 mg, 12 %).

Fenol 9



- 15 Etapa a) 2-(4-Bromo-3-metilofenoxy)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-2-H-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-metilofenoxy)tetrahidro-2H-piran (Ph9-b)

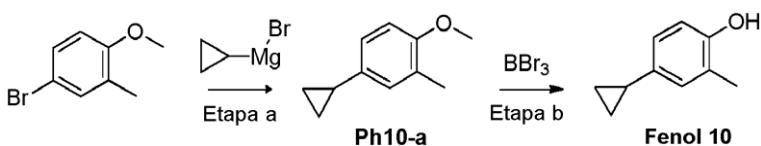
- 25 Ph9-a (3,12 g, 11,5 mmol), ZnBr₂ (2,59 g, 11,5 mmol), tri-terc-butilofosfina tetrafluoroborato de (0,2 g, 0,69 mmol) y Pd(OAc)₂ (258 mg, 1,15 mmol) se puso en un matraz y el matraz se lavó abundantemente con N₂ un par de veces. Se añadió THF (10 mL) mientras se agitaba, seguido de la adición gota 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 cromatografía en columna sobre sílice (EtOAc / heptano), para dar el compuesto del título (1,69 g, 57 %).

30

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

- 35 Ph9-b (1,70 g, 7,30 mmol) fue disuelto en MeOH (20 mL) y se añadió *p*TsxH₂O (318 mg, 1,67 mmol). La mezcla se 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 %).

40 Fenol 10



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

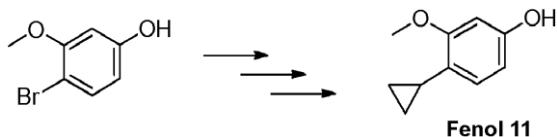
- 45 Se hizo reaccionar 4-Bromo-1-metoxi-2-metilbenceno (4,39 g, 21,9 mmol) con bromuro de ciclopropilmagnesio según el procedimiento descrito en Ph9 etapa b, que dio el compuesto del título (1,54 g, 43%).

50 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 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]⁻.

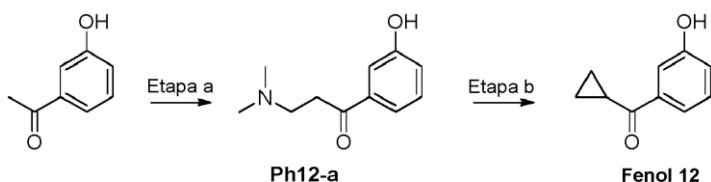
5 Fenol 11



10 4-ciclopropilo-3-metoxifenol (Fenol 11)

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 %.

15 Fenol 12



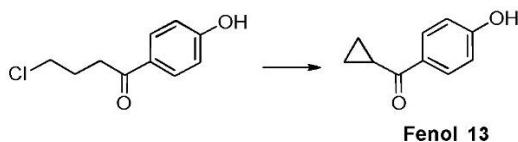
Etapa a) 3-(dimetilamino)-1-(3-hidroxifenilo)propan-1-ona (Ph12-a)

20 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 refljo durante 18 h. Se añadieron clorhidrato de dimetilamina adicional (0,55 eq., 1,22 g), paraformaldehído (0,5 eq., 1,35 g) y HCl (0,5 mL) y la mezcla de reacción se calentó a refljo 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.

Etapa b) ciclopropilo(3-hidroxifenilo)metanona (Fenol 12)

30 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 temperatura ambiente durante 40 h, luego se vertió en agua fría (200 mL) y se extrajo con DCM (3×100 mL). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl (2 × 100 mL), se secó (Na_2SO_4), 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 %).

Fenol 13



40

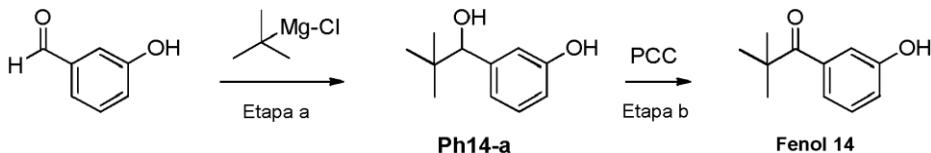
Etapa a) ciclopropilo(4-hidroxifenilo)metanona (Ph13)

45 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). Despues de 90 min, se añadió H₂O (10 mL), y despues de 60 minutos adicionales, se enfrió la mezcla de reacción, se diluyó con H₂O y se neutralizó con 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 HCCl₃ (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, despues se filtró. El filtrado se secó (MgSO_4), 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 HCCl_3 /hexano y se secó, lo que dio el compuesto del título (4,15 g, 51 %).

Fenol 14

5



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

- 10 Se añadió t.Bu-MgBr (1,5 eq.) gota a gota durante 30 minutos a una mezcla fría (-10°C) de 3-hidroxibenzaldehido (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 NH_4Cl 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 (Na_2SO_4), filtrada y concentrada. El producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna, para dar el compuesto del título (1,1 g, 37 %).
- 15

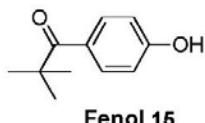
Etapa b) 1-(3-hidroxifenilo)-2,2-dimetilpropan-1-ona (Ph14)

20

- 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]⁺.

Fenol 15

30

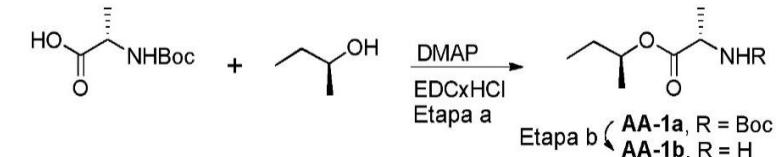


1-(4-Hidroxifenilo)-2,2-dimetilpropano-1-ona (Ph15)

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

Aminoácido 1

40

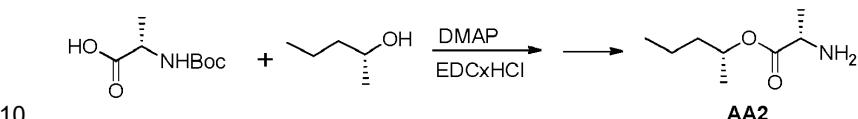


Etapa a) (S)-(S)-sec-butilo 2-((terc-butoxicarbonilo)amino)propanoato (AA1-a)

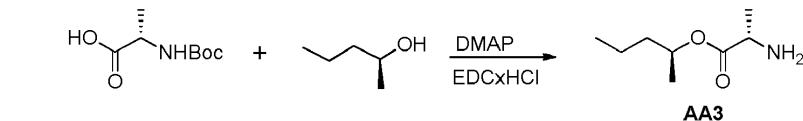
- Se disolvió L-Boc-Alanina (2,18 g, 11,5 mmol) en DCM seco (40 mL) y se añadió el alcohol (R)-butan-2-ol (938 mg, 12,6 mmol). La mezcla se enfrió a aproximadamente 5°C y se añadió EDC (3,31 g, 17,2 mmol) en una porción seguida de adición en porciones de DMAP (140 mg, 1,15 mmol). La mezcla se dejó alcanzar 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 %).

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 %).

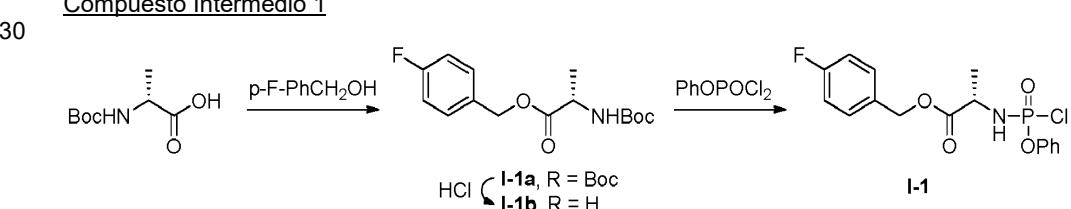
Aminoácido 2(S)-(R)-Pantan-2-ilo 2-aminopropanoato (AA2)

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)-Pantan-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 1Etapa 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 (2×50 mL), solución acuosa saturada de NaCl (2×50 mL), se secó con (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice 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)

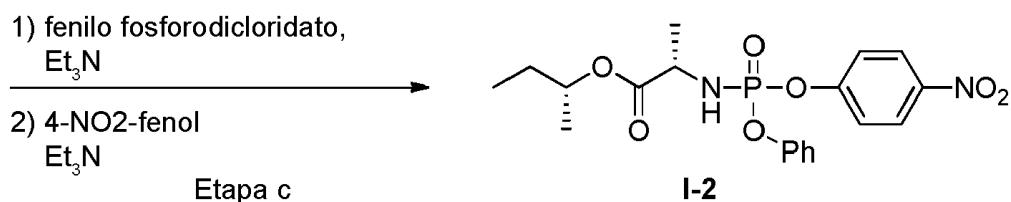
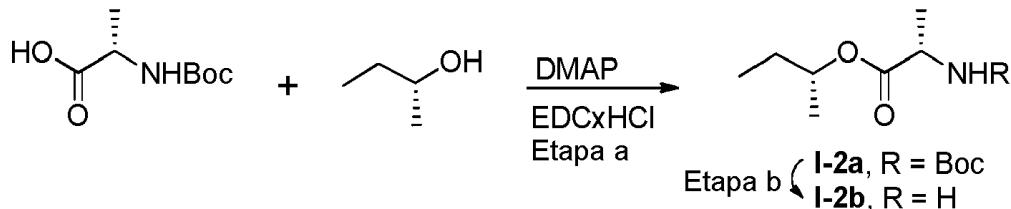
45 El compuesto I-1a (14,93 mmol) se disolvió en HCl 4M /dioxano (40 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se evaporó a sequedad que dio la sal de hidrocloruro del compuesto del título (3,4 g) como un polvo blanco. MS: 198 [M+H]⁺.

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

50 Se añadió PhPOCl₂ (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). ^{31}P -RMN (CDCl_3) δ : 7,85 (s) y 7,54 (s) (diastereómeros R_{P} y S_{P}).

Compuesto Intermedio 2



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

- 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 %).

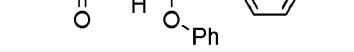
Etapa b) (S)-(R)-Sec-butilo 2-aminopropanoato (I-2b)

- 20 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 %).

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

- 25 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 %).

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

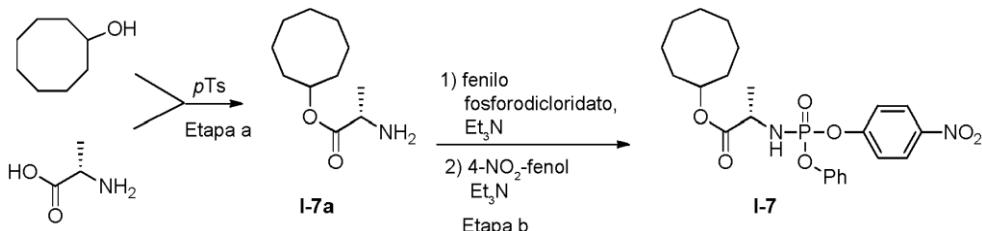
I-#	Estructura	alcohol
I-3		ciclopropilmetanol
I-4		ciclopentilmetanol

I#	Estructura	alcohol
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 710 Etapa a) (S)-ciclooctil 2-aminopropanoato (I-7a)

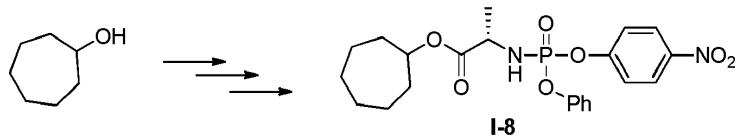
A una suspensión de L-alanina (1,7 g, 19,1 mmol) y ciclooctanol (25 ml, 191 mmol) en tolueno (100 mL) se añadió monohidrato ácido p-toluenosulfónico (3,6 g, 19,1 mmol). La mezcla de reacción se calentó a temperatura de refluxo durante 25 h y el agua se eliminó de la reacción usando una trampa Dean-Stark. 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 %).

Compuesto Intermedio 8

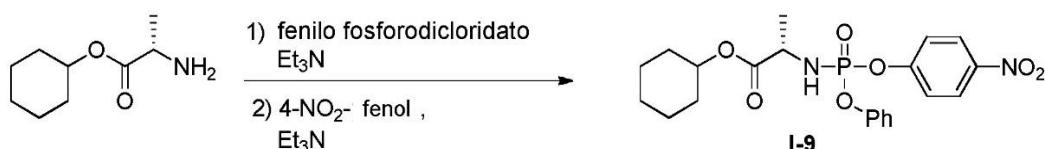
25

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

30 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 %).

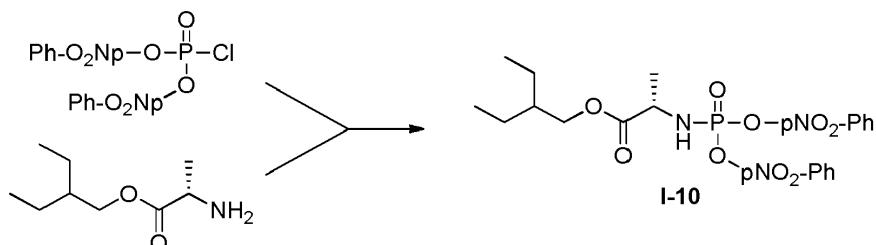
Compuesto Intermedio 9

35

(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 %).

5 Compuesto Intermedio 10



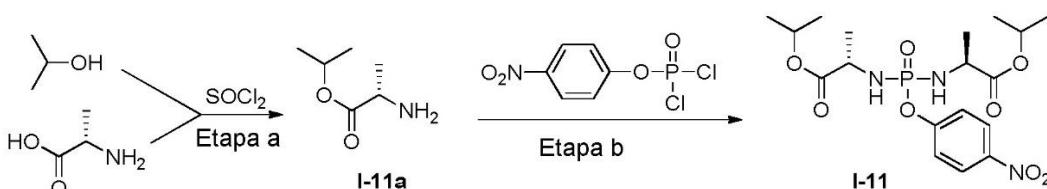
(S)-2-Etilbutil 2-((bis(4-nitrofenoxi)fosphorilto)amino)propanoato (I-10)

10

Se añadió (S)-2-Etilbutilo 2-aminopropanoato (5 g, 14,49 mmol) a una solución de bis(4-nitrofenilo) fosforo-cloridato (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. Despues, 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 %).

15

Compuesto Intermedio 11



20

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

25

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 %).

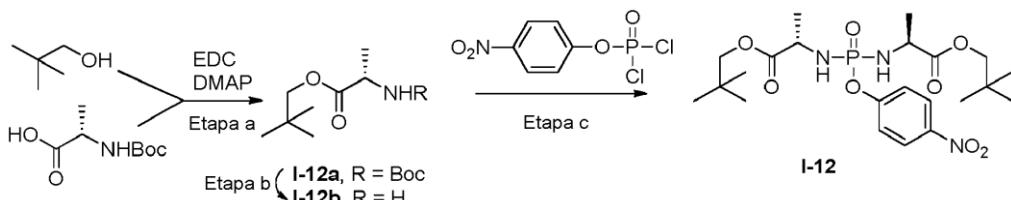
Etapa b) (2S)-Isopropilo 2-(((S)-1-isopropoxi-1-oxopropan-2-ilo)amino)(4-nitrofenoxi)fosphorilto-amino)propanoato (I-11)

30

Una solución de 4-nitrofenil dichlorofosfato (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 %).

35

Compuesto Intermedio 12



40

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

45

Se añadió EDAC y DMAP en porciones a -5 °C a una solución de Boc-alanina (18,9 g, 100 mmol) y neopentiloalcohol (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 %).

5

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

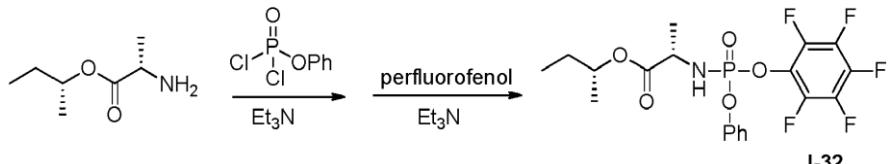
Se añadió p-Tolueno ácido sulfónico (15,6 g, 82,0 mmol) a -65 °C a una solución de la amina protegida con Boc I-12a (21,1 g, 82,0 mmol) en EtOAc (330 mL). La mezcla de reacción se agitó a -65 °C durante 8 h, 10 luego se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante la noche. Luego se filtró la mezcla 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)-fosforiloamino)propanoato (I-12)

15

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-étil acetato, lo que dio el compuesto del título (4,8 g, 77 %).

Compuesto Intermedio 32

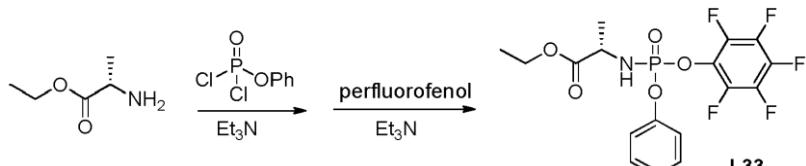


25

(2S)-(R)-sec-butilo 2-((perfluorophenoxy)(fenoxi)fosforiloamino)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 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 trituró 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

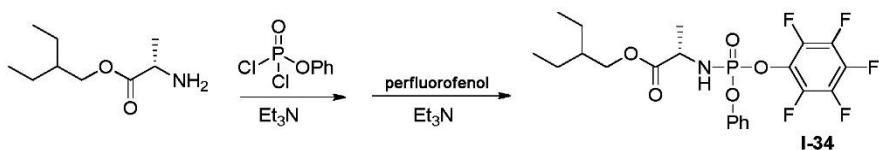


45

(2S)-etilo 2-((perfluorophenoxy)(fenoxi)fosforiloamino)propanoato (I-33)

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 %.

50

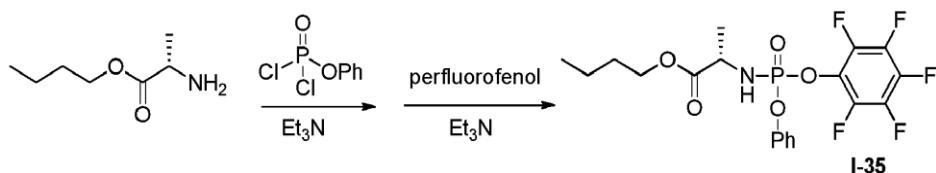
Compuesto Intermedio 34

(2S)-2-ethylbutilo 2-(((perfluorophenoxy)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (I-34)

5 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-ethylbutilo 2-aminopropanoato (18,8 g, 54,4 mmol). Rendimiento 27,0 g, 99 %.

LC-MS 496,44 [M+H]⁺.

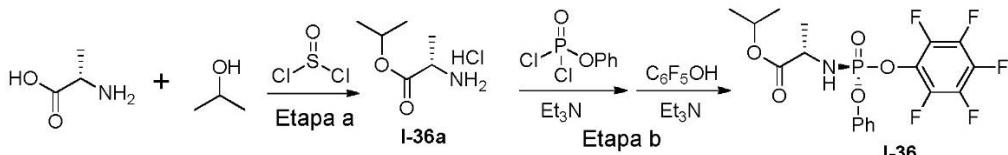
10

Compuesto Intermedio 35

15 (2S)-butilo 2-(((perfluorophenoxy)(fenoxy)fosforilo)amino)propanoato (I-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

20 1 hora y después a 0 °C durante 30 min. La mezcla se mantuvo enfriada en un baño de hielo y se añadió perfluorophenol (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

30

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

40 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.

Etapa b) (S)-Isopropilo 2-(((S)-(perfluorophenoxy)(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 hidrocloruro (50,0 g, 0,298 mol) en DCM (310 mL) a 0 °C - la adición se completó por

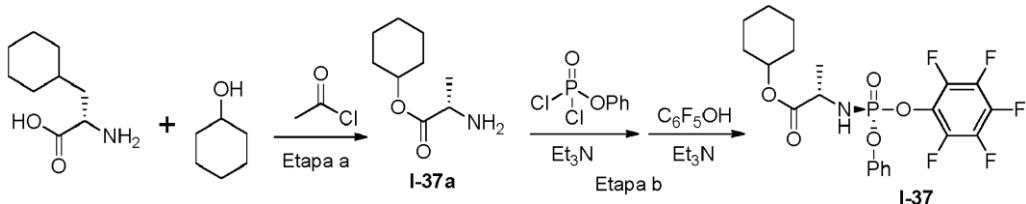
lavado con DCM (39 mL). La mezcla se enfrió y se añadió trietilamina (63,35 g, 0,626 mol, 2,1 eq) durante un periodo de 70 minutos con enfriamiento, manteniendo la temperatura no más alta que -14 °C, la adición fue completada por lavado con DCM (39 mL). La mezcla se agitó durante una hora de -15 a -20 °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)(fenoxi)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);

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.

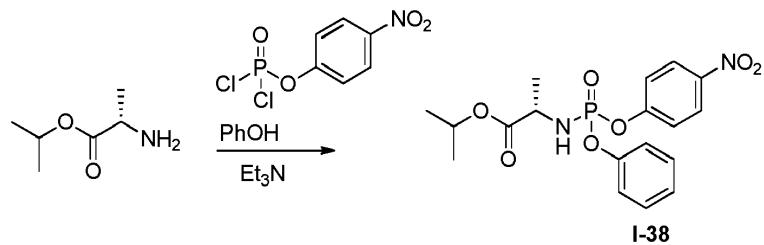
Compuesto Intermedio 37



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)(fenoxi)fosforilo)amino)propanoato (I-37)

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.

Compuesto Intermedio 38

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

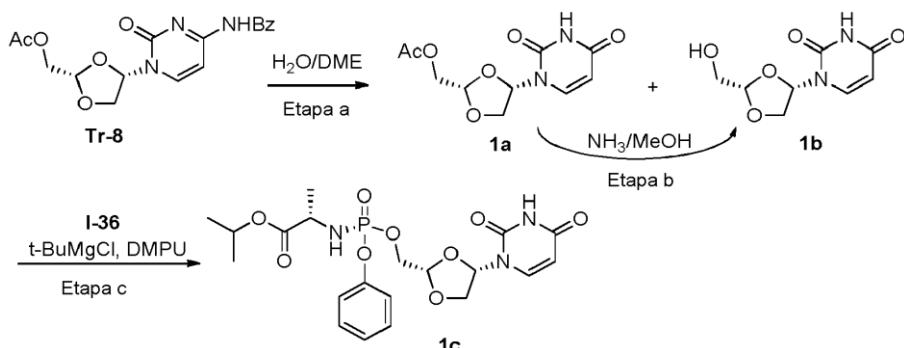
- 5 A una solución agitada de 4-nitrofenyldiclorofosfato (5 g, 19,8 mmol) en DCM seco (40 mL) se añadió una solución de fenol (1,86 g, 19,8 mmol) y trietilamina (3 mL, 21,8 mmol) en DCM seco (50 mL) a -78 °C durante un período de 30 min. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 60 min, después se 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.
- 10 15 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.
- 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.
- 20

TABLA A1

	I-39, dia-1 y -2
	I-40, dia-1 y -2
	I-41, dia-1 y -2
	I-42, dia-1 y -2
	I-43, dia-1 y -2
	I-44, dia-1 y -2
	I-45, dia-1 y -2
	I-46, dia-1 y -2
	I-47, dia-1 y -2
	I-48, 4:1 mezcla de P-diastereómeros
	I-49, dia-1 y -2
	I-50, dia-1 y -2

(continuación)

	I-51, dia-1 y -2		I-52, dia-1 y -2		I-53, dia-1 y -2		I-54, dia-1 y -2		I-55, dia-1 y -2		I-56, dia-1 y -2		I-57, dia-1 y -2		I-58, dia-1 y -2		I-59, dia-1 y -2		I-60, dia-1 y -2
--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------	--	------------------

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

5 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.

10

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

15 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.

20

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)

25

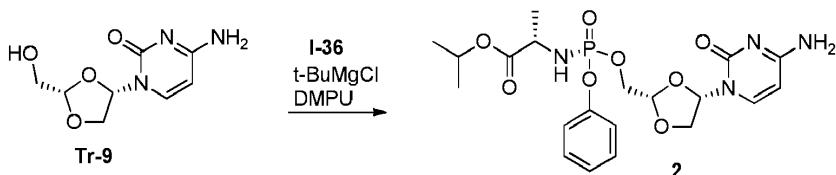
A una solución agitada del compuesto 1b (60 mg, 0,28 mmol) en DMPU (0,6 mL), se añadió terc-butilmagnesiocloruro (0,57 ml, 0,98 mmol, 1,7 M en THF) gota a gota a -5 °C. La mezcla se agitó a -5 °C durante 30 min, luego a temperatura ambiente durante 30 min. Una solución de isopropil ((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilo)-L-alaninato (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, que dio el compuesto del título (55 mg, 38 %) como un sólido. MS (ES+) [484,0]⁺.

30

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).

Ejemplo 2

35

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

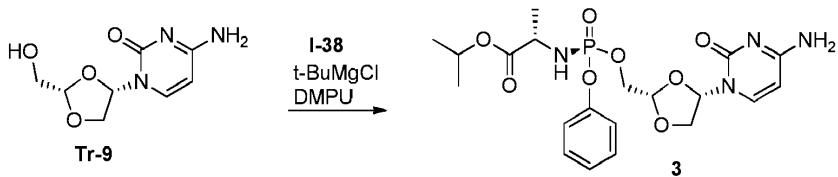
40

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. MS (ES+) 483,34 [M+H]⁺.

45

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).

Ejemplo 3



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

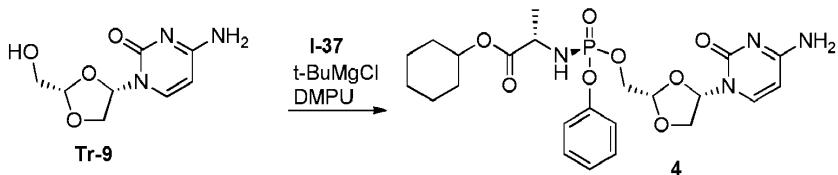
5

Se hizo reaccionar troxacicabina (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]⁻.

- 10 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

15



(2S)-Isopropilo 2-(((2S,4S)-4-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(cyclohexyl)fosforiloamino propanoato (4)

20

Se hizo reaccionar troxacicabina (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]⁺.

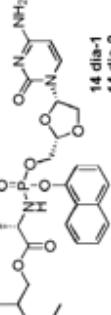
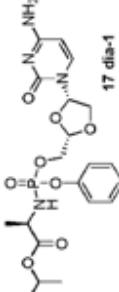
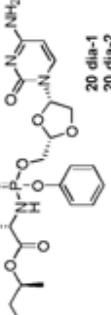
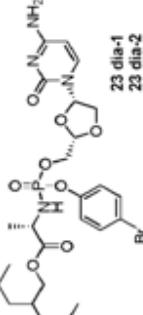
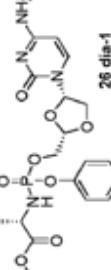
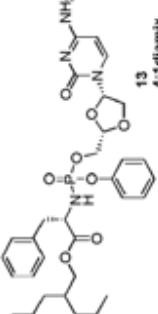
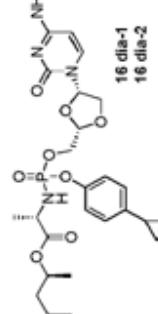
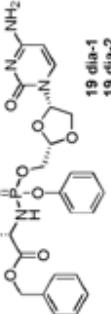
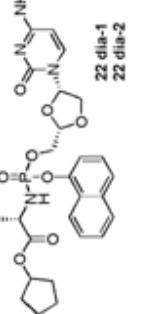
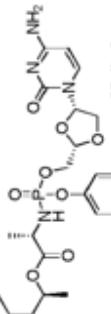
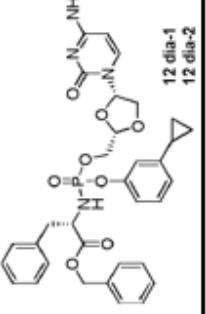
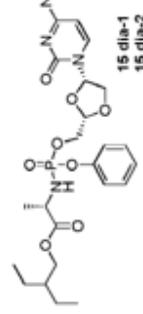
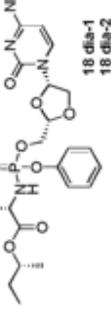
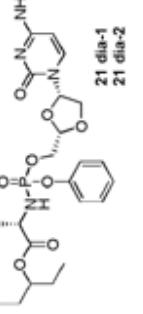
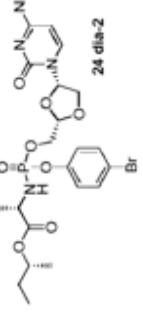
- 25 Los compuestos enumerados en la TABLA 2 se prepararon como diastereómeros puros según el procedimiento descrito en el Ejemplo 1, etapa c usando el compuesto intermedio apropiado, I-# dia-1 o I-# dia-2.

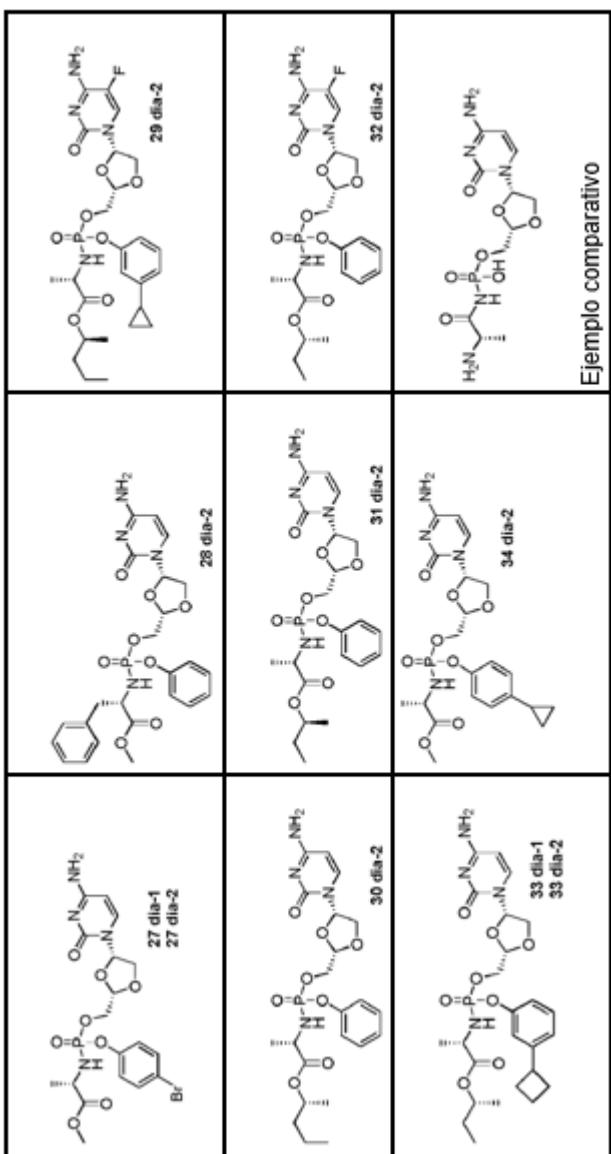
TABLA 2

Ej.	Interm.	R ¹⁵	R ¹⁶	Ar	Ex. # dia 1o -2	
					Diastereómero 1	Diastereómero 2
Tr-9						
Ej.	Interm.	R ¹⁵	R ¹⁶	Ar	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-ciclopropil-fenilo	34% 523,2	27% 523,2
11	I-43	metilo	2-butilo	4-(trimetilsililo)-fenilo	37% 569,2	37% 569,2

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

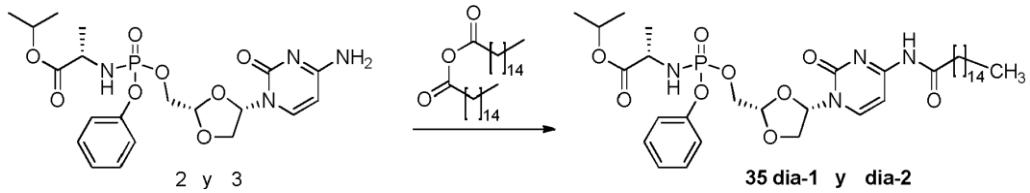
 14 dia-1 14 dia-2	 17 dia-1 17 dia-2	 20 dia-1 20 dia-2	 23 dia-1 23 dia-2	 26 dia-1 26 dia-2
 13 4:1diamix	 16 dia-1 16 dia-2	 19 dia-1 19 dia-2	 22 dia-1 22 dia-2	 25 dia-2
 12 dia-1 12 dia-2	 15 dia-1 15 dia-2	 18 dia-1 18 dia-2	 21 dia-1 21 dia-2	 24 dia-2



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

5

Ejemplo 35

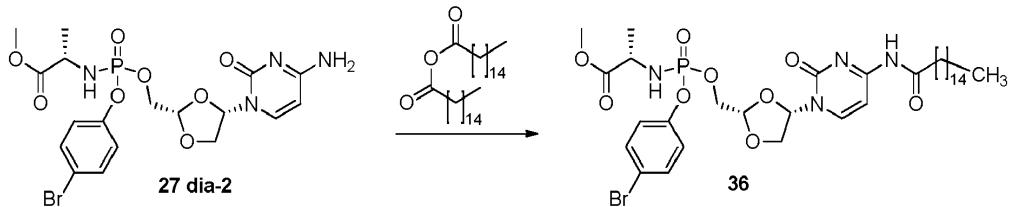


- 10 (2S)-isopropilo 2-(((2S,4S)-4-(2-oxo-4-palmitamidopirimidin-1(2H)-ilo)-1,3-dioxolan-2-ilo)metoxi)(fenoxi)fosforiloamino)propanoato (35 dia1 & 35 dia-2)

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

15

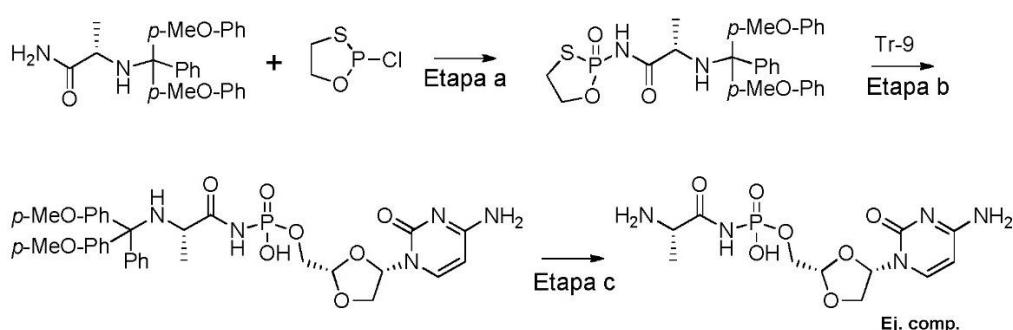
Ejemplo 36



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

5 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.

Ejemplo Comparativo



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

15 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-oxatiafosfolano (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 ^{31}P -RMN.

25 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)métilo)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 lyophilizadas, 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)fosforamido

40 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, $\lambda=271$ 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 exemplificados:

5

Compuesto 8 dia-1

10

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

15

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

20

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).

25

Compuesto 9 dia-2

³¹P RMN (DMSO-d₆) δ 4,159.

30

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

35

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).

40

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).

45

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.

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

55

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 contenido 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 contenido 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

5 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.

10 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.

Ensayos de Citotoxicidad Celular

15 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 ($1,5 \times 10^4$ células/pocillo) o HepG2 ($1,5 \times 10^4$ 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 20 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 % (CC_{50}) se determinó comparando el grado de inhibición (comparado con el control celular) ploteado contra la concentración del compuesto. Los resultados de la serie de dilución se ajustaron a una curva sigmoidal de dosis-respuesta.

25 Los compuestos 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.

30 **Tabla b1**

Ejemplo	HUH7 CC_{50} (μM)	HEP3B CC_{50} (μM)	HEPG2 CC_{50} (μM)	CL_{int} Hígado S9 ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$)	CL_{int} Intestinal S9 ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$)
1	>100	na	>100	12	6
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

ES 2 927 212 T3

Ejemplo	HUH7 CC ₅₀ (µM)	HEP3B CC ₅₀ (µM)	HEPG2 CC ₅₀ (µM)	CL _{int} (µL/min/mg)	Hígado S9	CL _{int} (µL/min/mg)	Intestinal S9
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		
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		
Troxacicatrina	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

Cada compuesto se probó por triplicado en el ensayo.

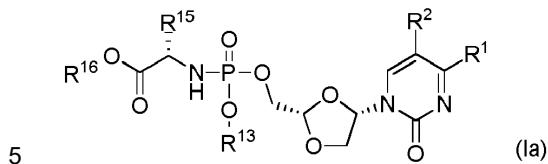
5

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 μM de compuesto (0,1 % DMSO) en 1 mL de medio de incubación en una incubadora de CO₂ 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 μM en medio y las células fueron incubadas por otras 6-8 horas.
- 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.
- 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 centrífuga Eppendorf 5417R. Los sobrenadantes se transfirieron a frascos de vidrio de 2 mL con inserto y se sometieron a bioanálisis como sigue:
- Se añadió un patrón interno (Indinavir) a cada muestra y las muestras (volumen de inyección de 10 μL) 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 automuestreador. Las dos columnas de HPLC utilizadas fueron una Synergy POLAR-RP 50*4,6 mm, partículas de 4 μm y una AX BioBasic 50*2,1 mm, partículas de 5 μm . Los flujos de LC eran 0,4-0,6 mL/min (El flujo más alto fue usado en la etapa de reacondicionamiento).
- 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- 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 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 a 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.
- 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 Ia:



donde:

R¹ es OR¹¹, o NR⁵R^{5'};

10 R² es F;

R⁵ es H, C₁-C₆alquilo, OH, C(=O)R⁶, OC(=O)R⁶ u OC(=O)OR⁶;

R^{5'} es H o C₁-C₆alquilo;

R⁶ es C₁-C₂₂alquilo o C₃-C₇cicloalquilo;

R¹¹ es H o C₁-C₆alquilo;

15 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 C₁-C₆alquilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquiloC₁-C₃alquilo, fenilo, bencilo o indolilo;

R¹⁶ es H, C₁-C₁₀alquilo, C₂-C₁₀alquenilo, C₃-C₇cicloalquilo, C₃-C₇cicloalquiloC₁-C₃alquilo, bencilo, o fenilo, cualquiera de los cuales es opcionalmente sustituido con 1, 2 o 3 grupos, cada uno seleccionado

20 independientemente de entre halo, OR¹⁸ y N(R¹⁸)₂;

cada R¹⁸ es independientemente H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆haloalquilo o C₃-C₇cicloalquilo;

cada R²² es independientemente seleccionado de entre halo, C₁-C₆alquilo, C₂-C₆alquenilo, C₁-C₆haloalquilo, C₁-C₆alcoxi, C₁-C₆haloalcoxi, fenilo, hidroxiC₁-C₆alquilo, C₃-C₆cicloalquilo, C₁-C₆alquilocarbonilo, C₃-C₆cicloalquilocarbonilo, carboxiC₁-C₆alquilo, hidroxi, amino, CN, y NO₂, o cualesquier dos grupos R²² unidos

25 a átomos de carbono de anillo adyacente pueden combinarse para formar -O-(CR²³ R^{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.

2. El compuesto según la reivindicación 1, donde R¹ es NH₂ o NHC(=O)C₁-C₆alquilo.

30

3. Un compuesto según la reivindicación 1, donde R¹ es NH₂.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde R¹⁵ es C₁-C₃alquilo. .

35

5. Un compuesto según la reivindicación 4, donde R¹⁵ es metilo.

6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R¹⁶ es C₃-C₁₀alquilo,

40

7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde R¹⁶ es 2-propilpentilo o 2-

etilbutilo.

8. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R¹⁶ es bencilo.

45

9. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R¹⁶ es C₃-C₇cicloalquilo.

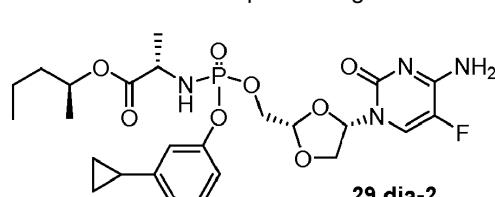
10. Un compuesto según una de las reivindicaciones 1-9, donde R¹³ es fenilo o naftilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos R²².

50

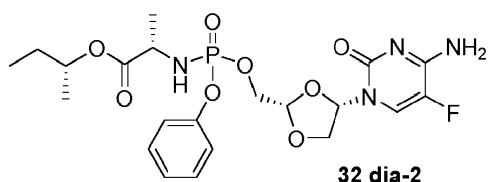
11. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-10, donde R¹³ es fenilo;

55

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



- 55 13. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:



14. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 5 15. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para uso en el tratamiento del cáncer.