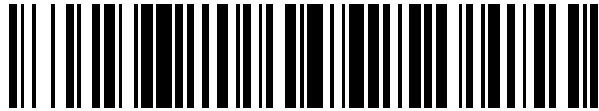


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 543 834**

51 Int. Cl.:

**C07H 19/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2005 E 05714381 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2015 EP 1720890**

54 Título: **Fosfonato nucleósidos útiles como principios activos en composiciones farmacéuticas para el tratamiento de infecciones víricas y compuestos intermedios para su producción**

30 Prioridad:

**04.03.2004 GB 0404891**  
**15.03.2004 US 552730 P**  
**05.04.2004 GB 0407712**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**24.08.2015**

73 Titular/es:

**K.U.LEUVEN RESEARCH & DEVELOPMENT**  
**(100.0%)**  
**GROOT BEGIJNHOF BENEDENSTRAAT 58**  
**3000 LEUVEN, BE**

72 Inventor/es:

**HERDEWIJN, PIET;**  
**PANNECOUQUE, CHRISTOPHE;**  
**WU, TONGFEI y**  
**DE CLERCQ, ERIK**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 543 834 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

Fosfonato nucleósidos útiles como principios activos en composiciones farmacéuticas para el tratamiento de infecciones víricas y compuestos intermedios para su producción

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a una serie de nuevos fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos, más específicamente fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos que comprenden un anillo de cinco eslabones que contiene azufre o que contiene oxígeno, saturado o insaturado, sustituido con fosfonalcoxi o sustituido con fosfonotioalquilo acoplado a una base nucleotídica heterocíclica tal como una base pirimidínica o púrica. La invención se refiere además a determinados fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos que tienen actividad antivírica, más específicamente propiedades de inhibición de la replicación del VIH (Virus de Inmunodeficiencia Humana). La invención se refiere además a métodos para la preparación de dichos fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos, así como de nuevos compuestos intermedios útiles en una o más etapas de dichas síntesis. La invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de dichos fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos como principios activos. Esta invención se refiere además al uso de dichos fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos como medicamentos o a la preparación de un medicamento útil para el tratamiento de mamíferos que padecen infecciones víricas, en particular infecciones por VIH. Esta invención se refiere además a métodos para el tratamiento de infecciones víricas en mamíferos mediante la administración de una cantidad terapéutica de dichos fosfonato nucleósidos y tiofosfonato nucleósidos, combinados opcionalmente con uno o más de otros fármacos que tienen actividad antivírica.

**20 Antecedentes de la invención**

Un retrovirus denominado de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente etiológico de la enfermedad compleja que incluye la destrucción progresiva del sistema inmunitario (síndrome de inmunodeficiencia adquirida, en lo sucesivo SIDA) y la degeneración del sistema nervioso central y periférico. Hay dos tipos de VIH, el VIH-1 y VIH-2, produciendo este último una enfermedad menos grave que el anterior. Siendo un retrovirus, su material genético se encuentra en la forma de ARN (ácido ribonucleico) que consta de dos cadenas de ARN individuales. Coexistiendo con el ARN están la transcriptasa inversa (que tiene actividad de polimerasa y de ribonucleasa), la integrasa, una proteasa y otras proteínas.

Se sabe en la técnica que algunos compuestos antivíricos que actúan como inhibidores de la replicación del VIH son agentes eficaces en el tratamiento del SIDA y enfermedades similares. Los fármacos que son conocidos y aprobados para el tratamiento de pacientes infectados por el VIH pertenecen a una de las siguientes clases:

- inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa (NRTI), tales como, pero sin limitarse a, azidotimidina, zidovudina, lamivudina, didanosina, abacavir, adefovir y similares,
- inhibidores nucleotídicos de la transcriptasa (NtRTI), tales como, pero sin limitarse a, tenofovir (disponible en el mercado con la denominación comercial Viread),
- 35 - inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa tales como, pero sin limitarse a, nevirapina, efavirenz y similares,
- inhibidores de la proteasa tales como, pero sin limitarse a, nelfinavir, saquinavir, ritonavir, indinavir, amprenavir, fosamprenavir y similares, e
- inhibidores de fusión tal como enfuvirtida.

40 Un objetivo relativamente nuevo en donde se centró la atención últimamente es la enzima integrasa del VIH, a la vez que muchas otras proteínas que actúan como enzimas o cofactores están siendo investigadas.

La replicación del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (en lo sucesivo denominado VIH-1) se puede reducir drásticamente en pacientes infectados mediante la combinación de potentes medicamentos antivíricos dirigidos a múltiples dianas víricas, tal como fue reseñado por Vandamme *et al.* en *Antiviral Chem. Chemother.* (1998) 9:187-203.

Las politerapias pueden reducir la carga vírica por debajo del límite de detección de las pruebas más sensibles. No obstante, se ha demostrado que la replicación continua bajo nivel se produce, posiblemente en sitios de reserva, dando lugar a la aparición de cepas resistentes a los medicamentos, según Perelson *et al.* en *Nature* (1997) 387: 123-124.

50 Además, la selectividad de muchos agentes antivíricos es más bien baja, posiblemente haciéndoles sensibles a efectos secundarios y toxicidad. Por otra parte, el VIH puede desarrollar resistencia a la mayoría, si no a todos, fármacos antivíricos actualmente aprobados, según Schmit *et al.* en *J. Infect. Dis.* (1996) 174:962-968. Está muy documentado que la capacidad del VIH para evolucionar rápidamente a resistencia a los fármacos, junto con los

problemas de toxicidad que proceden de fármacos conocidos, requiere el desarrollo de clases adicionales de fármacos antivíricos.

En resumen, todavía hay una necesidad estricta en la técnica de potentes inhibidores del VIH. Por lo tanto un objetivo de la presente invención es satisfacer esta necesidad urgente identificando principios activos farmacéuticamente eficientes que sean menos tóxicos y/o más resistentes a mutaciones del virus que los fármacos antivíricos existentes y que puedan ser útiles, ya sea solos o en combinación con otros principios activos, para el tratamiento de infecciones retrovíricas, en particular infecciones lentivíricas, y más particularmente infecciones por el VIH, en mamíferos y más específicamente en los seres humanos. Además, otro objetivo de la presente invención es complementar los medicamentos antivíricos existentes de tal manera que la combinación de fármacos resultante ha mejorado la actividad o la resistencia a la mutación del virus de cada uno de los compuestos aislados.

La familia de los Flaviviridae consta de 3 géneros, los pestivirus, los flavivirus y los hepacivirus y contiene además el virus de la hepatitis G (VHG/VGB-C) que todavía no ha sido asignado a ningún género. Los pestivirus tal como el virus de la peste porcina clásica (VPPC), el virus de la diarrea vírica bovina (VDVB) y el virus de la enfermedad de la frontera (VEF) causan infecciones del ganado doméstico (cerdos, vacas y ovejas respectivamente) y son responsables de importantes pérdidas económicas en todo el mundo. Las vacunas se utilizan en algunos países con diferentes grados de éxito para controlar la enfermedad del pestivirus. En otros países, el sacrificio y matanza de los animales se utilizan para contener los brotes de enfermedades por pestivirus.

La Organización Mundial de la Salud estima que 170 millones de personas en todo el mundo (3% de la población mundial) están infectadas de manera crónica con el VHC. Estos portadores crónicos están en situación de riesgo de desarrollar cirrosis y/o cáncer de hígado. En estudios con un seguimiento de 10 a 20 años, la cirrosis se desarrolló en el 20-30% de los pacientes, 1 a 5% de los cuales pueden desarrollar cáncer de hígado durante los próximos años. La única opción de tratamiento disponible en la actualidad es el uso de interferón  $\alpha$ -2 (o su pegilado) ya sea solo o combinado con ribavirina. Sin embargo, la respuesta prolongada sólo se observa en aproximadamente el 40% de los pacientes y el tratamiento se asocia a efectos adversos graves. Existe, pues, una necesidad urgente de inhibidores potentes y selectivos de la replicación del HCV con el fin de tratar las infecciones con VHC. Además, el estudio de inhibidores específicos de la replicación del VHC se ha visto obstaculizado por el hecho de que no es posible propagar el VHC (eficientemente) en cultivo celular. Como el VHC y los pestivirus pertenecen a la misma familia del virus y comparten muchas similitudes (organización del genoma, productos de genes análogos y ciclo de replicación), se han adoptado pestivirus como modelo y sustituto del VHC. Por ejemplo el VEVF está estrechamente relacionado con el virus de la hepatitis C (VHC) y se utiliza como un virus sustituto en el desarrollo de fármacos para la infección por el VHC.

En vista de su importante valor farmacológico, hay necesidad de fármacos que tienen actividad antivírica contra los virus que pertenecen a la familia de Flaviviridae, incluido el virus de la hepatitis C.

Ya se ha llevado a cabo trabajo pionero sobre la química de fosfonato nucleósidos e incluye ciertos esquemas de reacción importantes para sintetizar fosfonato nucleósidos. Un examen de la química y la biología de los análogos de nucleótido modificados con fósforo está disponible, por ejemplo, en A. Holy en *Avances en Antiviral Drug Design* (1993) 1:179-231. fosfonato nucleósidos se pueden dividir en dos categorías. Una primera categoría son análogos de nucleósidos verdaderos ya que contienen una base nucleotídica y un resto de azúcar. Una segunda categoría de fosfonato nucleósidos, representada por ejemplo por 9-(2-fosfonilmetoxietil)adenina (adefovir), puede considerarse como bases nucleotídicas alquiladas ya que su resto de azúcar está sustituido por un resto alcoxialquilo. Sorprendentemente, hasta ahora, una potente actividad antivírica *in vivo* (VHS, CMV, VHB, VIH) sólo se ha asociado a ciertas bases nucleotídicas de fosfonalcoxialquilo y no con fosfonato nucleósidos que contienen azúcar. Varios intentos para descubrir fosfonato nucleósidos antivíricos han llevado a esquemas de síntesis para la preparación de fosfonato nucleósidos de furanosa, de piranosa y carbocíclicos, careciendo todos ellos sin embargo de actividad antivírica potente.

La fosforilación por cinasas y su incorporación en los ácidos nucleicos (lo que conduce eventualmente a la terminación de la cadena) se considera como un importante mecanismo que puede explicar la actividad antivírica de nucleósidos. La falta de actividad antivírica de los fosfonato nucleósidos de la primera categoría se explica generalmente por sus escasas propiedades de sustrato para las cinasas celulares y víricas. Por otro lado, la potente actividad antivírica de las bases nucleotídicas alquiladas fosfoniladas de la segunda categoría se ha atribuido a su fosforilación intracelular en difosfatos y a una incorporación de los nucleósidos modificados en ácidos nucleicos (incorporación enzimática en ácidos nucleicos que es casi irreversible) que tiene consecuencias negativas aguas abajo y por lo que inhibe el crecimiento vírico. Una desventaja de los fosfonatos nucleósidos acíclicos es su bajo índice de selectividad en los sistemas de detección celulares. La selectividad de los trifosfatos de nucleósidos anti-VIH transcriptasa inversa frente a las ADN polimerasas mitocondriales se considera generalmente como un importante factor determinante de la toxicidad *in vivo*. Por lo tanto todavía hay necesidad en la técnica de fármacos experimentales que tienen selectividad adecuada por la transcriptasa inversa del VIH. Una estructura menos flexible, tal como la que está presente en los fosfonato nucleósidos se considera que mejora tanto la unión a polimerasas como la selectividad vírica contra el huésped. En consecuencia, los fosfonatos nucleósidos que conservan su afinidad de la transcriptasa inversa del VIH se consideran potentes candidatos antivíricos.

- Se han sintetizado previamente treosa nucleósidos por que pueden ensamblarse en moléculas precursoras naturales. Se ha demostrado que los ácidos treosa nucleicos (ATN) forman dobles hélices con ADN y ARN que presenta una estabilidad térmica similar a la de la asociación de ácidos nucleicos naturales. Los trifosfatos de treosa nucleósidos son aceptados como sustrato por varias polimerasas y se pueden incorporar enzimáticamente en el ADN. Unos pocos nucleósidos de 2,5-dihidro-5-(fosfonometoxi)-2-furanilo derivados de timina y adenina con actividad antirretrovírica han sido descritos por Kim *et al.* en *J. Org.Chem.* (1991) 56: 2642-2647. El documento EP-A-398.231 describe una familia de derivados purínicos/pirimidínicos de fosfonometoximetilo que son eficaces en la lucha contra infecciones víricas a una dosis de 0,01 a 30 mg/kg de peso corporal. La publicación de patente de EE.UU. nº 2004/0023921 describe una composición farmacéutica que comprende un análogo de nucleótido con un grupo fosfonato en una cantidad eficaz para inhibir una polimerasa vírica de un virus de la hepatitis C (en lo sucesivo denominado VHC) o para actuar como un sustrato para la polimerasa vírica del virus HCV. El documento WO 98/20017 describe una familia de nucleósido-5'-trifosfatos modificados que son inhibidores o sustratos de ADN polimerasas y agentes antivíricos, siendo, en particular, capaces de inhibir la reproducción del virus VIH humano en un cultivo de linfocitos humanos.
- 15 Grinengl *et al.* en *Journal of Medicinal Chemistry* (1988) 31(9) 1831-9 describe compuestos antivíricos que llevan un grupo 5'-hidroximetilo y un grupo 4'-fosfono o un grupo 4'-fosfonometilcarbonilo.

- Lambert *et al.* en *Journal of Medicinal Chemistry* (1989) 32(2) 367-374 describe la síntesis y actividad antivírica de los ésteres de los ácidos fosfonoacético y fósfonofórmico de 5-bromo-2'-desoxiuridina y nucleósidos y aciclonucleósidos de pirimidina.
- 20 Kim *et al.* en *Journal of Organic Chemistry* (1991) 56(8) 2642-2647 describe la síntesis de análogos de nucleótidos de fosfonato compuesto potente actividad contra el VIH.

Aunque, como se deduce a partir de la técnica anterior de registro, se propusieron numerosos compuestos para cumplir con los diversos requisitos mencionados anteriormente desde el punto de vista de la terapia retrovírica, se observó que ninguno de ellos consigue dichos objetivos y, en consecuencia, todavía hay una necesidad estricta en la técnica de nuevos compuestos que sean capaces de resolver estos problemas.

#### Compendio de la invención

Sin desear estar ligado por la teoría, la presente invención se basa en el descubrimiento inesperado de que los problemas anteriormente mencionados pueden ser resueltos por una nueva clase de compuestos en donde el grupo fosfonoalcoxi o el grupo fosfonotioalquilo de un fosfonato de nucleósido de furanosa (o su análogo de azufre en donde el furanilo se sustituye con tienilo) está unido en la posición 3', con lo que el átomo de fósforo y la base nucleotídica se sitúan mucho más cerca entre sí que en los fosfonato nucleósidos conocidos previamente. Esta invención también se basa en el descubrimiento inesperado de que la ausencia de un sustituyente hidroximetilo en la posición 4' de esta clase de compuestos evita el impedimento estérico durante la reacción de fosforilación enzimática, evitando por lo tanto las escasas propiedades de sustrato para las cinasas celulares y víricas (lo que conduce a escasa actividad antivírica) de los fosfonatos nucleósidos de la técnica anterior. Además, dependiendo de la longitud de la estructura de enlaces de carbono entre el anillo de 5 eslabones y el átomo de fósforo, los nucleósidos fosfonilados de la invención pueden considerarse mímicos de mono-, di- o trifosfato. Al variar la longitud de esta estructura de enlaces, la presente invención permite además ajustar finamente la actividad antivírica de la nueva clase de compuestos. Además, esta invención se basa en el descubrimiento inesperado de que la presencia de un centro anomérico en esta nueva clase de treosa fosfonato nucleósidos les proporciona propiedades estereo-electrónicas similares a las de los nucleósidos naturales.

Basándose en los descubrimientos inesperados anteriores, la presente invención proporciona nuevos agentes antivíricos, agentes antirretrovíricos especialmente, y más específicamente compuestos anti-VIH. Estos compuestos son fosfonato nucleósidos, más específicamente nucleósidos sustituidos con fosfonoalcoxi y sustituidos con fosfonotioalquilo que comprenden un anillo de cinco eslabones, saturado o insaturado, que contiene oxígeno o que contiene azufre (preferiblemente dihidrofuranilo, tetrahidrofuranilo, dihidrotienilo o tetrahidrotienilo), o análogos o derivados de los mismos, que se ha demostrado que poseen actividad antivírica contra diversas clases de virus tales como, pero sin limitarse a, retriviridae, flaviviridae y papoviridae, más específicamente contra el VIH humano. La presente invención demuestra que estos compuestos inhiben eficientemente la replicación del VIH en mamíferos. Por lo tanto, estos fosfonato nucleósidos constituyen una clase útil de nuevos compuestos antivíricos potentes que se puede utilizar en el tratamiento y/o prevención de infecciones víricas en animales tales como mamíferos, y seres humanos, más específicamente para el tratamiento y/o prevención del VIH en los seres humanos.

La presente invención también se refiere a compuestos que tienen actividades antivíricas con respecto a uno o más de otros virus tales como, pero sin limitarse a, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus del papiloma, flavivirus, picornavirus y similares. La presente invención se refiere además al uso de dichos compuestos como medicamentos, más específicamente como agentes antivíricos, y a su utilización para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o prevención de infecciones víricas, en concreto de infecciones retrovíricas tales

como, pero sin limitarse al VIH en seres humanos. La invención también se refiere a métodos para la preparación de todos dichos compuestos y a composiciones farmacéuticas que los comprenden en una cantidad antivírica eficaz.

La presente invención también se refiere a un método de tratamiento o prevención de infecciones víricas, en concreto de infecciones retrovíricas tales como, pero sin limitarse a, el VIH en seres humanos mediante la administración de uno o más de dichos compuestos, opcionalmente en combinación con uno o otros agentes antivíricos más, a un paciente en necesidad del mismo.

Un aspecto particularmente útil de la presente invención es la provisión de nuevos fosfonato nucleósidos que comprenden un anillo de cinco eslabones, saturado o insaturado, sustituido con fosfonoalcoxi o sustituido con fosfontioalquilo, que está acoplado a una base nucleotídica heterocíclica, preferiblemente una base pirimidínica o púrica. En otra forma de realización particularmente útil de la invención, el anillo de cinco eslabones, saturado o insaturado, es un anillo que contiene oxígeno tal como dihidrofurano y tetrahydrofurano.

Una realización de la invención se refiere a nuevos nucleósidos de furanosa, saturados o insaturados, sustituidos con 3'-fosfonoalcoxi o sustituidos con 3'-fosfontioalquilo que comprenden una base púrica o pirimidínica acoplada a posición 1' de una furanosa, por lo que la posición 3' de la furanosa está sustituida con un grupo fosfonoalcoxi o un grupo fosfontioalquilo. Estos nucleósidos también pueden proceder de tetrahydrofurano o 3,4-dihydrofurano sustituido de este modo en la posición 2 con una base heterocíclica tal como, pero no limitadas a, bases pirimidínicas y púricas, y en la posición 4 con un grupo fosfonoalcoxi o un grupo fosfontioalquilo.

### Breve descripción de los dibujos

Las figuras 1 a 15 muestran esquemáticamente un número de rutas de síntesis alternativas para la preparación de diversas realizaciones de los fosfonato nucleósidos de esta invención, así como de los compuestos intermedios implicados en dichas rutas de síntesis. Más específicamente estas rutas de síntesis se refieren a la sustitución en 2' y, aún más específicamente, a una estereoquímica diferente en las posiciones 1' y 3' de la molécula. Las abreviaturas utilizadas en las figuras se definen en la presente memoria después. En concreto, "Nu" significa nucleófilo.

### Definiciones

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, el término "furanosa" se refiere a monosacáridos cíclicos de cinco eslabones y, por extensión, a sus análogos de azufre. La numeración de los monosacáridos se inicia en el carbono junto al oxígeno encerrado en el anillo y se indica con una prima (').

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, el término "fosfonoalcoxi" se refiere a un fosfonato acoplado mediante un grupo alquilo (tal como se define en la presente memoria después) a un átomo de oxígeno que a su vez puede acoplarse a otra molécula o grupo.

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, el término "fosfontioalquilo" se refiere a un fosfonato acoplado mediante un grupo alquilo (tal como se define en la presente memoria después) a un átomo de azufre, que a su vez puede acoplarse a otra molécula o grupo.

Como se emplea en esta memoria, y a menos se indique lo contrario, el término "nucleósido de 3'-fosfonoalcoxi-furanosa" se refiere a una base heterocíclica, tal como una base púrica o pirimidínica, acoplada a la posición 1' de un furanosa por lo que la posición 3' de dicha furanosa está sustituida con un grupo fosfonoalcoxi.

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, las expresiones "bases nucleotídicas heterocíclicas" y "bases pirimidínicas y púricas" comprenden, pero no se limitan a, adenina, timina, citosina, uracilo, guanina y 2,6-diaminopurina tal como puede encontrarse en los nucleósidos de origen natural. El término comprende además análogos y derivados de los mismos. Uno de sus análogos es una base que imita dichas bases de origen natural, de tal manera que su estructura (los tipos de átomos presentes y su disposición) es similar a las bases de origen natural mencionadas anteriormente, pero está modificado ya sea por que tiene propiedades funcionales adicionales con respecto a las bases de origen natural o que carece de ciertas propiedades funcionales de las bases de origen natural. Dichos análogos comprenden, pero no se limitan a, los derivados por sustitución de un resto -CH- por un átomo de nitrógeno (p. ej., 5-azapirimidinas tal como 5-azacitosina) o viceversa (p. ej., 7-desazapurinas, tal como 7-desaza-adenina o 7-desazaguanina) o ambos (p. ej., 7-desaza, 8-azapurinas). Un derivado de bases de origen natural, o uno de sus análogos, es un compuesto en donde el anillo heterocíclico de tales bases está sustituido por uno o más sustituyentes convencionales independientemente seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, amino y alquilo C<sub>1-6</sub>. Algunos ejemplos ilustrativos adicionales se proporcionan en la memoria de aquí en adelante. Dichas bases púricas o pirimidínicas, sus análogos y derivados de los mismos, son bien conocidas por los expertos en la técnica, p. ej. a partir de documentos tales como, pero sin limitarse a, WO 03/093290 y WO 04/028481.

Como se emplea en esta memoria, y a menos se indique lo contrario, el término "alquilo" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a cadenas de hidrocarburos saturados lineales o ramificados que tienen de 1 a 18

átomos de carbono tales como, pero sin limitarse a, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-metil-1-propilo (isopropilo), 2-butilo (sec-butilo), 2-metil-2-propilo (terc-butilo), 1-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 2-metil-2-butilo, 3-metil-2-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-1-butilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 3-metil-3-pentilo, 2-metil-3-pentilo, 2,3-dimetil-2-butilo, 3,3-dimetil-2-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo, n-undecilo, n-dodecilo, n-tridecilo, n-tetradecilo, n-pentadecilo, n-hexadecilo, n-heptadecilo, n-octadecilo, y similares; preferiblemente el grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono.

Como se emplea en esta memoria, y a menos se indique lo contrario, el término "cicloalquilo" significa un radical monovalente de hidrocarburo monocíclico saturado que tiene de 3 a 10 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo y similares, o un radical monovalente de hidrocarburo saturado policíclico de C<sub>7-10</sub> que tiene de 7 a 10 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, norbornilo, fenchilo, trimetiltricicloheptilo o adamantilo.

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, los términos "alqueno" y "cicloalqueno" se refieren a cadenas de hidrocarburos lineales o ramificadas que tienen de 2 a 18 átomos de carbono, cadenas de hidrocarburos cíclicos que tienen respectivamente de 3 a 10 átomos de carbono, con al menos una insaturación etilénica (es decir, un doble enlace sp<sup>2</sup> carbono-carbono) que puede estar en la configuración cis o trans, tales como, pero sin limitarse a, vinilo (-CH=CH<sub>2</sub>), alilo (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), ciclopentenilo (-C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>) y 5-hexenilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, los términos "alquino" y "cicloalquino" se refieren a cadenas de hidrocarburos lineales o ramificados que tienen de 2 a 18 átomos de carbono, cadenas de hidrocarburos cíclicos que tienen de 3 a 10 átomos de carbono respectivamente, con al menos una insaturación acetilénica (es decir, un triple enlace sp carbono-carbono), tales como, pero sin limitarse a, etinilo (-C≡CH), propargilo (-CH<sub>2</sub>C≡CH), ciclopropinilo, ciclobutinilo, ciclopentinilo o ciclohexinilo.

Como se emplea en esta memoria con respecto a un radical sustituyente, y a menos que se indique lo contrario, el término "arilo" designa cualquier mono- o radical hidrocarbonado monovalente aromático policíclico que tiene de 6 hasta 30 átomos de carbono tales como, pero sin limitarse a, fenilo, naftilo, antraceno, fenantracilo, fluorantenilo, crisenilo, pirenilo, bifenilo, terfenilo, picenilo, indenilo, bifenilo, indaceno, benzociclobutenilo, benzociclooctenilo y similares, incluidos los radicales cicloalquilo benzo-C<sub>4-8</sub> (siendo este último como se definió anteriormente), tales como, por ejemplo, indanilo, tetrahidronaftilo, fluorenilo y similares, están opcionalmente sustituidos todos estos radicales por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en halógeno, amino, trifluorometilo, hidroxilo, sulfhidrilo y nitro, tales como por ejemplo 4-fluorofenilo, 4-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 4-cianofenilo, 2,6-diclorofenilo, 2-fluorofenilo, 3-clorofenilo, 3,5-diclorofenilo y similares.

Como se emplea en esta memoria con respecto a un grupo sustituyente, y a menos que se indique lo contrario, los términos "arilalquilo", "arilalqueno" y "alquilo sustituido con heterocíclico" se refieren a un grupo monovalente de hidrocarburo alifático saturado o etilénicamente insaturado (preferiblemente un alquilo C<sub>1-18</sub> o alqueno C<sub>2-18</sub> tal como se definió anteriormente) en donde un grupo arilo o heterocíclico (tal como se define en la presente memoria) ya está unido, y en donde dicho grupo alifático y/o dicho grupo arilo o heterocíclico puede estar opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, amino, hidroxilo, sulfhidrilo, alquilo C<sub>1-7</sub>, trifluorometilo y nitro, tal como, pero sin limitarse a, bencilo, 4-clorobencilo, 4-fluorobencilo, 2-fluorobencilo, 3,4-diclorobencilo, 2,6-diclorobencilo, 3-metilbencilo, 4-metilbencilo, 4-terc-butilbencilo, fenilpropilo, 1-naftilmetilo, feniletilo, 1-amino-2-feniletilo, 1-amino-2-[4-hidroxi-fenil]etilo, 1-amino-2-[indol-2-il]etilo, estirilo, piridilmetilo (incluidos todos sus isómeros), piridiletilo, 2-(2-piridil)isopropilo, oxazolilbutilo, 2-tienilmetilo, pirroliletilo, morfoliniletilo, imidazol-1-il-etilo, benzodioxolilmetilo y 2-furilmetilo.

Como se emplea en esta memoria con respecto a un grupo sustituyente, y a menos que se indique lo contrario, el término "anillo heterocíclico" o "heterocíclico" significa un grupo hidrocarbonado monovalente mono- o policíclico, saturado, monoinsaturado o poliinsaturado que tiene de 3 hasta 15 átomos de carbono y que comprende uno o más heteroátomos en uno o más anillos heterocíclicos, teniendo cada uno de dichos anillos de 3 a 10 átomos (y opcionalmente incluidos además uno o más heteroátomos unidos a uno o más átomos de carbono de dicho anillo, por ejemplo en forma de un grupo carbonilo, tiocarbonilo o selenocarbonilo, y/o a uno o más heteroátomos de dicho anillo, por ejemplo en forma de un grupo sulfona, sulfóxido, N-óxido, fosfato, fosfonato u óxido de selenio), seleccionándose cada uno de dichos heteroátomos independientemente de entre el grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno, azufre, selenio y fósforo, incluidos además radicales en donde un anillo heterocíclico está condensado a uno o más anillos de hidrocarburos aromáticos, por ejemplo, en forma de radicales heterocíclicos condensados con benzo, condensados con dibenzo y condensados con nafto; dentro de esta definición están incluidos los grupos heterocíclicos, tales como, pero sin limitarse a, piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, tetrahidrotienilo, sulfóxido de tetrahidrotienilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, piperidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, pirrolinilo, tetrahidrofuranilo, bis-tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, bis-tetrahidropiranilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, octahidroisoquinolinilo, azocinilo, triazinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, tiantrenilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo,

fenoxatinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, indolizino, isoindolilo, 3H-indolilo, 1H-indazolilo, purinilo, 4H-quinolizino, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalino, quinazolino, cinolino, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo,  $\beta$ -carbolino, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantrolino, fenazino, fenotiazino, furazanilo, fenoxazino, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolino, pirazolidinilo, pirazolino, piperazinilo, indolino, isoindolino, quinuclidinilo, morfolino, oxazolidinilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, benzotieno, benzotiazolilo y isatinoilo; los grupos heterocíclicos pueden subdividirse en grupos heteroaromáticos (o "heteroarilo") tales como, pero sin limitarse a, piridilo, dihidropiridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, s-triazinilo, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofuranilo, tienilo, y pirrolilo, y grupos heterocíclicos no aromáticos; cuando un heteroátomo de dicho grupo heterocíclico no aromático es nitrógeno, este último puede estar sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en alquilo, cicloalquilo, arilo, arilalquilo y alquilarilo (tal como se define en la presente memoria); a modo de ejemplo, los anillos heterocíclicos unidos a carbono pueden estar unidos en la posición 2, 3, 4, 5 o 6 de una piridina, en la posición 3, 4, 5, o 6 de una piridazina, en la posición 2, 4, 5 o 6 de una pirimidina, en la posición 2, 3, 5 o 6 de una pirazina, en la posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahydrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahydropirrol, en la posición 2, 4, o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, en la posición 3, 4, o 5 de un isoxazol, pirazol, o isotiazol, en la posición 2 o 3 de una aziridina, en la posición 2, 3 o 4 de una azetidina, en posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una quinolina o en la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una isoquinolina; heterociclos unidos a carbono aún más específicos comprenden 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 5-piridazinilo, 6-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 5-pirazinilo, 6-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo o 5-tiazolilo; a modo de ejemplo, los anillos heterocíclicos de nitrógeno unidos en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, en la posición 2 de un isoindol o isoindolina, en la posición 4 de una morfolina, y en la posición 9 de un carbazol o  $\beta$ -carbolina, los heterociclos de unidos con nitrógeno aún más específicos incluyen 1-aziridilo, 1-azetidilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo y 1-piperidinilo.

El término "acilo" como se emplea en esta memoria, a menos que se indique lo contrario, se refiere a un grupo carbonilo unido directamente a un grupo alquilo, alqueno, alquino, arilo, heterocíclico, arilalquilo, arilalqueno, arilalquino, alquilo heterocíclico, alqueno heterocíclico o alquino heterocíclico, tal como por ejemplo el grupo alcanilo (alquilcarbonilo), arilo (arilcarbonilo), arilalcanoilo o alquilarilo, en donde el grupo carbonilo está acoplado a otra molécula. Como ejemplo, el término "acilialquilo" se refiere a un grupo acilo unido mediante un átomo de oxígeno a un grupo alquilo, estando acoplado este último además a otra molécula o átomo.

Como ejemplo, "alquilalquenoilcarbonato" se refiere a un grupo alquil-OC(O)O-alqueno, por lo tanto un carbonato sustituido en un lado con un grupo alquilo y en el otro lado con un alqueno, estando acoplado además uno de los grupos alquilo y alqueno a otra molécula o átomo.

Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, los términos "alcoxi", "cicloalcoxi", "ariloxi", "arilalquiloxi", "oxiheterocíclico", "tioalquilo", "tiocicloalquilo", "arilitio", "arilalquilitio" y "tioheterocíclico" se refieren a sustituyentes en donde un grupo alquilo, respectivamente un grupo cicloalquilo, arilo, arilalquilo o heterocíclico (cada uno de ellos tal como se define aquí), están unidos a un átomo de oxígeno o un átomo de azufre por un enlace sencillo, tales como, pero sin limitarse a metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, tioetilo, tiometilo, feniloxi, benciloxi, mercaptobencilo y similares.

Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, el término halógeno significa cualquier átomo seleccionado del grupo que consiste en flúor, cloro, bromo y yodo.

Como se emplea en esta memoria con respecto a un radical sustituyente, y a menos que se indique lo contrario, el término "aminoácido" se refiere a un radical derivado de una molécula que tiene la fórmula química  $H_2N-CHR-COOH$ , en donde R es el grupo lateral de átomos que caracterizar el tipo aminoácido; dicha molécula puede ser uno de los 20 aminoácidos de origen natural o cualquier aminoácido de origen sintético similar.

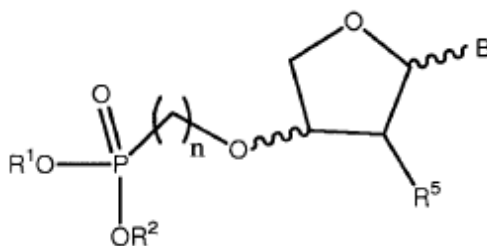
Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "estereoisómero" se refiere a todas las posibles formas diferentes isómeras así como de configuración que los compuestos de la invención pueden poseer, en particular, todas las formas isómeras estereoquímica y configuracionalmente posibles, todos los diastereómeros, enantiómeros y/o confómeros de la estructura molecular básica. Algunos compuestos de la presente invención pueden existir en diferentes formas tautómeras, estando incluidas todas estas últimas dentro del alcance de la presente invención.

Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "enantiómero" significa cada una de las formas ópticamente activas de un compuesto de la invención, que tiene una pureza óptica o exceso enantiomérico (determinado por métodos normalizados en la técnica) de al menos 80% (es decir, al menos 90% de un enantiómero y como máximo el 10% del otro enantiómero), preferiblemente al menos 90% y más preferiblemente al menos 98%.

Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "solvato" comprende cualquier combinación que puede estar formada por un compuesto de esta invención con un disolvente inorgánico (p. ej. hidratos) o disolvente orgánico adecuado, tal como, pero sin limitarse a alcoholes, cetonas, ésteres y similares.

- 5 El término "portador o excipiente farmacéuticamente aceptable" tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a cualquier material o sustancia con la que el principio activo, es decir, un compuesto de esta invención puede formularse con el fin de facilitar su aplicación o diseminación al sitio a tratar, por ejemplo, por disolución, dispersión o difusión de dicha composición, y/o para facilitar su almacenamiento, transporte o manipulación sin perjudicar su eficacia. El portador farmacéuticamente aceptable puede ser un sólido, un líquido o un gas que se ha comprimido para formar un líquido.
- 10 Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, el término "tetrosa" se refiere a cualquiera de una clase de monosacáridos que contienen cuatro átomos de carbono tales como, pero sin limitarse a, eritrosa o treosa con la fórmula general  $C_4H_8O_4$ . Los compuestos de tetrosa (nomenclatura de hidratos de carbono), alternativamente, pueden denominarse compuestos de tetrahidrofuranilo (nomenclatura de la IUPAC), ya que comparten el heterociclo que contiene oxígeno de cinco eslabones.
- 15 Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, la expresión "carbono anomérico" se refiere al átomo de carbono que contiene el grupo funcional carbonilo de una molécula de azúcar, denominado también hidrato de carbono. Este átomo de carbono está involucrado en la formación de hemiacetal o hemicetal característica de la estructura de anillo de azúcar. Este carbono carbonilo se refiere al carbono anomérico porque es no quiral en la estructura lineal, y quiral en la estructura cíclica.
- 20 Como se emplea en esta memoria y a menos que se indique lo contrario, la expresión "protección selectiva" y "desprotección selectiva" se refiere a la introducción, respectivamente la extracción, de un grupo protector en un grupo funcional reactivo específico en una molécula que contiene varios grupos funcionales, que contienen respectivamente varios grupos funcionales protegidos, y que dejan el resto de la molécula inalterada. Muchas moléculas utilizadas en la presente invención contienen más de una funcionalidad reactiva. Por ejemplo los hidratos de carbono se caracterizan por más de un grupo funcional alcohol. A menudo es necesario manipular sólo uno (o algunos) de estos grupos en un momento sin interferir con los demás grupos funcionales. Esto sólo es posible seleccionando una variedad de grupos protectores, que pueden manipularse utilizando diferentes condiciones de reacción. La utilización de grupos protectores de tal manera que es posible modificar una funcionalidad independientemente de los demás grupos funcionales presentes en la molécula se conoce como "protección ortogonal". El desarrollo de estrategias de grupos protectores ortogonales hace que sea posible eliminar una serie de grupos protectores en cualquier orden con reactivos y condiciones, que no afectan a los grupos en otros conjuntos. Una estrategia de grupo protector eficiente puede ser crítica para llevar a cabo la síntesis de moléculas grandes y complejas que poseen una amplia gama de grupos funcionales reactivos. Esta reacción de protección puede ser quimioselectiva cuando la selectividad es debida a propiedades químicas, regioselectiva cuando es debida a la posición del grupo funcional dentro de la molécula. Una reacción o transformación pueden ser "estereoselectiva" de dos maneras, es decir, (1), por que sólo se produzca en un estereoisómero específico o en una estereo-orientación específica del grupo funcional, o (2), por que sólo se produzca en un estereoisómero específico. Una reacción de protección puede por lo tanto también ser estereoselectiva, por ejemplo, de manera que sólo dé lugar a la protección de un grupo funcional cuando esté en una determinada configuración.
- 30
- 35
- 40 Como se emplea en esta memoria, y a menos que se indique lo contrario, el símbolo serpenteado representa un enlace con orientación estereo específica, pero para el que ambas opciones son posibles, es decir, para cualquier disposición estereoquímica de dicho enlace.

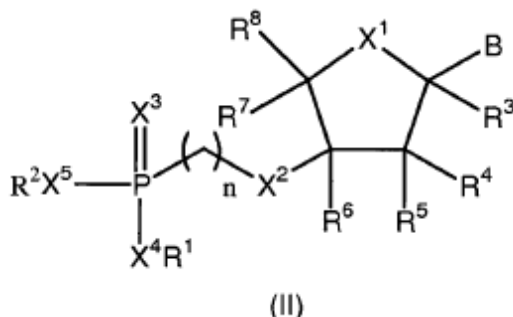
#### Descripción detallada de la invención



- 45 En su aceptación más general, la invención se refiere a una primera clase de compuestos incluida una base nucleotídica heterocíclica unida a un primer átomo de carbono de un grupo heterocíclico saturado de cinco eslabones opcionalmente sustituido seleccionado de entre tetrahidrofuranilo y tetrahidrotienilo e incluido además un grupo fosfonoalcoxi, tiosfosfonoalcoxi, fosfonotioalquil o tiosfosfonotioalquil unido a un segundo átomo de carbono de



dicho grupo heterocíclico saturado de cinco eslabones, estando dicho primer átomo de carbono al lado del heteroátomo de dicho grupo heterocíclico saturado de cinco eslabones, y no estando dicho segundo átomo de carbono al lado ni del heteroátomo ni del primer átomo de carbono de dicho grupo heterocíclico saturado de cinco eslabones. Esta primera clase de compuestos puede representarse por la fórmula general (II):



5

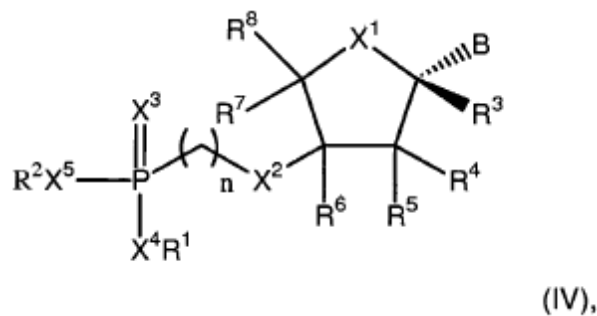
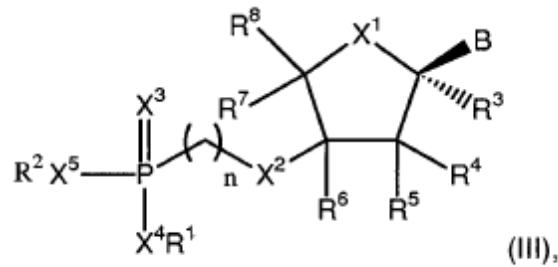
en donde:

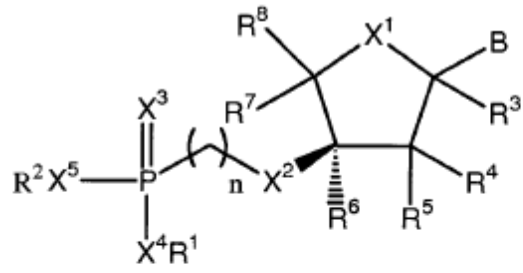
- $X^1$ ,  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$  y  $X^5$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en oxígeno y azufre,
- B es una base nucleotídica heterocíclica natural o sintética,
- $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno;  $(-PO_3R^{16})_m$ - $PO_3R^{17}R^{18}$ ; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; heterocíclico; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; aciloxialquenilo; aciloxialquinilo; aciloxiarilo; aciloxiarilalquilo; aciloxiarilalquenilo; aciloxi-arilalquinilo; dialquilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilalquenilcarbonato; alquilalquinilcarbonato; alquenilarilcarbonato; alquinilarilcarbonato; alquenilalquinilcarbonato; dialquenilcarbonato; dialquinilcarbonato; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente de entre el grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, azido, halógeno (preferiblemente fluro), ciano, alquilo, alquenilo, alquinilo,  $SR^{14}$  y  $OR^{14}$ ;
- $R^7$  y  $R^8$  son ambos hidrógeno;
- $R^{14}$  se selecciona de entre hidrógeno; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; heterocíclico; arilalquilo; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- $R^{16}$ ,  $R^{17}$  y  $R^{18}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo; alquenilo o; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; heterocíclico; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- $X^4$  y  $R^1$ , o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un resto de aminoácido o polipéptido en donde una función carboxilo de dicho resto de aminoácido que está en una distancia del nitrógeno del amidato no mayor de 5 átomos está esterificada;
- $X^4$  y  $R^1$  o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un grupo que tiene la fórmula  $-OC(R^9)_2OC(O)Y(R^{10})_a$  en donde  $Y = N$  u  $O$ ,  $a = 1$  cuando  $Y$  es  $O$  y  $a = 1$  o  $2$  cuando  $Y$  es  $N$ ;
- $R^9$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo o alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro y  $OR^{14}$ ;
- $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo y alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está

opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro,  $OR^{14}$  y  $NR^{11}R^{12}$ ;

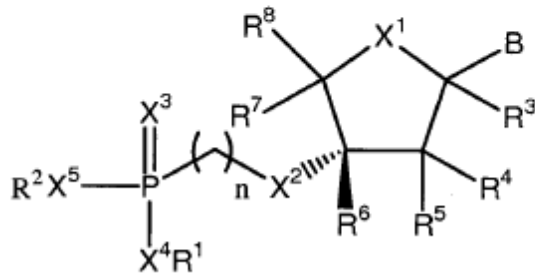
- $R^{11}$  y  $R^{12}$  se seleccionan cada uno independientemente de entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo, con tal que al menos uno de entre  $R^{11}$  y  $R^{12}$  no sea hidrógeno;
- 5
- n es un número entero que representa el número de grupos metileno entre  $X_2$  y P, estando opcional y independientemente sustituido cada uno de los grupos metileno con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, sulfhidrilo y alquilo  $C_{1-4}$ , y seleccionándose n de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y
  - m es 0 o 1,
- 10
- incluidos una de sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

Las realizaciones más específicas de la invención comprenden subclases de estereoisómeros representados por cualquiera de las siguientes fórmulas (III) a (XVIII):

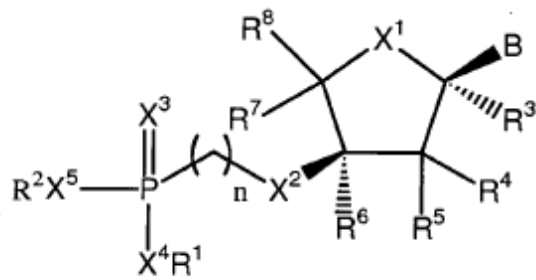




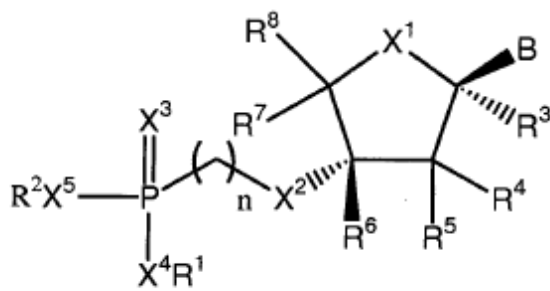
(V),



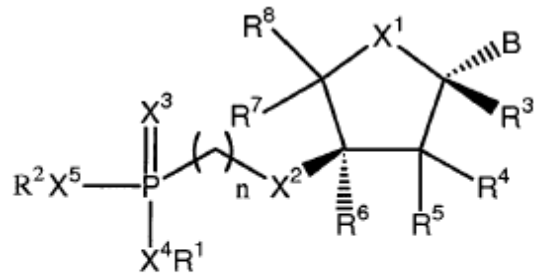
(VI),



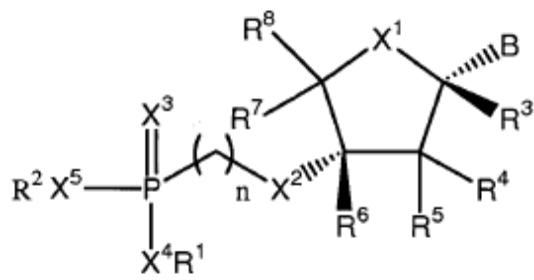
(VII),



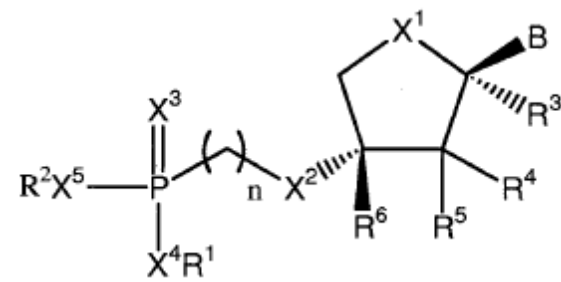
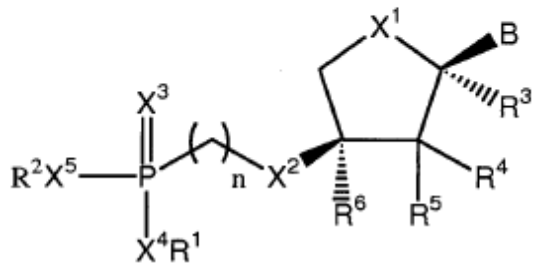
(VIII),

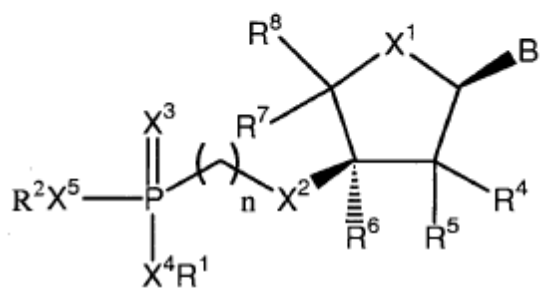
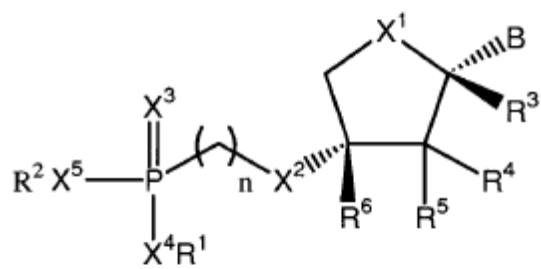
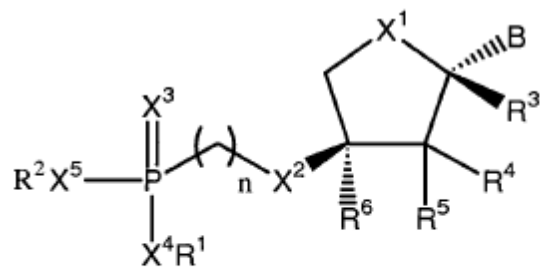


(IX),

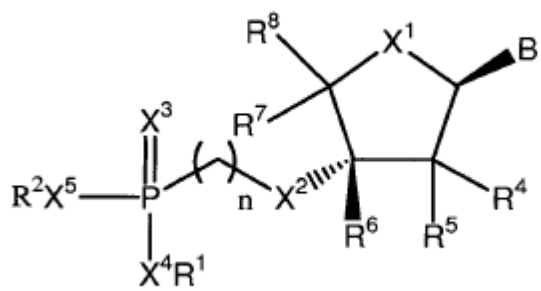


(X),

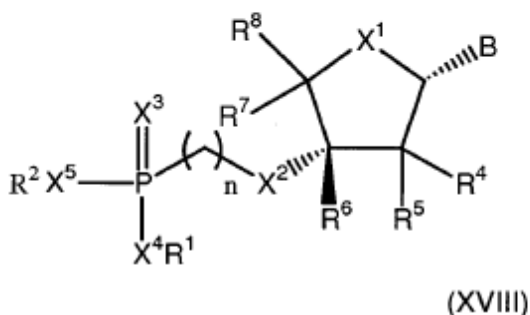
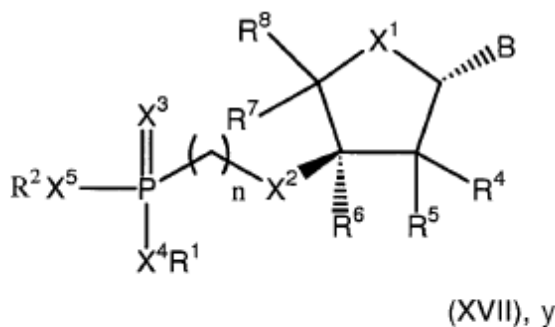




(XV),



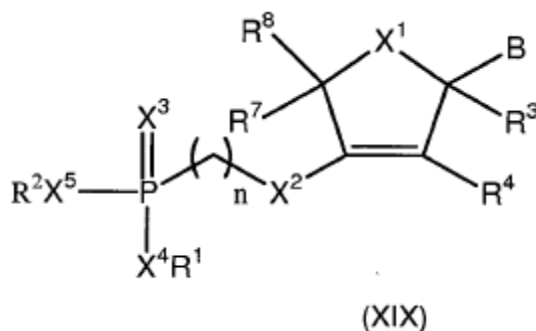
(XVI)



en donde n, m, B, X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup>, X<sup>5</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> se definen como en la fórmula (II), incluidos una de sus sales, solvatos, y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

5 En una realización específica, esta invención se refiere a compuestos representados por cualquiera de las fórmulas (II) a (XVIII), en donde R<sup>4</sup> es hidroxilo.

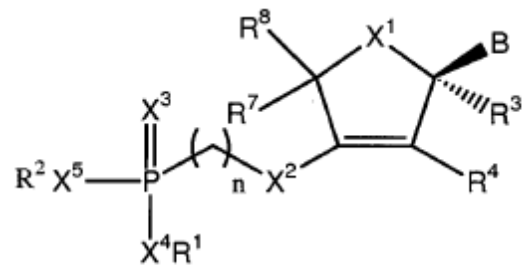
10 En su aceptación más general, la invención también se refiere a una segunda clase de compuestos incluida una base nucleotídica heterocíclica unida a un primer átomo de carbono de un grupo heterocíclico monoinsaturado de cinco eslabones opcionalmente sustituido seleccionado de entre dihidrofuranilo y dihidrotienilo y que incluye además un grupo fosfonoalcoxi, tiofosfonoalcoxi, fosfonotioalquilo o tiofosfonotioalquilo unido a un segundo átomo de carbono al lado del heteroátomo de dicho grupo heterocíclico monoinsaturado de cinco eslabones, y no estando dicho segundo átomo de carbono al lado del heteroátomo ni del primer átomo de carbono de dicho grupo heterocíclico monoinsaturado de cinco eslabones. Esta segunda clase de compuestos puede ser representada por la fórmula general (XIX):



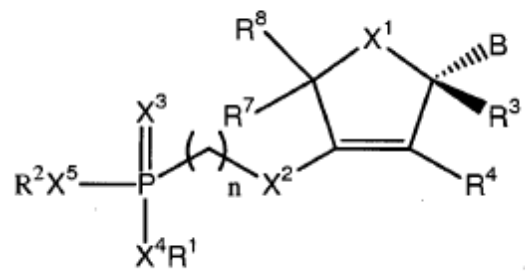
15 en donde:

- X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup> y X<sup>5</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en oxígeno y azufre,
- B es una base nucleotídica heterocíclica natural o sintética,
- R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; (-PO<sub>3</sub>R<sup>16</sup>)<sub>m</sub>-PO<sub>3</sub>R<sup>17</sup>R<sup>18</sup>; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; heterocíclico; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; aciloxialquenilo; aciloxialquinilo; aciloxiarilo;

- aciloxiarilalquilo; aciloxiarilalquenilo; aciloxi-arilalquinilo; dialquilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilalquenilcarbonato; alquilalquinilcarbonato; alquenilarilcarbonato; alquinilarilcarbonato; alquenilalquinilcarbonato; dialquenilcarbonato; dialquinilcarbonato; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente de entre el grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- 5
- $R^3$  y  $R^4$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, azido, halógeno (preferiblemente fluoro), ciano, alquilo, alquenilo, alquinilo,  $SR^{14}$  y  $OR^{14}$ ;
  - $R^7$  y  $R^8$  son ambos hidrógeno;
- 10
- $R^{14}$  se selecciona de entre hidrógeno; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; heterocíclico; arilalquilo; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- 15
- $R^{16}$ ,  $R^{17}$  y  $R^{18}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; anillo heterocíclico; alquil-anillo heterocíclico; aciloxialquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
- 20
- $X^4$  y  $R^1$ , o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un resto de aminoácido o polipéptido en donde una función carboxilo del resto de aminoácido que está a una distancia del nitrógeno del amidato de no más de 5 átomos está esterificada;
  - $X^4$  y  $R^1$  o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un grupo de fórmula  $-OC(R^9)_2OC(O)Y(R^{10})_a$  en donde  $Y = N$  u  $O$ ,  $a = 1$  cuando  $Y$  es  $O$  y  $a = 1$  o  $2$  cuando  $Y$  es  $N$ ;
- 25
- $R^9$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo o alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro y  $OR^{14}$ ;
- 30
- $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo y alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro,  $OR^{14}$  y  $NR^{11}R^{12}$ ;
  - $R^{11}$  y  $R^{12}$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo; con tal que al menos uno de entre  $R^{11}$  y  $R^{12}$  no sea hidrógeno;
- 35
- $n$  es un número entero que representa el número de grupos metileno entre  $X_2$  y  $P$ , estando cada uno de los grupos metileno opcionalmente e independientemente sustituido por uno o dos sustituyentes seleccionados de entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, sulfhidrilo y alquilo  $C_{1-4}$ , y seleccionándose  $n$  de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y
  - $m$  es 0 o 1,
- incluidos una de las sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 40 Las realizaciones más específicas de la invención comprenden subclases de compuestos que son estereoisómeros representados por cualquiera de las siguientes fórmulas (XX) a (XXVI):

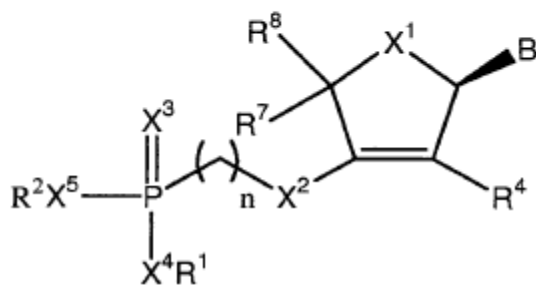
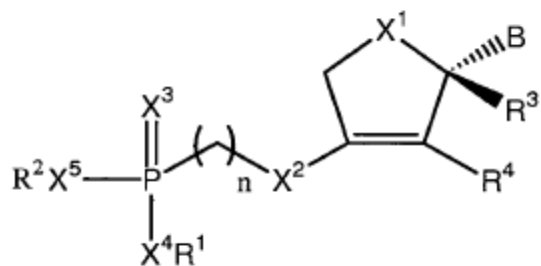
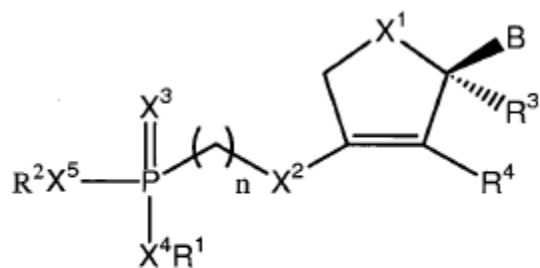


(XX),

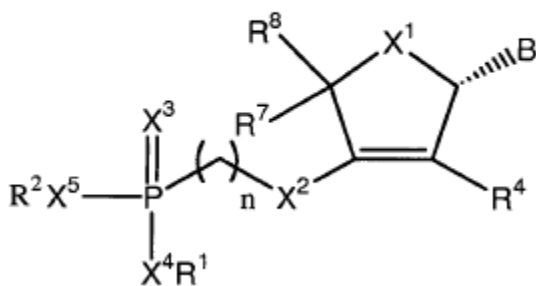


(XXI),

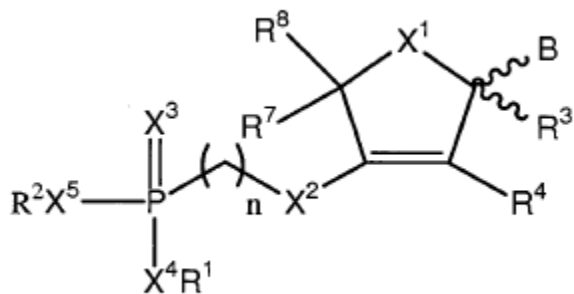




(XXIV),



(XXV), y



(XXVI)

en donde n, m, B, X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup>, X<sup>5</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> se definen como en la fórmula (XIX), y en donde el símbolo serpenteado representa cualquier disposición estereoquímica del enlace respectivo, incluidas una de las sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

5 En una realización específica, esta invención se refiere a compuestos representados por cualquiera de las fórmulas (XIX) a (XXVI), en donde R<sup>4</sup> es hidroxilo.

Debe entenderse que en las realizaciones anteriores de la invención, los nuevos compuestos son como se define en cualquiera de las fórmulas generales (I) a (XXVI), en donde:

- 10 - cada uno de los sustituyentes B, X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup>, X<sup>5</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> puede corresponder independientemente a cualquiera de las definiciones dadas anteriormente, en particular con cualquiera de los intervalos preferidos o cada uno de los significados (tal como se ha ilustrado anteriormente) de los términos genéricos utilizados para la sustitución de radicales tales como, pero sin limitarse a, "alquilo", "cicloalquilo", "alqueno", "alquino", "arilo", "heterocíclico", "halógeno", "cicloalqueno", "alquilarilo", "arilalquilo", "alcoxi", "cicloalcoxi", "tioalquilo", "tiocicloalquilo", "aminoácido" y similares,
- 15 - cada uno de los números enteros m y n puede corresponder independientemente a cualquiera de cada uno de los valores dados anteriormente.

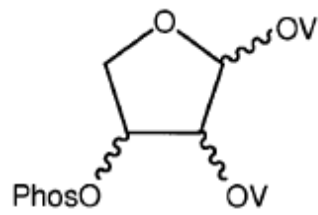
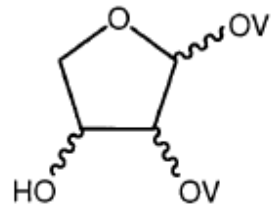
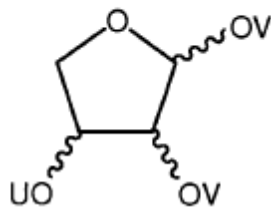
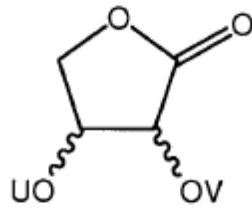
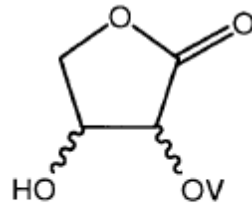
20 En cada una de las fórmulas (I) a (XXVI), la cadena de alqueno entre X<sup>2</sup> y el átomo de fósforo P es preferiblemente una cadena corta, es decir, n es preferiblemente 1 o 2. Esta cadena de alqueno también puede incluir uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, sulfhidrilo y metilo, por ejemplo, puede ser cualquiera de entre -CYY'-, -CHY-, -CYY'-CY''Y'''- o -CHY'-CY''Y'''-, seleccionándose preferiblemente cada uno de entre Y, Y', Y'' e Y''' independientemente de entre el grupo que consiste en fluoro, cloro, hidroxilo, sulfhidrilo y metilo.

Debe entenderse que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se refiere a las definiciones de profármacos de fosfonato tales como los descritos por ejemplo en las patentes de EE.UU. n° 6.225.460 y n° 5.977.089.

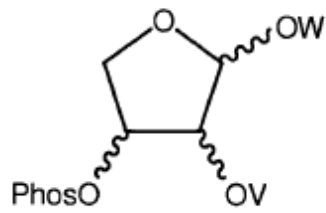
25 Las realizaciones específicas de bases B adecuadas para su inclusión en los compuestos de la presente invención comprenden, pero no se limitan a, hipoxantina, guanina, adenina, citosina, timina, uracilo, xantina, derivados 8-aza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 7-desaza-8-aza de adenina, guanina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 1-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 7-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 3-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; 6-azacitosina; 5-fluorocitosina; 30 5-clorocitosina; 5-yodocitosina; 5-bromocitosina; 5-metilcitosina; 5-bromoviniluracilo; 5-fluorouracilo; 5-clorouracilo; 5-yodouracilo; 5-bromouracilo; 5-trifluorometiluracilo; 5-metoximetiluracilo; 5-etiniluracilo y 5-propiniluracilo. Preferiblemente, B es un resto 9-purinilo seleccionado de entre guanilo, 3-desazaguanilo, 1-desazaguanilo, 8-azaguanilo, 7-desazaguanilo, adenilo, 3-desazaadenilo, 1-dezazadenilo, 8-azaadenilo, 7-desazaadenilo, 2,6-diaminopurinilo, 2-aminopurinilo, 6-cloro-2-aminopurinilo y 6-tio-2-aminopurinilo.

35 Una realización específica de la presente invención proporciona los fosfonato nucleósidos sustituidos que tienen cualquiera de las fórmulas (I) a (XXVI) en donde B se selecciona de entre adenina y timina. Otra realización específica de la presente invención proporciona nuevos treosa nucleósidos sustituidos en 3'-fosfonato, más específicamente -treosa nucleósidos sustituidos en 3'-fosfonalcoxi. En otra realización específica de la presente invención, el sustituyente 3'-fosfonalcoxi o las bases púricas o pirimidínicas acopladas al anillo de los compuestos de la invención están en la configuración R o S.

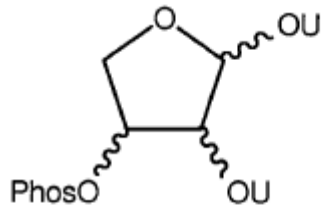
40 La presente invención también se refiere a determinados nuevos compuestos intermedios que se preparan y se utilizan durante el transcurso de la preparación de uno o más de los fosfonato nucleósidos sustituidos que tienen cualquiera de las fórmulas (I) a (XXVI). Dichos nuevos compuestos intermedios pueden representarse por las siguientes fórmulas generales (XXXI) a (XXXVI):



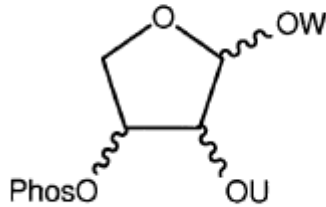
(XXXI),



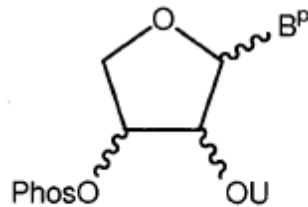
(XXXII),



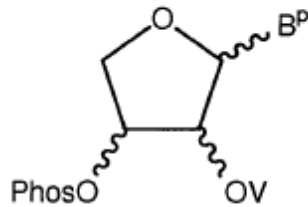
(XXXIII),



(XXXIV),



(XXXV), y



(XXXVI),

en donde:

- U es un grupo acilo,
- 5 - V es un grupo sililo,
- W es un grupo alquilo,
- B<sup>P</sup> es una base nucleotídica heterocíclica opcionalmente protegida, en donde el grupo protector puede ser acilo, sililo o éter bencílico, y
- Phos es un grupo fosfonoalcoxi o tiofosfonoalcoxi protegido con O o un grupo fosfonotioalquilo o tiofosfonotioalquilo protegido con S, en donde el grupo protector es el adecuado para la protección de los grupos hidroxilo de un ácido fosfónico o tiofosfónico.

10

La presente invención se refiere en una realización específica a nuevos compuestos y productos intermedios seleccionados del grupo que consiste en:

- 1-(N<sup>6</sup>-benzoiladenin-9-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**11**),
- 15 - 1-(timin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**12**),
- 1-(uracil-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**13**),

- 1-(N<sup>4</sup>-acetilcitosin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**14**),
- 1-(adenin-9-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa, también denominado (2R,3R,4S)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)-furanil]adenina (**15**),
- 5 - 1-(timin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa, también denominado (2R,3R,4S)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)furanil]timina (**16**),
- 1-(uracil-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa, también denominado (2R,3R,4S)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)furanil]uracilo (**17**),
- 1-(citosin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa, también denominado (2R,3R,4S)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)furanil]citosina (**18**),
- 10 - 1-(adenin-9-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa, también denominado (2R,4R)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)-furanil]adenina (**19**),
- 1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa, también denominado (2R,4R)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)-furanil]timina (**20**),
- 15 - 1-(uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa, también denominado (2R,4R)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)-furanil]uracilo (**21**),
- 1-(citosin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa, también denominado (2R,4R)-N<sup>1</sup>-[tetrahidro-4-(di-O-isopropilfosfonometoxi)-furanil]citosina (**22**),
- sal sódica de 1-(adenin-9-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,3R,4S)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(fosfonometoxi)-furanil]adenina (**3a**),
- 20 - sal sódica de 1- timin-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,3R,4S)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(fosfonometoxi)-furanil]timina (**3b**),
- sal sódica de 1-(uracil-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,3R,4S)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(fosfonometoxi)-furanil]uracilo (**3c**),
- 25 - sal sódica de 1-(citosin-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,3R,4S)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-3-hidroxi-4-(fosfonometoxi)-furanil]citosina (**3d**),
- sal sódica de 1-(adenin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,4R)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-4-(fosfonometoxi)furanil]adenina (**3e**),
- sal sódica de 1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,4R)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-4-(fosfonometoxi)furanil]timina (**3f**),
- 30 - sal sódica de 1-(uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,4R)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-4-(fosfonometoxi)furanil]uracilo (**3g**),
- sal sódica de 1-(cytidin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa, también denominada sal sódica de (2R,4R)-N<sup>9</sup>-[tetrahidro-4-(fosfonometoxi)furanil]citosina (**3h**).

35 Según un segundo aspecto, la invención se refiere a la utilización de nucleósidos sustituidos con fosfonato de las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) en el tratamiento o prevención de una infección vírica en un mamífero, más específicamente contra el VIH. La invención también se refiere a la utilización de nucleósidos sustituidos con fosfonato de las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) para la preparación de un medicamento o como un ingrediente farmacéuticamente activo, especialmente como un inhibidor de la replicación del virus, preferiblemente un inhibidor de la replicación de retrovirus, por ejemplo, para la

40 preparación de un medicamento o composición farmacéutica que tiene actividad antivírica para la prevención y/o el tratamiento de infecciones víricas, preferiblemente retrovíricas, en seres humanos y mamíferos, preferiblemente en mezcla con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 Los inventores describen además en la presente memoria métodos para la preparación de compuestos de fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI). El procedimiento para preparar los nucleósidos sustituidos con fosfonoalcoxi de la presente invención comprende las etapas de proteger selectivamente las funciones hidroxil presentes en el anillo de cinco eslabones que no pueden reaccionar en la etapa siguiente, haciendo reaccionar el hidroxil libre restante del anillo de cinco eslabones protegido con fosfonilalquil protegido, seguido de reacción con una base pirimidínica o púrica, desprotección de los grupos protectores del anillo de cinco eslabones y los posibles grupos protectores de la base púrica o pirimidínica, si es necesario una etapa de

desoxigenación de las funciones hidroxilo presente en el anillo de cinco eslabones y por último una desprotección de los grupos protectores fosfonato.

5 La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención según cualquiera de las fórmulas anteriores (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) como un principio activo mezclado con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, estando el principio activo en una concentración de al menos aproximadamente 0,1%, preferiblemente al menos 1%, más preferiblemente al menos 3%, más preferiblemente al menos 5% en peso de la composición. Preferiblemente, el principio activo está en una concentración de como máximo aproximadamente 50%, más preferiblemente como máximo 30%, más preferiblemente como máximo 20% en peso de la composición.

10 La invención se refiere además a una composición farmacéutica que comprende:

(a) uno o más compuestos que tienen cualquiera de las fórmulas generales (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI), y

(b) uno u otros agentes antivíricos más, preferiblemente uno o más inhibidores enzimáticos retrovíricos

15 como agentes biológicamente activos, mezclados con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, estando (a) y (b) preferiblemente en proporciones respectivas, tales como para proporcionar un efecto sinérgico contra una infección vírica (preferiblemente una infección lentivírica y más preferiblemente una infección retrovírica) en un mamífero. Esta composición, por ejemplo, puede estar en la forma de un preparado combinado para uso simultáneo o sucesivo en terapia para la infección vírica, preferiblemente retrovírica.

20 En el marco de esta realización de la invención, los inhibidores enzimáticos retrovíricos que pueden utilizarse como ingredientes terapéuticamente activos (b) para administración conjunta comprenden, entre otros, los siguientes:

- Inhibidores de la integrasa del VIH-1 tales como los reseñados por ejemplo en el documento WO 02/051419,
- inhibidores de transcriptasa inversa tales como, pero sin limitarse a, delavirdina, didesoxiadenosina, foscarnet sódico, estavudina, suramina sódica, zalcitabina y similares,
- 25 - inhibidores nucleosídicos de la transcriptasa inversa, tales como, pero sin limitarse a, por ejemplo azidotimidina, zidovudina, lamivudina, didanosina, abacavir, adefovir y similares,
- inhibidores nucleotídicos de la transcriptasa inversa, tales como, pero sin limitarse a, por ejemplo tenofovir,
- inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa tales como, pero sin limitarse a, nevirapina, efavirenz y similares,
- 30 - inhibidores de la proteasa del VIH-1, tales como, pero sin limitarse a, saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir y similares, e
- inhibidores de fusión del VIH tal como enfuvirtida, e inhibidores de fusión de la membrana del VIH tales como los descritos en las patentes de EE.UU. nº 6.818.710 y nº 6.841.657.

35 Otros agentes antivíricos adecuados para su inclusión en las composiciones antivíricas enzima o los preparados combinados incluyen, por ejemplo, aciclovir, cidofovir, citarabina, edoxudina, famciclovir, floxuridina, ganciclovir, idoxuridina, penciclovir, sorivudina, trifluridina, valaciclovir, vidarabina, ketoxal, metisazona, moroxidina, podofilotoxina, ribavirina, rimantadina, estalimicina, estatolón, tromantadina y ácido xenazoico.

40 La invención también se refiere a compuestos según cualquiera de las fórmulas generales (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) que se utiliza para inhibir la proliferación de otros virus aparte del VIH, preferiblemente el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C, el virus del papiloma humano o los flavivirus, en particular, el virus de la fiebre amarilla o el virus del Dengue.

Los compuestos de la invención se emplean para el tratamiento o profilaxis de infecciones víricas, más concretamente infecciones por el VIH. Cuando se utiliza uno o más compuestos según cualquiera de las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) como se define en la presente memoria:

- 45 - los principios activos del compuesto o compuestos se pueden administrar al mamífero (incluyendo un ser humano) para ser tratado por cualquier medio bien conocido en la técnica, es decir, por vía oral, intranasal, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intravenosa, intraarterial, parenteral o por cateterismo.
- la cantidad terapéuticamente eficaz de la preparación del compuesto o compuestos, especialmente para el tratamiento de infecciones víricas en seres humanos y otros mamíferos, preferentemente es una cantidad inhibidora de la enzima retrovírica. Más preferiblemente, es una cantidad inhibidora de replicación retrovírica o una cantidad inhibidora de la enzima retrovírica de los compuestos de fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a
- 50

(XXVI) y (XXXI) a (XXXVI) como se define en la presente memoria. Dependiendo del proceso patológico a tratar y del estado del paciente, dicha cantidad eficaz puede dividirse en varias subunidades al día o puede administrarse a intervalos de más de un día.

- 5 La cantidad terapéuticamente eficaz de la preparación del compuesto o compuestos, especialmente para el tratamiento de infecciones víricas en seres humanos y otros mamíferos, preferiblemente es la cantidad inhibidora de proteína/enzima de VIH. Más preferiblemente, es una cantidad inhibidora de la replicación del VIH o una cantidad inhibidora de la enzima del VIH del derivado o derivados de las fórmulas definidas en la presente memoria. Dependiendo del proceso patológico a tratar y del estado del paciente, la cantidad eficaz puede dividirse en varias subunidades al día o puede administrarse a intervalos de más de un día.
- 10 Como es habitual en la técnica, la evaluación de un efecto sinérgico en una combinación de fármacos puede hacerse analizando la cuantificación de las interacciones entre cada uno de los fármacos, utilizando el principio del efecto de la mediana descrito por Chou *et al.* en *Adv. Enzyme Reg.* (1984) 22:27. En pocas palabras, este principio establece que las interacciones (sinergismo, aditividad, antagonismo) entre dos fármacos se pueden cuantificar utilizando el índice de combinación (en adelante denominado CI) definido por la ecuación siguiente:

$$CI_x = \frac{ED_x^{1c}}{ED_x^{1a}} + \frac{ED_x^{2c}}{ED_x^{2a}}$$

- 15 en donde  $ED_x$  es la dosis del primer o segundo fármaco respectivamente utilizado solo (1a, 2a), o en combinación con el segundo o primer fármaco respectivamente (1c, 2c), que es necesaria para producir un efecto dado. Dichos primer y segundo fármaco tienen efectos sinérgicos, aditivos o antagónicos dependiendo de  $CI < 1$ ,  $CI = 1$  o  $CI > 1$ , respectivamente.

- 20 La actividad sinérgica de las composiciones farmacéuticas o de los preparados combinados de esta invención contra la infección vírica también puede determinarse fácilmente por medio de una o más pruebas tales como, pero sin limitarse a, el método del isoblograma, tal como ha sido descrito anteriormente por Elion *et al.* en *J. Biol. Chem.* (1954) 208:477-488 y por Baba *et al.* en *Antimicrob. Agents Chemother.* (1984) 25:515-517, utilizando  $CE_{50}$  para calcular la concentración inhibidora fraccionada (en lo sucesivo denominada FIC). Cuando el índice de FIC mínimo correspondiente a la FIC de compuestos combinados (p. ej.,  $FIC_x + FIC_y$ ) es igual a 1,0, se dice que la combinación es aditiva; cuando está comprendida entre 1,0 y 0,5, la combinación se define como subsinérgica, y cuando es inferior a 0,5, la combinación se define como sinérgica. Cuando el índice de FIC mínimo está comprendido entre 1,0 y 2,0, la combinación se define como subantagonista y, cuando es superior a 2,0, la combinación se define como antagonista.
- 30 Este principio puede aplicarse a una combinación de diferentes fármacos antivíricos de la invención o a una combinación de los fármacos antivíricos de la invención con otros fármacos que presentan actividad anti-VIH.

La invención se refiere por lo tanto a una composición farmacéutica o a un preparado combinado que tiene efectos sinérgicos contra una infección vírica y que contiene:

- (a) una combinación de dos o más fosfonato nucleósidos de la presente invención, y
- 35 (b) opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticos o vehículos farmacéuticamente aceptables, para uso simultáneo, por separado o sucesivo en el tratamiento o prevención de una infección vírica, o
- (c) uno o más agentes antivíricos, y
- (d) al menos uno de los fosfonato nucleósidos de la presente invención, y
- (e) opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticos o vehículos farmacéuticamente aceptables,
- 40 para uso simultáneo, por separado o sucesivo en el tratamiento o prevención de una infección vírica.

Agentes antivíricos adecuados para su inclusión en las composiciones antivíricas sinérgicas o en los preparados combinados de esta invención comprenden prácticamente todos los compuestos anti-VIH conocidos en este momento, tales como inhibidores nucleosídicos y no nucleosídicos de transcriptasa inversa, inhibidores de proteasa e inhibidores de integrasa.

- 45 La composición farmacéutica o preparado combinado con actividad sinérgica contra la infección vírica según esta invención pueden contener los fosfonato nucleósidos de la presente invención, los compuestos según cualquiera de

las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI), en una amplia gama de contenido en función de la utilización contemplada y del efecto esperado del preparado.

Según una realización concreta de la invención, los compuestos de la invención se pueden emplear en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento o profilaxis de infecciones por el VIH. Por consiguiente, la invención se refiere a la utilización de una composición que comprende:

(a) uno o más compuestos representados por cualquiera de las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI), y

(b) uno o más inhibidores de VIH/proteína-enzima como agentes biológicamente activos en proporciones respectivas tales como para proporcionar un efecto sinérgico contra una infección vírica, concretamente una infección por VIH en un mamífero, por ejemplo, en forma de un preparado combinado para utilización simultánea, por separado o sucesiva en el tratamiento de la infección vírica, tal como del VIH.

Cuando se utiliza un preparado combinado de (a) y (b):

- los principios activos (a) y (b) pueden administrarse al mamífero (incluyendo un ser humano) a tratar por cualquier medio bien conocido en la técnica, es decir, por vía oral, intranasal, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intravenosa, intraarterial, parenteral o por cateterismo.

- la cantidad terapéuticamente eficaz del preparado combinado de (a) y (b), especialmente para el tratamiento de infecciones víricas en seres humanos y otros mamíferos, particularmente es una cantidad inhibidora enzimática del VIH. Más específicamente, es una cantidad inhibidora de la replicación del VIH del derivado (a) y una cantidad inhibidora enzimática del VIH del inhibidor (b). Aún más específicamente cuando dicho inhibidor enzimático de VIH (b) es un inhibidor de la transcriptasa inversa, su cantidad eficaz es una cantidad inhibidora de la transcriptasa inversa. Cuando dicho inhibidor enzimático de VIH (b) es un inhibidor de la proteasa, su cantidad eficaz es una cantidad inhibidora de la proteasa.

- los ingredientes (a) y (b) pueden administrarse simultáneamente pero también presenta ventajas administrarlos por separado o sucesivamente, por ejemplo dentro de un período relativamente corto de tiempo (por ejemplo, dentro de aproximadamente 24 horas) a fin de conseguir su fusión funcional en el cuerpo que va a ser tratado.

La invención se refiere también a los compuestos de la invención, compuestos según cualquiera de las fórmulas (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXXVI), que pueden ser seleccionados para la inhibición de la proliferación de otros virus aparte del VIH, particularmente para la inhibición de otros retrovirus y lentivirus y también para la inhibición de flavivirus o picornavirus tales como VDVB, VHC, VHB o virus Cocksackie, con, en particular, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Dengue, el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis G, el virus de la peste porcina clásica o el Virus de la enfermedad de la frontera. En cuanto a los demás virus pueden inhibirse, tales como VHS, CMV y Sars-virus.

La presente invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un principio activo como se ha definido anteriormente junto con un vehículo veterinario, por lo tanto. Los vehículos veterinarios son materiales útiles para la administración de la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que son de otro modo inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el principio activo. Estas composiciones veterinarias se pueden administrar por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

Los expertos en la técnica también reconocerán que los compuestos de la invención pueden existir en muchos estados de protonación diferentes, dependiendo de, entre otras cosas, el pH de su entorno. Aunque las fórmulas estructurales proporcionadas en este documento representan los compuestos en sólo uno de varios estados de protonación posibles, debe entenderse que estas estructuras son sólo ilustrativas, y que la invención no se limita a ningún estado de protonación en particular, cualquiera y todas las formas protonadas de los compuestos está previsto que caigan dentro del alcance de la invención.

La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" tal como se utiliza en la presente memoria significa las formas salinas atóxicas terapéuticamente activas que son capaces de formar los compuestos según las fórmulas de la solicitud como (I), (II), (III). Por lo tanto, los compuestos de esta invención comprenden opcionalmente sales de los compuestos en la presente memoria, sales atóxicas especialmente farmacéuticamente aceptables que contienen, por ejemplo, Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup>. Dichas sales pueden incluir las derivadas por combinación de cationes apropiados tales como iones de metales alcalinos y alcalinotérreos o iones de amonio y amino cuaternario con un resto de anión de ácido, normalmente un ácido carboxílico. Los compuestos de la invención pueden llevar varias cargas positivas o negativas. La carga neta de los compuestos de la invención puede ser positiva o negativa. Algunos contraiones asociados suelen ser impuestos por los métodos de síntesis y/o aislamiento por los que se obtienen los compuestos. Los contraiones típicos comprenden, pero no se limitan a amonio, sodio, potasio, litio, haluros, acetato, trifluoroacetato, etc., y sus mezclas. Debe entenderse que la identidad de cualquier contraión asociado no es una característica crítica de la invención, y que la invención abarca los compuestos en asociación con cualquier tipo de contraión. Por otra parte, como los compuestos pueden existir en una variedad de diferentes



formas, la invención pretende abarcar no sólo las formas de los compuestos que están en asociación con contraiones (p. ej., sales anhidras), sino también formas que no están en asociación con contraiones (p. ej., soluciones acuosas u orgánicas). Las sales metálicas se suelen preparar haciendo reaccionar el hidróxido metálico con un compuesto de esta invención. Ejemplos de sales metálicas que se preparan de esta manera son sales que contienen  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . Una sal metálica menos soluble puede precipitarse de la solución de una sal más soluble mediante la adición del compuesto metálico adecuado. Además, pueden formarse sales a partir de adición de ácido de determinados ácidos orgánicos e inorgánicos a centros básicos, normalmente aminas, o a grupos ácidos. Ejemplos de tales ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, p. ej. ácido clorhídrico o bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, acético, propanoico, hidroxiacético, 2-hidroxiopropanoico, 2-oxopropanoico, láctico, pirúvico, oxálico (es decir etanodioico), malónico, succínico (es decir ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metansulfónico, etansulfónico, bencensulfónico, p-toluensulfónico, ciclohexansulfámico, salicílico (es decir 2-hidroxibenzoico), p-aminosalicílico y similares. Además, esta expresión también incluye los solvatos cuyos compuestos según las fórmulas de la solicitud como (I), (II), (III), así como sus sales son capaces de formar, tal como, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares. Or último, debe entenderse que las composiciones en la presente memoria comprenden compuestos de la invención en su forma no ionizada, así como iónica dipolar, y combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en hidratos.

También están incluidas dentro del alcance de esta invención las sales de los compuestos parentales con uno o más aminoácidos, especialmente los aminoácidos de origen natural detectados como componentes de las proteínas. El aminoácido suele ser el que lleva una cadena lateral con un grupo básico o ácido, p. ej., lisina, arginina o ácido glutámico, o un grupo neutro tal como glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina o leucina.

Los compuestos de la invención también comprenden sus sales fisiológicamente aceptables. Ejemplos de sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de la invención comprenden sales derivadas de una base apropiada, tal como un metal alcalino (por ejemplo, sodio), un metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio), amonio y  $\text{NX}_4^+$  (en donde X es alquilo). Las sales fisiológicamente aceptables de un átomo de hidrógeno o de un grupo amino comprenden sales de ácidos carboxílicos orgánicos tales como de los ácidos acético, benzoico, láctico, fumárico, tartárico, maleico, malónico, málico, isetiónico, lactobiónico y succínico; ácidos sulfónicos orgánicos, tales como de ácidos metansulfónico, etansulfónico, bencensulfónico y p-toluensulfónico; y ácidos inorgánicos, tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico. Las sales fisiológicamente aceptables de un compuesto que contiene un grupo hidroxilo comprenden el anión de dicho compuesto en combinación con un catión adecuado tal como  $\text{Na}^+$  y  $\text{NX}_4^+$  (en donde X normalmente se selecciona independientemente de H o un grupo alquilo). Sin embargo, también pueden utilizarse las sales de ácidos o bases que no son fisiológicamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto fisiológicamente aceptable. Todas las sales, procedan o no de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están comprendidas dentro del alcance de la presente invención.

El término "estereoisómeros", como se utiliza en la presente memoria significa todas las formas estereoquímicas posibles, que los compuestos según las fórmulas (I) a (XXXVI) pueden poseer. Por lo general, las estructuras mostradas en la presente memoria ejemplifican sólo una forma tautómera o de resonancia de los compuestos, pero también se contemplan las correspondientes configuraciones alternativas. A menos que se indique lo contrario, la designación química de los compuestos indica la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, conteniendo dichas mezclas todos los diastereómeros y enantiómeros (ya que los compuestos según las fórmulas anteriores tienen al menos un centro quiral) de la estructura molecular básica, así como los compuestos estereoquímicamente puros o enriquecidos. Más particularmente, los centros estereógenos pueden tener la configuración R o S, y los enlaces múltiples pueden tener configuración cis- o trans-.

Las formas isómeras puras de dichos compuestos se definen como isómeros sustancialmente libres de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica. En particular, la expresión "estereoisoméricamente pura" o "quiralmente pura" se refiere a compuestos que tienen un exceso estereoisomérico de al menos aproximadamente 80% (es decir al menos 90% de un isómero y como máximo 10% de los otros isómeros posibles), preferiblemente a menos 90%, más preferiblemente al menos 94% y más preferiblemente al menos 97%. Las expresiones "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" deben entenderse de una manera similar, teniendo en cuenta el exceso enantiomérico, el exceso diastereomérico respectivamente, de la mezcla en cuestión.

La separación de estereoisómeros se lleva a cabo por métodos normalizados conocidos por los expertos en la técnica. Un enantiómero de un compuesto de la invención se puede separar sustancialmente exento de su enantiómero opuestos por un método tal como la formación de diastereómeros utilizando agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds" (1962) por E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C. H. (1975) *J. Chromatogr.*, 113:(3) 283-302). La separación de isómeros en una mezcla puede realizarse por cualquier método adecuado, incluidos: (1) formación de sales iónicas, diastereoméricas con compuestos quirales y separación por cristalización fraccionada, u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos modificadores quirales, separación de los diastereómeros y conversión a los enantiómeros puros, o (3) los enantiómeros pueden separarse directamente en condiciones quirales. En el método (1), pueden formarse sales diastereoméricas por reacción de bases quirales enantioméricamente puras tales como brucina, quinina, efedrina,

estricnina, *a*-metil-*b*-feniletilamina (anfetamina), y similares con compuestos asimétricos que llevan el grupo funcional ácido, tal como ácido carboxílico y ácido sulfónico. Las sales diastereoméricas pueden inducirse para separar por cristalización fraccionada o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de los compuestos amino, adición de ácidos carboxílicos o sulfónicos quirales, tales como ácido alcanforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico o ácido láctico puede producir la formación de las sales diastereoméricas. Alternativamente, por el método (2), el sustrato a resolver puede hacerse reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diastereomérico (Eliel, E. y Wilen, S. (1994) *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., pág. 322). Se pueden formar compuestos diastereómeros haciendo reaccionar compuestos asimétricos con reactivos modificadores quirales enantioméricamente puros, tales como derivados de mentilo, seguido de separación de los diastereómeros e hidrólisis para dar los compuestos libres, enantioméricamente enriquecidos de la invención. Un método para determinar la pureza óptica conlleva la preparación de ésteres quirales, tales como un éster de mentilo o éster de Mosher, acetato de *a*-metoxi-*a*-(trifluorometil)fenil (Jacob III (1982) *J. Org. Chem.* 47:4165), de la mezcla racémica, y analizar en el espectro de RMN la presencia de los dos diastereómeros atropisoméricos. Pueden separarse y aislarse diastereómeros estables por cromatografía en fase normal e inversa siguiendo métodos para la separación de naftil-isoquinolinas atropisoméricas (p. ej., véase el documento WO96/15111). En el método (3), una mezcla racémica de dos enantiómeros asimétricos se separa por cromatografía usando una fase estacionaria quiral. Fases estacionarias quirales adecuadas son, por ejemplo, polisacáridos, en especial derivados de celulosa o amilosa. Fases estacionarias quirales a base de polisacárido disponibles en el mercado son ChiralCel™ CA, OA, OB5, OC5, OD, OF, OG, OJ y OK, y Chiralpak™ AD, AS, OP(+) y OT(+). Eluyentes apropiados o fases móviles para su uso en combinación con dichas fases estacionarias quirales de polisacáridos son el hexano y similares, modificados con un alcohol tal como etanol, isopropanol y similares. ("Chiral Liquid Chromatography" (1989) W. J. Lough, Ed. Chapman and Hall, Nueva York; Okamoto, (1990) "Optical resolution of dihydropyridine enantiomers by High-performance liquid chromatography using phenylcarbamates of polysaccharides as a chiral stationary phase", *J. of Chromatogr.* 513:375-378).

Los términos *cis* y *trans* se utilizan en la presente memoria de conformidad con la nomenclatura del *Chemical Abstracts* e hacen referencia a la posición de los sustituyentes en un resto de anillo. La configuración estereoquímica absoluta de los compuestos según las fórmulas anteriores (I) a (XXXVI) puede ser determinada fácilmente por los expertos en la técnica, utilizando métodos bien conocidos tales como, por ejemplo, difracción de rayos X o RMN.

Los compuestos de la invención pueden formularse con vehículos y excipientes convencionales, que se seleccionarán según la práctica ordinaria. Los comprimidos contendrán excipientes, fluidificantes, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril, y cuando se destinen a administración por otra vía aparte de la oral serán generalmente isotónicas. Las formulaciones contienen opcionalmente excipientes tales como los indicados en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986) e incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, carbohidratos tales como dextrina, hidroxialquicelulosa, hidroxialquimetilcelulosa, ácido esteárico y similares.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden prepararse y utilizarse adecuadamente en la forma de concentrados, emulsiones, soluciones, granulados, polvos, pulverizaciones, aerosoles, suspensiones, pomadas, cremas, comprimidos, gránulos o polvos.

Los excipientes farmacéuticos adecuados para su utilización en dichas composiciones farmacéuticas y su formulación son bien conocidos para los expertos en la técnica, y no hay ninguna restricción particular para su selección en la presente invención. También pueden incluir aditivos tales como agentes humectantes, agentes dispersantes, pegatinas, adhesivos, agentes emulsionantes, disolventes, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos (por ejemplo fenol, ácido sórbico, clorobutanol), agentes isotónicos (tales como azúcares o cloruro de sodio) y similares, siempre que la misma sean coherentes con la práctica farmacéutica, es decir, vehículos y aditivos que no creen un daño permanente a los mamíferos. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden prepararse de cualquier manera conocida, por ejemplo mezclando homogéneamente, revistiendo y/o moliendo los principios activos, en un procedimiento de una etapa o de múltiples etapas, con el material portador seleccionado y, cuando proceda, los demás aditivos tales como agentes tensioactivos se pueden preparar también por micronización, por ejemplo, con el fin de obtenerlos en forma de microesferas que normalmente tienen un diámetro de aproximadamente 1 a 10  $\mu$ m, a saber, para la fabricación de microcápsulas para liberación controlada o prolongada de los principios activos.

Los agentes tensioactivos adecuados, conocidos también como emulgentes o emulsionantes, para ser utilizados en las composiciones farmacéuticas de la presente invención son materiales no iónicos, catiónicos y/o aniónicos que tienen buenas propiedades emulsionantes, dispersantes y/o humectantes. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen tanto jabones hidrosolubles como agentes tensioactivos sintéticos hidrosolubles. Los jabones adecuados son sales de metales alcalinos o alcalino-térreos, sales de amonio no sustituidas o sustituidas de ácidos grasos superiores (C<sub>10</sub>-C<sub>22</sub>), p. ej. las sales de sodio o potasio de ácido oleico o esteárico, o de mezclas de ácidos grasos naturales que pueden obtenerse del aceite de coco o aceite de sebo. Los tensioactivos sintéticos incluyen sales de sodio o calcio de ácidos poliacrílicos; sulfonatos y sulfatos grasos; derivados de bencimidazol sulfonados y alquilarilsulfonatos. Sulfonatos o sulfatos grasos están normalmente en forma de sales de metales alcalinos o

alcalinotérreos, sales de amonio sin sustituir o sales de amonio sustituidas con un radical alquilo o acilo que tiene de 8 a 22 átomos de carbono, p. ej. la sal de sodio o calcio del ácido lignosulfónico o dodecilsulfónico ácido o una mezcla de sulfatos de alcoholes grasos obtenidos a partir de ácidos grasos naturales, sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de ésteres de ácido sulfúrico o sulfónico (tales como lauril sulfato de sodio) y ácidos sulfónicos aductos de alcohol graso/óxido de etileno. Los derivados de bencimidazol sulfonados adecuados contienen preferiblemente de 8 a 22 átomos de carbono. Ejemplos de alquilarilsulfonatos son las sales de sodio, calcio o alcanolamina del ácido dodecilsulfónico o del ácido dibutil-naftalensulfónico o un producto de condensación de ácido naftalensulfónico/formaldehído. También son adecuados los fosfatos correspondientes, p. ej. sales de éster de ácido fosfórico y un aducto de p-nonilfenol con etileno y/u óxido de propileno, o fosfolípidos. Los fosfolípidos adecuados para este fin son los naturales (procedentes de células animales o vegetales) o los fosfolípidos sintéticos del tipo cefalina o lecitina tales como por ejemplo fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilglicerina, lisolecitina, cardiolipina, dioctanilfosfatidil-colina, dipalmitoilfosfatidil-colina y sus mezclas.

Los tensioactivos no iónicos adecuados comprenden derivados polietoxilados y polipropoxilados de alquifenoles, alcoholes grasos, ácidos grasos, aminas o amidas alifáticas que contienen al menos 12 átomos de carbono en la molécula, alquilarensulfonatos y dialquilsulfosuccinatos, tales como derivados de éter poliglicólico de alcoholes alifáticos y cicloalifáticos, ácidos grasos saturados e insaturados y alquifenoles, conteniendo dichos derivados preferentemente de 3 a 10 grupos de éter glicólico y de 8 a 20 átomos de carbono en el resto de hidrocarburo (alifático) y de 6 a 18 átomos de carbono en el resto alquilo del alquifenol. Otros tensioactivos no iónicos adecuados son los aductos hidrosolubles de óxido de polietileno con polipropilenglicol, etilendiaminopolipropilenglicol que contiene de 1 a 10 átomos de carbono en la cadena de alquilo, cuyos aductos contienen 20 a 250 grupos de éter de etilenglicol y/o de 10 a 100 grupos de éter de propilenglicol. Dichos compuestos contienen habitualmente de 1 a 5 unidades de etilenglicol por unidad de propilenglicol. Los ejemplos representativos de tensioactivos no iónicos son nonilfenol-polietoxietanol, éteres poliglicólicos de aceite de ricino, aductos de óxidos de polipropileno/polietileno, tributilfenoxipolietoxietanol, polietilenglicol y octilfenoxipolietoxietanol. Ésteres de ácidos grasos de polietileno sorbitán (tales como trioleato de polioxitileno sorbitán), glicerol, sorbitán, sacarosa y pentaeritrol son también tensioactivos no iónicos adecuados.

Los tensioactivos catiónicos adecuados comprenden sales de amonio cuaternario, particularmente haluros, que tienen 4 radicales de hidrocarburo opcionalmente sustituidos con halo, fenilo, fenilo sustituido o hidroxilo; por ejemplo, sales de amonio cuaternario que contienen como N-sustituyente al menos un radical alquilo  $C_8C_{22}$  (p. ej., cetilo, laurilo, palmitilo, miristilo, oleilo y similares) y, como sustituyentes adicionales, radicales alquilo inferior no sustituido o halogenado, bencilo y/o hidroxilo-alquilo inferior.

Una descripción más detallada de agentes tensioactivos adecuados para este propósito se puede encontrar por ejemplo en "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" (MC Publishing Crop., Ridgewood, Nueva Jersey, 1981), "Tensid-Taschenbuch", 2ª ed. (Hanser Verlag, Viena, 1981) y "Encyclopaedia of Surfactants", (Chemical Publishing Co., Nueva York, 1981).

Los compuestos de la invención y sus sales fisiológicamente aceptables (en lo sucesivo denominados en conjunto principios activos) pueden administrarse por cualquier vía apropiada a la enfermedad que debe tratarse, vías adecuadas incluidas la oral, rectal, nasal, tópica (incluidas la ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluidas la subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La vía de administración preferida puede variar, por ejemplo, con la enfermedad del receptor.

Si bien es posible que los principios activos se administren solos es preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como humano, de la presente invención comprenden al menos un principio activo, como se ha descrito anteriormente, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El excipiente o excipientes de forma óptima es o son "aceptables" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no son perjudiciales para el receptor de los mismos. Las formulaciones incluyen las adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluidas la bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluidas la subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en presentación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Dichos métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el excipiente que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniforme e íntimamente el principio activo con excipientes líquidos o excipientes sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos conteniendo cada una una cantidad predeterminada del principio activo; en forma de polvo o gránulos; en forma de solución o suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede presentarse en forma de inyección i.v. rápida, eclema o pasta.

Un comprimido puede elaborarse por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el principio activo en forma suelta tal como en polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y pueden formularse de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en ellos. Para las infecciones del ojo u otros tejidos externos, p. ej. de la boca y piel, las formulaciones se aplican opcionalmente en forma de pomada o crema tópica que contiene el o los principio(s) activo(s). Cuando se formulan en una pomada, los principios activos pueden emplearse ya sea con una parafínica o una base de pomada miscible en agua. Alternativamente, los principios activos pueden formularse en una crema con una base de crema aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos 30% p/p de un polialcohol, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluyendo PEG400) y sus mezclas. Las formulaciones tópicas pueden incluir convenientemente un compuesto que mejora la absorción o penetración del principio activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Ejemplos de dichos potenciadores de penetración dérmica comprenden el sulfóxido de dimetilo y análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de manera conocida. Aunque la fase puede comprender meramente un emulsionante (conocido de otra manera como emulgente), convenientemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite. Opcionalmente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizador. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el o los emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de la pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones en crema. La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites probablemente utilizados en formulaciones de emulsión farmacéuticas es muy baja. Así pues, la crema debe ser opcionalmente un producto no graso, que no manche y lavable con consistencia adecuada para evitar fugas de los tubos u otros recipientes. Pueden utilizarse ésteres de alquilo monobásicos o dibásicos de cadena lineal o ramificada, tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocidos como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferidos. Estos se pueden usar solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, pueden utilizarse lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica en el ojo también comprenden colirios en donde el principio activo está disuelto o en suspensión en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el principio activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y colutorios que comprenden el principio activo en un excipiente líquido adecuado.

Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse en forma de supositorio con una base adecuada que comprende por ejemplo manteca de cacao o un salicilato. Las formulaciones adecuadas para administración nasal en las que el excipiente es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micras (incluidos tamaños de partícula en un intervalo entre 20 y 500 micras en incrementos de 5 micras tales como 30 micras, 35 micras, etc.), que se administra de la manera en que se toma rapé, es decir, por inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente del polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en donde el excipiente es un líquido, para administración como por ejemplo un atomizador nasal o como gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las formulaciones adecuadas para administración en aerosol pueden prepararse según métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones para pulverización que contienen además del principio activo, excipientes tales como se conocen en la técnica por ser apropiados.

Las formulaciones adecuadas para administración parenteral comprenden soluciones inyectables estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen la formulación isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en recipientes de dosis unitaria o multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y pueden almacenarse en un estado secado por congelación (liofilizado) que requiere sólo la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo agua para inyectables, inmediatamente antes de su uso. Soluciones y suspensiones inyectables improvisadas se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo previamente descrito.

Las formulaciones de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o subdosis diaria unitaria, como se ha indicado anteriormente, o una fracción apropiada de la misma, de un principio activo.

5 Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

10 Los compuestos de la invención pueden utilizarse para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como principio activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación controlada") en donde la liberación del principio activo puede controlarse y regularse para permitir menos frecuencia de dosificación o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un compuesto de la invención dado. Las formulaciones de liberación controlada adaptadas para administración oral en las que pueden prepararse unidades discretas que comprenden uno o más compuestos de la invención según métodos convencionales.

15 Pueden incluirse ingredientes adicionales con el fin de controlar la duración de acción del principio activo en la composición. Las composiciones de liberación controlada pueden conseguirse por lo tanto seleccionando excipientes de polímeros apropiados tales como por ejemplo poliésteres, poliaminoácidos, polividona, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina y similares. La tasa de liberación del fármaco y la duración de la acción también puede controlarse incorporando el principio activo en las partículas, p. ej. microcápsulas, de una sustancia polimérica tal como hidrogeles, ácido poliláctico, hidroximetilcelulosa, polimetacrilato de metilo y los demás polímeros descritos anteriormente. Dichos métodos comprenden sistemas de liberación de fármacos coloidales como liposomas, microesferas, microemulsiones, nanopartículas, nanocápsulas y así sucesivamente. Dependiendo de la vía de administración, la composición farmacéutica puede requerir recubrimientos protectores. Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación improvisada de los mismos. Los excipientes típicos para este propósito, por lo tanto incluyen tampones acuosos biocompatibles, etanol, glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares y mezclas de los mismos.

25 En vista del hecho de que, cuando se utilizan varios principios activos en combinación, no llevan necesariamente su efecto terapéutico conjunto directamente al mismo tiempo en el mamífero que va a tratarse, la composición correspondiente puede estar también en forma de un kit médico o paquete que contiene los dos ingredientes en depósitos o compartimentos separados pero adyacentes. En este último contexto, cada principio activo, por lo tanto se puede formular de una manera adecuada para una vía de administración diferente de la del otro ingrediente, p. ej., uno de ellos puede estar en forma de una formulación oral o parenteral mientras que el otro está en forma de una ampolla para inyección intravenosa o un aerosol.

30 La presente invención también proporciona métodos y procedimientos para la preparación de compuestos según las fórmulas generales (II) a (X), (XV) a (XXI), (XXIV) a (XXVI) y (XXXI) a (XXVI), como se detalla en la presente memoria después. Los procesos descritos además sólo están destinados como ejemplos y de ninguna manera están destinados a limitar el alcance de la presente invención. Para una mejor comprensión de la siguiente descripción, se hace referencia a las figuras 1 a 15.

35 Los esquemas de síntesis en las figuras 1 a 15 ilustran síntesis de los derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato-tetosa y 3'-S-fosfonato-tetosa de cinco bases nucleotídicas de origen natural (adenina, timina, uracilo, citosina, guanina) a partir de compuestos de lactona disponibles en el mercado, pero estas síntesis pueden adaptarse a cualquier base nucleotídica heterocíclica sin el esfuerzo de la invención. Cada figura se describirá a continuación con detalle.

#### Figura 1

45 El esquema de síntesis mostrado en la figura 1 comprende 11 etapas para la síntesis de de 3'-O-fosfonato y los derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato, 2'-desoxi-tetosa de 4 bases nucleotídicas de origen natural (adenina, timina, uracilo, citosina) a partir de (R,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona (**4**).

50 En la primera etapa (a), el grupo 2'-hidroxi está selectivamente protegido. El grupo hidroxilo en la posición 2 está selectivamente protegido, preferiblemente por siliación, más específicamente con un terc-butil dimetilsililo (en lo sucesivo, TBDMS) utilizando grupo TBDMS-cloruro (en lo sucesivo, denominado TBDMSCI) en presencia de un reactivo, preferiblemente imidazol, en un disolvente orgánico, por ejemplo acetonitrilo (en lo sucesivo, ACN). La protección del grupo hidroxilo en esta posición no afecta a la orientación estereoquímica en el átomo de carbono en esta misma posición. Preferiblemente, la protección con sililo se lleva a cabo a 0°C hasta la temperatura ambiente.

55 En la segunda etapa de la síntesis, el grupo hidroxilo libre en la posición 3 se protege independientemente a continuación, preferiblemente mediante un grupo protector de base lábil, por ejemplo, por acilación, preferiblemente por benzoilación. El grupo benzoílo se introduce utilizando cloruro de benzoílo en condiciones básicas en un disolvente orgánico, por ejemplo en piridina. La modificación del grupo hidroxilo en esta posición no afecta a la

orientación estereoquímica en el átomo de carbono en esta misma posición. Preferiblemente, la acilación (aquí benzoilación) se lleva a cabo a partir de 0°C hasta temperatura ambiente.

5 En la tercera etapa la lactona se reduce a un hemiacetal. Esta reducción se efectúa utilizando un agente de reducción basado en hidruro por ejemplo utilizando hidruro de diisobutilaluminio-(denominado en lo sucesivo Dibal-H), preferiblemente en un disolvente tal como tetrahidrofurano (denominado en lo sucesivo THF) o tolueno. Mediante esta reacción se crea un centro anomérico. Esta reducción se lleva a cabo por debajo de 0°C, preferiblemente por debajo de -60°C, por ejemplo a -78°C.

10 La cuarta etapa supone dos reacciones posteriores mediante en las que en primer lugar el grupo hidroxilo anomérico se protege antes de la desprotección del grupo hidroxilo en la posición 3. El grupo hidroxilo anomérico se protege preferiblemente con el mismo grupo protector que el grupo hidroxilo en la posición 2. Por ejemplo también con un grupo TBDMS utilizando TBDMSCl en presencia de un reactivo, preferiblemente imidazol, en un disolvente orgánico, por ejemplo ACN. El grupo protector de base lábil en la posición 3 se elimina en las condiciones apropiadas. Por ejemplo, el grupo O-benzoilo se elimina con amoniaco saturado en metanol. Tras la protección del grupo hidroxilo anomérico, se forman dos estereoisómeros en esa posición, alfa y beta. La mezcla resultante no necesita separarse debido a que la estereo-orientación del centro anomérico en esta etapa en la línea de síntesis no afecta a la estereoquímica de los compuestos finales. La desprotección del grupo hidroxilo en la posición 3 no afecta a la estereoquímica del átomo de carbono a la misma posición.

20 En la etapa siguiente, etapa cinco en el esquema 1, el grupo hidroxilo en la posición 3 se fosfonoalquila utilizando el reactivo fosfonoalquilo protegido de manera apropiada. Por ejemplo, se introduce una función fosfonato utilizando el triflato de alcohol diisopropilfosfonometilico y NaH en THF. La modificación del grupo hidroxilo en esta posición no afecta a la orientación estereoquímica en el átomo de carbono de esa posición. Preferiblemente, esta reacción de fosfonilación se lleva a cabo a partir de -78°C hasta la temperatura ambiente.

25 La sexta etapa de la síntesis en el esquema 1 consiste en la sustitución de los grupos protectores en el centro anomérico y en la posición 2 por uno diferente que comprende en primer lugar, una etapa de desprotección y en segundo lugar, una etapa de protección con el grupo protector alternativo. En un ejemplo de trabajo un grupo acilo sustituye al grupo protector sililo. Preferiblemente, los grupos TBDMS se eliminan por tratamiento con ácido, preferiblemente una solución acuosa ácida, por ejemplo de ácido trifluoroacético (denominado en lo sucesivo TFA) en agua. La posterior acilación se realiza de manera análoga al procedimiento descrito para la etapa 2 de esta ruta de síntesis. Preferiblemente se forma el éster de dibenzoilo.

30 En la etapa siguiente, la base nucleotídica se introduce en la posición 1 del derivado de tetrosa fosfonilado protegido de este modo de manera apropiada. Las bases nucleotídicas que están opcionalmente protegidas con N-acilo (uracilo, timina, N<sup>6</sup>-benzoiladenina, N<sup>4</sup>-acetilcitosina) se sililan en primer lugar, preferiblemente con TMS usando hexametildisilano (en lo sucesivo, HMDS) en presencia de sulfato amónico. Utilizando un catalizador ácido de Lewis, preferiblemente SnCl<sub>4</sub>, la base nucleotídica se acopla con el resto tetrosa. La presencia de un grupo 2-O-acilo, preferiblemente el grupo 2-O-benzoilo, permite la introducción estereoselectiva en presencia de un ácido de Lewis del resto básico en el centro anomérico. Utilizando este método, la base nucleotídica se introduce en el lado opuesto al sustituyente hidroxilo en la posición 2. Preferiblemente, la introducción de la base nucleotídica se lleva a cabo a partir de 0°C hasta la temperatura ambiente.

40 La octava etapa del esquema de síntesis se caracteriza por la desprotección de hidroxilo en la posición 2 y (en el caso de bases nucleotídicas protegidas con N-acilo como posiblemente adenina y citosina) desprotección de la base nucleotídica. El grupo 2-O-acilo y los gruposbenzoilo o acetilo protectores de la base nucleotídica se eliminan en condiciones básicas. Por ejemplo, la eliminación de estos grupos protectores acilo se realiza con amoniaco saturado en metanol (produciendo los compuestos **15-18**).

45 Con el fin de obtener los derivados 3'-O-fosfonato de tetrosa, la etapa final ahora es la eliminación de los grupos protectores fosfonato por hidrólisis. Por ejemplo, la hidrólisis de los grupos protectores diisopropilo preferibles se consigue satisfactoriamente mediante el tratamiento con un halogenuro de trimetilsililo (denominado en lo sucesivo TMSX) (dando **3 a-d**). Preferiblemente, estos compuestos se tratan con bromuro de TMS (TMSBr) a temperatura ambiente en un disolvente orgánico tal como diclorometano.

50 Con el fin de obtener los análogos 2'-desoxigenados (derivados de tetrosa 3'-O-fosfonato, 2'-desoxi) se elimina el grupo 2'-OH de **15-17**. En el caso de los derivados de adenina, timina y uracilo, esto se consigue por un método suave que supone la modificación del grupo hidroxilo en un tionocarbonato o ditiocarbonato antes de la reducción del radical, dando **19-21**. Un procedimiento de reacción adecuado se conoce como desoxigenación de Barton, donde por ejemplo, el compuesto se añade en primer lugar a una solución de fenil(cloro)tiocarbonato en ACN en presencia de una cantidad catalítica de dimetilaminopiridina (denominada en lo sucesivo DMAP). Preferiblemente, esta primera reacción de la desoxigenación de Barton se lleva a cabo a partir de la temperatura ambiente. El compuesto resultante se trata entonces con hidruro de tributilestaño y 2,2'-azobisisobutironitrilo (en lo sucesivo denominado AIBN) en un disolvente orgánico anhidro, por ejemplo, tolueno anhidro y se dejó reaccionar a

reflujo. Preferiblemente, esta segunda reacción de la desoxigenación Barton se lleva a cabo a la temperatura de reflujo del disolvente utilizado.

5 El derivado desoxigenado en 2' de citosina se obtiene a partir del derivado de uracilo desoxigenado en 2'. A éste, el oxígeno en posición 4 de la base pirimidínica se activa por tratamiento con una mezcla de 1,2,4-triazol y oxocloruro de fósforo en piridina y posteriormente se desplaza mediante nitrógeno debido al tratamiento con gas amoníaco.

10 La etapa final en la síntesis de estos derivados de 3'-O-fosfonato, 2'-desoxi-tetrosa es la eliminación de los grupos protectores fosfonato por hidrólisis. Por ejemplo, la hidrólisis de los grupos protectores diisopropilo preferibles se consigue satisfactoriamente mediante tratamiento con un TMSX. Preferiblemente, el derivado de adenina se trata con TMSBr y los derivados de timina, uracilo y citosina se tratan preferiblemente con TMS-yodo (denominado en lo sucesivo, TMSI).

Todos los compuestos resultantes de esta ruta de síntesis se purifican utilizando una combinación de varios métodos conocidos por el experto en la técnica tales como métodos cromatográficos sobre gel de sílice convencional y/o columnas de intercambio iónico y/o perlas macroscópicas sintéticas de un polímero de dextrano.

#### Figura 2

15 La ruta de síntesis mostrada en el esquema de la Figura 2 ilustra la síntesis de los derivados de guanosina 3'-O-fosfonato y 3'-O-fosfonato,2'-desoxi-tetrosa a partir de (R,R)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

El material de partida tetrosa fosfonilada y protegida de esta ruta se obtiene siguiendo las etapas 1-5 de la ruta de síntesis dadas en la Figura 1.

20 A partir de ahí, al igual que en la ruta de la Figura 1, la base de guanosina se introduce en el azúcar en la posición 1 opcionalmente después de la silylación por ejemplo, con HMDS junto con sulfato amónico. Usando un catalizador ácido de Lewis, preferiblemente  $\text{SnCl}_4$ , la base nucleotídica se acopla al resto tetrosa. La presencia de un grupo 2-O-acilo, preferiblemente el grupo 2-O-benzoilo, permite la introducción estereoselectiva en presencia de un ácido de Lewis del resto de la base en el centro anomérico. Utilizando este método, se introduce la base nucleotídica en el lado opuesto al sustituyente hidroxilo en la posición 2.

25 La posterior desprotección del grupo hidroxilo en la posición 2 se consigue de la misma manera que en la etapa 8 del esquema en la figura 1.

30 La etapa final para obtener el derivado de guanosina 3'-O-fosfonato tetrosa es la desprotección de fosfonato conseguida por hidrólisis. Por ejemplo, la hidrólisis de los grupos protectores diisopropilo preferibles se consigue satisfactoriamente mediante tratamiento con un TMSX, más específicamente con TMSBr a temperatura ambiente en un disolvente orgánico tal como diclorometano.

Con el fin de obtener los análogos 2'-desoxigenados (derivados de 3'-O-fosfonato, 2'-desoxi tetrosa) el grupo 2'-OH se elimina de manera similar que para los compuestos desoxi en la figura 1: por un método suave que supone la modificación del grupo hidroxilo en un tionocarbonato o ditiocarbonato antes de la reducción del radical, utilizando preferiblemente el proceso de reacción que se conoce como desoxigenación de Barton.

35 La etapa final en la síntesis de los derivados de guanosina 3'-O-fosfonato,2'-desoxi tetrosa es la eliminación de los grupos protectores de fosfonato por hidrólisis. La hidrólisis de los grupos protectores diisopropilo preferibles se consigue satisfactoriamente por el tratamiento con TMSI.

40 Los compuestos resultantes de esta ruta de síntesis se purifican utilizando una combinación de varios métodos conocidos por el experto en la técnica, tales como métodos cromatográficos sobre gel de sílice convencional, gel de sílice de fase inversa y/o columnas de intercambio iónico y/o perlas macroscópicas sintéticas de un polímero de dextrano.

#### Figura 3

El esquema de reacción dado en la figura 3 comprende 10 etapas e ilustra la síntesis de 3'-O-fosfonato y derivados de tetrosa con diferentes sustituyentes en la posición 2, a partir de (R,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

45 La primera etapa de la síntesis comprende dos reacciones que son idénticas a las dos primeras etapas de la ruta representada por la figura 1. La segunda etapa de la síntesis comprende también dos reacciones de las cuales la primera es idéntica a la etapa 3 en la ruta de la figura 1. En la reacción posterior, el grupo hidroxilo anomérico está protegido, por ejemplo, con un grupo alquilo, por ejemplo metilo, por transacetalización catalizada con ácido (por ejemplo en metanol cuando está previsto el hemicetal de metilo) o utilizando yoduro de metilo/óxido de plata en un disolvente polar tal como DMF o ACN.

50 La etapa siguiente comprende la desprotección de la posición 3, seguida de fosfonilación en la posición 3. Estas reacciones se han descrito con detalle para la ruta representada por la figura 1. La desprotección en la posición 3

abarca la eliminación del grupo protector de base lábil. Por ejemplo, el grupo O-benzoílo se elimina con amoniaco saturado en metanol. Posteriormente, el grupo fosfonoalcoxi se introduce en la posición 3 siguiendo los mismos procedimientos descritos para la etapa 5 en la ruta de la figura 1.

5 En la cuarta etapa, tres reacciones posteriores conducen al acoplamiento de la tetrosa con la base nucleotídica. Los tres procedimientos de reacción son conocidos a partir de la ruta en la figura 1, a saber, la reacción compuesta por las etapas 6 y 7 de la ruta en la figura 1. No obstante los productos intermedios (antes de la introducción de la base nucleotídica) difieren de los de la figura 1 en cuanto a la modificación en la posición 1. Sin embargo, los productos resultantes corresponden a los compuestos 11-14 de la figura 1.

10 Por lo tanto, las 4 primeras etapas de esta ruta de síntesis pueden considerarse como otra nueva estrategia de protección ortogonal en la síntesis de nucleósidos tetrosa 3'-fosfonilados.

En la etapa siguiente, el grupo protector acilo en posición 2 se elimina por un método como el descrito para la eliminación del mismo tipo de grupo protector en la etapa 4 de la figura 1.

15 Después de la desprotección del 2'-OH, tiene lugar una oxidación en esta misma posición en la etapa 6. La oxidación en la posición 2 se consigue utilizando uno de los muchos reactivos conocidos por la persona experta en la técnica para oxidar el 2' o grupo 3'-hidroxi de un nucleósido, por ejemplo se utiliza ácido crómico/anhídrido acético en condiciones ácidas o un reactivo de Dess-Martin o tratamiento con sulfóxido de dimetilo (denominado en adelante DMSO) en combinación con diciclohexilcarbodiimida (denominado en adelante DCC) en condiciones ácidas.

Se obtiene una nueva clase de nucleósidos de tetrosa 3'-O-fosfonilados al eliminar los grupos protectores fosfonilo como se describe para la desprotección de fosfonilo en la ruta de la figura 1.

20 Alternativamente, el producto de oxidación de la etapa 6, se utiliza para la síntesis de otros derivados en primer lugar introduciendo un segundo sustituyente en la posición 2 por adición nucleófila. Para la reacción de adición nucleófila, se seleccionan reactivos y condiciones de reacción apropiados para el sustituyente deseado. Por ejemplo, el grupo metilo se introduce utilizando metil-litio/bromuro de metil magnesio, el grupo trifluorometilo se introduce utilizando trifluorometiltrimetilsilano (en lo sucesivo, TMSCF<sub>3</sub>) en presencia de una cantidad catalítica de fluoruro de tetra-n-butilamonio (denominado en lo sucesivo TBAF) y, por ejemplo, el grupo etinilo se introduce utilizando bromuro de trimetilsililetinil-magnesio.

25

La reacción de adición nucleófila procede estereoespecíficamente: el nucleófilo ataca desde el lado menos estéricamente impedido y, dado que los sustituyentes voluminosos en las posiciones 1 y 3 están ambos en el mismo lado, el nucleófilo ataca en el lado opuesto, dando como resultado la estereoconfiguración ilustrada en la figura.

30 La desprotección del grupo fosfonilo descrita anteriormente en este apartado, conduce a los análogos disustituidos en 2'. Alternativamente, puede formarse un doble enlace por deshidratación entre la posición 2 y la posición 3 antes de la desprotección de fosfonilo.

35 En una realización preferida de la invención esto se consigue por tratamiento con una base, por ejemplo por tratamiento con metanolato de sodio (denominado en adelante MeONa) en metanol. Aunque en una realización preferida, esto se realiza en condiciones apróticas, por ejemplo, utilizando DBU en un disolvente aprótico tal como diclorometano (denominado en adelante DCM).

#### Figura 4

40 El esquema de reacción dado en la figura 4 ilustra la síntesis de derivados de 3'-O-fosfonato y tetrosa con diferentes sustituyentes en la posición 2 por una ruta alternativa. La síntesis de estos compuestos se consigue en 10 etapas, a partir de (R,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

Los 5 primeras etapas de la ruta de la figura 4 son idénticos a los 5 primeras etapas de la ruta en la figura 3 dando como resultado ambas el mismo producto intermedio clave. El hidroxi en la posición 2 de este producto intermedio se sustituye por un sustituyente distinto de OH mediante una sustitución nucleófila opcionalmente después de la activación del grupo hidroxi como grupo saliente. La activación de la hidroxi como un buen grupo saliente se realiza preferiblemente por mesilación, por ejemplo haciendo reaccionar el grupo hidroxi con cloruro de mesilo (denominado en lo sucesivo MsCl) en un medio catalizado por base con, por ejemplo, TEA en un disolvente orgánico tal como DCM. El grupo hidroxi (activado) se sustituye por ataque nucleófilo dando como resultado la inversión de la configuración en este carbono, por ejemplo el hidroxi se sustituye por un grupo azido después del tratamiento con azida de sodio. Alternativamente, se introduce un fluoruro en la posición 2 sustituyendo el hidroxi después de la reacción por trifluoruro de N,N'-dietilaminoazufre (DAST) como reactivo.

45

50

La desprotección posterior de fosfonilo apalanca el siguiente nucleósido de tetrosa fosfonilado.

La configuración del hidroxi en la posición 2 de este producto intermedio clave también se invierte por un proceso de oxidación/reducción. En primer lugar, el compuesto se trata por un agente oxidante idéntico a los descritos para la etapa 6 en la ruta de la figura 3. Después de la oxidación, el compuesto se reduce de nuevo, preferiblemente por



tratamiento con un hidruro metálico en un disolvente orgánico para utilizar borohidruro de sodio (en lo sucesivo denominado NaBH<sub>4</sub>) por ejemplo THF o metanol.

5 El compuesto resultante de este proceso de oxidación/reducción tiene una combinación de configuración en las posiciones 1, 2 y 3 que es novedosa. Por lo tanto, en una etapa siguiente, los grupos protectores restantes, que son los grupos protectores fosfonilo, se eliminan por el mismo tratamiento como se ha descrito anteriormente.

Alternativamente, el producto intermedio resultante del proceso de oxidación/reducción se somete a sustitución nucleófila como se describe para una etapa anterior en esta ruta. Después, la eliminación posterior del grupo protector fosfonilo, se sintetiza otra serie de nuevos análogos nucleosídicos de tetrosa fosfonilados en 3'.

#### Figura 5

10 El esquema de reacción dado en la figura 5 ilustra la síntesis de otra serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa con diferentes sustituyentes en la posición 2 por otra ruta. La ruta presentada comprende principalmente las etapas o las reacciones que se han utilizado en alguna etapa en las rutas de síntesis de las figuras 1-4 y que se han descrito anteriormente, excepto para dos reacciones o etapas. Partiendo de (R,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona, las tres primeras etapas son idénticas a las tres primeras etapas en la figura 3.

15 En la etapa siguiente, la primera reacción es nueva y es una forma alternativa de eliminación de grupos protectores sililo a saber, un método que utiliza un reactivo de fluoruro, utilizando preferiblemente fluoruro de amonio en THF. La segunda reacción en esta etapa es la oxidación en la posición 2 para la que el método se ha descrito anteriormente por la figura 3. La etapa siguiente es la adición nucleófila en la posición 2 descrita también por la figura 3. El producto resultante es una mezcla de dos diastereoisómeros que se separan basándose en la diferencia de sus propiedades fisicoquímicas dando estereoisómeros sustancialmente puros por métodos conocidos por el experto en la técnica. El ataque nucleófilo de esta reacción de adición nucleófila no es estereoespecífico porque la posición está mucho menos impedida estéricamente debido al sustituyente mucho más pequeño en la posición 1.

20 A continuación, el grupo hidroxilo libre en la posición 2 se protege por acilación, preferentemente benzoilación, seguido de la introducción de la base nucleotídica en la posición 1 y posterior eliminación de los todos los grupos protectores de base lábil, a saber, la protección de la base nucleotídica y la protección del hidroxilo en la posición 2. Las tres reacciones se han descrito para las etapas cuatro y cinco en la figura 3.

Los compuestos resultantes se modifican a continuación de tres maneras diferentes. En una posible etapa final, los grupos protectores fosfonato se eliminan utilizando el mismo método descrito para la desprotección del fosfonato en la figura 1.

30 La segunda manera se caracteriza por la eliminación del hidroxilo en la posición 2. Esto se consigue mediante un método suave que supone la modificación del grupo hidroxilo en un tionocarbonato o ditiocarbonato antes de la reducción del radical. Un proceso de reacción adecuado se conoce como desoxigenación de Barton. La posterior eliminación de los grupos protectores fosfonato por los métodos descritos anteriormente produce otra serie de derivados nucleófilos sustituidos en 2'. La tercera manera supone una etapa de deshidratación como se describe para una etapa final en la figura 3. En una realización preferida de la invención, la deshidratación se consigue mediante tratamiento con una base, por ejemplo por tratamiento con metanolato de sodio (denominado en lo sucesivo MeONa) en metanol. Aunque en una realización preferida, esto se hace en condiciones apróticas, por ejemplo, utilizando DBU en un disolvente aprótico tal como diclorometano (denominado en lo sucesivo DCM).

#### Figura 6

40 El esquema de reacción dado en la figura 6 ilustra la síntesis de otra serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa con diferentes sustituyentes en la posición 2 por otra ruta. "Diferentes sustituyentes" debe entenderse tanto en términos de composición química diferente, así como los mismos sustituyentes químicos en una configuración estérica diferente. La ruta presentada comprende sólo las etapas o las reacciones que se han utilizado en alguna etapa en las rutas de síntesis de las figuras 1-5 y que se ha descrito anteriormente. Este esquema ilustra cómo la utilización de un estereoisómero diferente del material de partida conduce a diferentes posibilidades de síntesis.

45 Más específicamente, las 6 primeras etapas de esta ruta de síntesis son idénticas a las 6 primeras etapas de la ruta de síntesis de la figura 3. Sin embargo, debido al hecho de que la orientación de la base nucleotídica con respecto a la orientación del sustituyente en posición 3 en el producto de oxidación es diferente de esta orientación relativa del mismo compuesto en la figura 3, la adición nucleófila posterior, aunque realizada en las mismas condiciones, conduce a ataque nucleófilo por ambos lados en la ruta de la figura 6 contraria a la estereoselectividad de esta etapa en la figura 3 (Debido al impedimento estérico). La diferencia de estereoconfiguración de este intermedio clave es debida a la diferente configuración estérica del material de partida: (S,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona. Esto conduce a la formación de mezcla de dos diastereoisómeros que se pueden separar como se describió anteriormente.

55

## Figura 7

Las mismas explicaciones para la figura 7 que para la figura 6. Todas las reacciones utilizadas en la ruta de síntesis de la figura 7 ya se ha descrito para las demás rutas de síntesis. Sin embargo, debido al hecho de que la orientación de la base nucleotídica con respecto a la orientación del sustituyente en la posición 3 en el producto de oxidación es diferente de esta orientación relativa del mismo compuesto en la figura 3, la sustitución nucleófila posterior, aunque realizada en las mismas condiciones, conduce a un ataque nucleófilo por ambos lados en la ruta de la figura 7 contraria a la estereoselectividad de esta etapa en la figura 4 (debido al impedimento estérico). La diferencia de estereoconfiguración de este intermedio clave se debe a la diferente configuración estérica del material de partida, (S,S)-2,3-dihidroxi-dihidrofuran-1-ona. Esto conduce a la formación de mezcla de dos diastereoisómeros que se pueden separar como se describió anteriormente.

## Figura 8

El esquema de reacción dado en la figura 8 ilustra la síntesis de otra serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa con un segundo sustituyente en la posición 3. La ruta comprende 11 etapas en total, comienza con (R,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona y da como resultado la síntesis de 4 grupos de productos finales (ver estructuras en caja). La ruta presentada comprende principalmente etapas o reacciones que se utilizaron en alguna etapa de las rutas de síntesis de las figuras 1-7 y que se han descrito anteriormente pero utilizadas en un orden diferente (en una etapa diferente del orden cronológico de la ruta de síntesis) y para algunas de las reacciones para ejecutar una modificación en un sitio diferente de la molécula en comparación con las rutas de síntesis anteriores. Por ejemplo, la reacción de oxidación en la etapa 3 de la ruta se lleva a cabo en las mismas condiciones que las descritas anteriormente (véase la figura 3) pero se utiliza para oxidar en la posición 3.

Por tanto, esta ruta de síntesis ilustra muy bien la diversificación de los productos finales permitidos por las reacciones descritas en las figuras 1 a 15.

## Figura 9

El esquema de reacción dado en la figura 9 ilustra la síntesis de una serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa similares a los compuestos resultantes de la síntesis en la figura 8 pero con diferente configuración estérica debido a la utilización del mismo material de partida, pero en una configuración diferente. El material de partida es (S,S)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

## Figura 10

El esquema de reacción dado en la figura 10 ilustra la síntesis de una serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa similares a los compuestos resultantes de la síntesis en la figura 5 pero con diferente configuración estérica debido a la utilización del mismo material de partida, pero en una configuración diferente. El material de partida es (R,R)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

## Figura 11

El esquema de reacción dado en la figura 11 ilustra la síntesis de una serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa similares a los compuestos resultantes de la síntesis en la figura 6 pero con diferente configuración estérica debido a la utilización del mismo material de partida, pero en una configuración diferente. El material de partida es (R,R)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

## Figura 12

El esquema de reacción dado en la figura 12 ilustra la síntesis de una serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa similares a los compuestos resultantes de la síntesis en la figura 7 pero con diferente configuración estérica debido a la utilización del mismo material de partida, pero en una configuración diferente. El material de partida es (R,R)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona.

## Figura 13

El esquema de reacción en la figura 13 ilustra la síntesis de una serie de derivados nucleosídicos de 3'-O-fosfonato tetrosa caracterizados por la ausencia de un sustituyente distinto de H en la posición 2. Aunque se han sintetizado compuestos similares por una de las rutas ilustradas por las figuras 1 a 12, El esquema de la figura 13 describe una ruta alternativa para la síntesis de estos compuestos utilizando material de partida diferente: a partir de  $\beta$ -hidroxi- $\gamma$ -butirolactona que está disponible en el mercado. Para el ejemplo dado en la figura 13, se usa el estereoisómero (S)- $\beta$ -hidroxi- $\gamma$ -butirolactona.

En la primera etapa, el grupo hidroxilo en la posición 3 está protegido por benzoilación (condiciones de reacción véase la figura 1, etapa 2). En la segunda etapa, la lactona se reduce (véanse las condiciones de reacción en la figura 1, etapa 3). El grupo hidroxilo anomérico está protegido por acilación, preferentemente por acetilación, por ejemplo utilizando anhídrido de ácido acético en trietilamina como disolvente y una cantidad catalítica de DMAP a

partir de 0° Celsius y permitir que la reacción transcurra mientras se calienta hasta la temperatura ambiente. Posteriormente, en la cuarta etapa, se introduce la base nucleotídica, preferiblemente utilizando SnCl<sub>4</sub> como catalizador de Lewis, dando una mezcla de dos estereoisómeros con el resto de la base en la configuración β y α, respectivamente. Esta mezcla se separa en base a la diferencia de propiedades físico-químicas de los diastereoisómeros utilizando preferiblemente técnicas cromatográficas, por ejemplo cromatografía de capa fina de preparación.

En la etapa siguiente, ambos compuestos se someten a la desprotección del grupo hidroxilo en la posición 3 utilizando el mismo procedimiento que el de eliminación de grupos protectores lábiles de base descrito anteriormente para la etapa 4 en la figura 1. A continuación, la función de fosfonato se introduce utilizando el mismo procedimiento que en la etapa 5 en la figura 1. Por último, los grupos protectores de fosfonato se retiran y los compuestos se purifican siguiendo los mismos procedimientos descritos anteriormente para los compuestos en las figuras 1-13.

Figura 14

La figura 14 ejemplifica la ruta de síntesis ilustrada por la figura 13 para los derivados de adenina.

Figura 15

La figura 15 ilustra una posible manera de sintetizar el análogo de trifosfato de la presente invención. Los expertos en la técnica conocen varios métodos para la transformación de un monofosfato de nucleósido en un trifosfato y todos estos métodos son adecuados para introducir dos grupos fosfato en el grupo fosfonilo de los análogos nucleosídicos de fosfonoalquiloxitetrosa de la presente invención. Preferiblemente, se introduce un difosfato en el grupo fosfonilo de los derivados nucleosídicos de tetrosa fosfonilados sintetizados siguiendo una de las rutas, como se ilustra por las figuras 1-14, por primer tratamiento de una solución del compuesto en un disolvente orgánico, por ejemplo DMF, con dimetilformamida dimetil acetal a temperatura ambiente durante la noche. Después de la evaporación posterior del disolvente, el residuo se vuelve a disolver en un disolvente orgánico, preferiblemente DMF, y se trata con N,N'-carbonildiimidazol. Después de 12 h se añade una solución de pirofosfato de dibutilamonio y la mezcla se mantiene a temperatura ambiente durante 2 h. A continuación, la mezcla se trata con NH<sub>4</sub>OH y posteriormente se concentra a presión reducida. El fosfonil-difosfato resultante se purifica por métodos conocidos por los expertos en la técnica, preferiblemente cromatografía en columna, por ejemplo cromatografía de fase inversa.

Métodos generales de detección sistemática antivírica

Los métodos generales que se pueden utilizar para probar la actividad antivírica de los compuestos de esta invención comprenden, pero no se limitan a, los siguientes:

*Ensayo anti-VIH:*

La actividad inhibidora de los compuestos de la invención puede probarse por su potencial para inhibir la replicación del VIH y del VIS en un modelo de cultivo celular para infección aguda. Los compuestos pueden probarse contra cepas de VIH-1 (NL43, III<sub>B</sub>), cepas de VIH-2 (ROD, EHO) y de VIS (MAC251) para la inhibición de la citopatogenia provocada por el virus en células 4 método (células CEM, C8166 o Molt4/C8), utilizando el ensayo colorimétrico descrito por Pauwels *et al.* en *J. Virol. Methods* (1988) 20:309-321 o una investigación microscópica del efecto citopatógeno, haciéndose la evaluación 4 a 5 días después de la infección. Por ejemplo se puede utilizar placas de microvaloración de 96 pocillos que contienen ~ 3 × 10<sup>5</sup> células CEM/ml, infectados con 100 CCID<sub>50</sub> del VIH por ml y contienen diluciones apropiadas de los compuestos de ensayo. Un procedimiento de ensayo rápido y automatizado puede utilizarse para la evaluación *in vitro* de agentes anti-VIH. Una estirpe MT-4 de células T4 transformadas con HTLV-1 transformado, que demostró previamente ser altamente sensible a la infección por VIH y permisiva para la misma, puede servir como estirpe celular diana. La inhibición del efecto citopatógeno provocado por el VIH se usa como punto final. La viabilidad tanto de las células infectadas por el VIH como con infección simulada también se evalúa por espectrofotometría por reducción *in situ* de bromuro de 3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT). Los métodos comprenden, por ejemplo, el examen microscópico de la formación de células CEM, C8166 o Molt4/C8 gigante (sincitio), después de 4 a 5 días de incubación a 37°C en una por atmósfera humidificada con CO<sub>2</sub> controlado. La concentración citotóxica del 50% (CC<sub>50</sub> en microgramos/ml) se define como la concentración de compuesto que reduce la absorbancia de la muestra de referencia falsamente infectadas por 50%. El porcentaje de protección alcanzado por el compuesto en células infectadas por VIH se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{(DO_T)_{VIH} - (DO_C)_{VIH}}{(DO_C)_{MOCK} - (DO_C)_{VIH}} \quad \text{expresada en \%}$$

5 por la cual  $(DO_T)_{VIH}$  es la densidad óptica medida con una concentración dada del compuesto de ensayo en células infectadas por VIH;  $(DO_C)_{VIH}$  es la densidad óptica medida para las células infectadas por el VIH no tratadas de referencia;  $(DO_C)_{MOCK}$  es la densidad óptica medida para las células infectadas no tratadas de referencia; todos los valores de densidad óptica se determinaron a 540 nm. La dosis que consigue el 50% de protección según la fórmula anterior se define como la concentración inhibidora del 50% ( $CI_{50}$  en  $\mu\text{g/ml}$ ). La relación de  $CC_{50}$  a  $CI_{50}$  se define como el índice de selectividad (IS).

Células: Se cultivan células MT-4 (Miyoshi *et al.*, 1982) y se mantienen en RPMI 1640 enriquecido con 10% de suero fetal bovino inactivado por calor, L-glutamina 2 mM, 0,1% de bicarbonato de sodio, y 20  $\mu\text{g}$  de gentamicina por ml.

10 Virus: La cepa (IIIB, NL4.3) del VIH-1 (Adachi *et al.*, 1986) es un clon molecular obtenido de los National Institutes of Health (Bethesda, MD.). La cepa SO561945 del VIH-1 (RT, K103N; Y181C) es una cepa resistente a los inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa. La estirpe de VIH-2 (ROD, EHO) (Barré-Sinoussi *et al.*, 1983) se obtiene a partir del sobrenadante del cultivo de estirpes celulares infectadas con VIH-2. Mac251 es una cepa del VIS.

#### *Ensayos de actividad citostática:*

15 Todos los ensayos se realizaron en placas de microvaloración de 96 pocillos. A cada pocillo se añaden  $5-7.5 \times 10^4$  células y una cantidad dada del compuesto de ensayo. Las células se dejan proliferar durante 48 h (L1210 de leucemia murina) o 72 h (CEM de linfocitos humanos y Molt4/clon 8) a 37°C en una atmósfera humidificada con  $\text{CO}_2$  controlado. Al final del periodo de incubación, las células pueden contarse en un contador Coulter. El  $CI_{50}$  (concentración inhibitoria 50%) se definió como la concentración del compuesto que redujo el número de células en un 50%.

#### *Ensayo anti-VDVB:*

25 Células y virus: Células Madin-Darby de riñón bovino (MDBK) se mantienen en medio Eagle modificado de Dulbecco (MEMD) enriquecido con 5% de suero fetal bovino exento de VDVB (MEMD-SFB) a 37°C en una atmósfera de  $\text{CO}_2$  al 5% humidificada. El VDVB-1 (cepa PE515) se utiliza para evaluar la actividad antivírica en las células MDBK. Células Vero (ATCC CCL81) se mantienen en medio MEM enriquecido con 10% de suero bovino inactivado, 1% de L-glutamina y 0,3% de bicarbonato.

30 Placas de cultivo celular de 96 pocillos se siembran con células MDBK en MEMD-SFB de manera que las células alcanzan la confluencia 24 horas después. A continuación se retira el medio y diluciones en serie quintuplas de los compuestos de ensayo se añaden en un volumen total de 100  $\mu\text{l}$ , después de lo cual el inóculo del virus (100  $\mu\text{l}$ ) puede añadirse a cada pocillo. El inóculo del virus utilizado produce normalmente una destrucción mayor del 90% de la monocapa de células después de 5 días de incubación a 37°C. Las células no infectadas y las células que reciben virus sin compuesto pueden estar incluidas en cada placa de ensayo. Después de 5 días, se retira el medio y se añaden a cada pocillo 90  $\mu\text{l}$  de MEMD-SFB y 10  $\mu\text{l}$  de solución MTS/PMS (Promega). Tras un periodo de incubación de 2 horas a 37°C, se lee la densidad óptica de los pocillos a 498 nm en un lector de microplacas. El índice de concentración eficaz del 50% ( $CE_{50}$ ) se define como la concentración de compuesto que protege el 50% de la monocapa de células de efecto citopático provocado por el virus.

#### *Ensayo anti-VHC/ensayo de replicón:*

40 Células Huh-5-2 [una línea celular con un replicón I389luc-ubi-neo/NS3-3'/5.1 del VHC persistente; replicón con proteína de fusión fosfotransferasa luciferasa-ubiquitina-neomicina de luciérnaga y poliproteína del VHC NS3-5B dirigida por EMCV-IRES] se cultivan en medio RPMI (Gibco) enriquecido con 10% de suero fetal bovino, L-glutamina 2 mM (Life Technologies), 1  $\times$  aminoácidos no esenciales (Life Technologies); 100 UI/ml de penicilina, 100  $\mu\text{g/ml}$  de estreptomycin y 250  $\mu\text{g/ml}$  de G418 (Geneticina, Life Technologies). Las células se siembran a diferentes densidades, concretamente a una densidad de 7.000 células por pocillo en placas View Plate™ (Packard) de 96 pocillos en medio que contiene los mismos componentes descritos anteriormente, excepto G418. A continuación las células se dejan adherir y proliferar durante 24 horas. En ese momento, se retira el medio de cultivo y las diluciones en serie de los compuestos de ensayo se añaden en el medio de cultivo que carece de G418. Se incluye interferón alfa 2a (500 UI) como referencia positiva. Las placas se incuban más a 37°C y 5% de  $\text{CO}_2$  durante 72 horas. La replicación del replicón del VHC en células Huh-5 produce actividad de luciferasa en las células. La actividad de luciferasa se mide añadiendo 50  $\mu\text{l}$  de 1  $\times$  tampón Glo-lysis (Promega) durante 15 minutos, seguido de 50  $\mu\text{l}$  de reactivo de ensayo Steady-Glo Luciferase (Promega). La actividad de luciferasa se mide con un luminómetro y la señal en cada pocillo individual se expresa en porcentaje de los cultivos no tratados. Los cultivos paralelos de células Huh-5-2, sembradas a una densidad de 7.000 células/pocillo de placas de cultivo celular de 96 pocillos clásicas (Becton-Dickinson) se tratan de manera similar excepto que no se añade tampón Glo-lysis ni reactivo Steady-Glo Luciferase. En su lugar la densidad del cultivo se mide por el método MTS (Promega).

55 *Ensayo con antiviral Coxsackie:*

Placas de cultivo celular de 96 pocillos se siembran con células Vero en medio MEMD que contiene 10 suero fetal bovino (SFB) de modo que las células alcanzan confluencia 24 a 48 horas después. El medio se retira a continuación y se añaden diluciones en serie quintuplas de los compuestos de ensayo en un volumen total de 100 µl, después de lo cual el inóculo del virus (100 µl) se añade a cada pocillo. El inóculo del virus utilizado da lugar normalmente a una destrucción del 90-100% de la monocapa de células después de 5 días de incubación a 37°C. Las células no infectadas y las células que reciben virus sin compuesto pueden incluirse en cada placa de ensayo. Después de 5 días, se retira el medio y se añade a cada pocillo 90 µl de MEMD-SFB y 10 µl de solución MTS/PMS (Promega). Tras un período de incubación de 2 horas a 37°C, se puede leer la densidad óptica de los pocillos a 498 nm en un lector de microplacas. El índice de concentración eficaz del 50% (CE<sub>50</sub>) se define como la concentración de compuesto que protege el 50% de la monocapa de células del efecto citopático provocado por el virus.

*Ensayos contra el virus del herpes simple, el virus de la varicela-zoster y citomegalovirus:*

Los ensayos antivíricos con VHS-1, VHS-2, VZV, CMV se basan en la inhibición de la citopatogenia provocada por el virus en cultivos celulares HEL. Cultivos de células confluentes en placas de microvaloración de 96 pocillos se inoculan con 100 CCID<sub>50</sub> de virus, siendo 1 CCID<sub>50</sub> la dosis de virus requerida para infectar el 50% de los cultivos celulares. Después de una 1 a 2 horas de periodo de adsorción de virus, se elimina el virus restante, y los cultivos celulares se incuban en presencia de concentraciones variables de compuestos de ensayo. Se registra la citopatogenia vírica tan pronto como se alcanza la terminación en los cultivos celulares infectados por el virus de referencia que no se tratan con los compuestos de ensayo.

*Ensayo con coronavirus felino:*

Células Crandel de riñón felino se siembran en placas de microvaloración de 96 pocillos a 24.000 células/pocillo. 24 horas más tarde, puede añadirse un inóculo adecuado de CVF junto con diluciones quintuplas de los compuestos de ensayo. Después de 4 días, una solución MTS/PMS se puede añadir a cada pocillo. Tras un período de incubación de 90 min a 37°C, se puede leer la densidad óptica de los pocillos a 498 nm en un lector de microplacas.

*Ensayo con virus del SARS:*

Se puede sembrar células Vero en placas de microvaloración de 96 pocillos y cultivarse hasta confluencia. A continuación, se puede añadir un inóculo adecuado de virus del SARS capaz de destruir el cultivo celular (citopatogenia) en 72 h junto con diluciones quintuplas de los compuestos de ensayo. Después de 3 días, una solución MTS/PMS se puede añadir a cada pocillo. Tras un período de incubación de 3 h a 37°C, puede leerse la densidad óptica de los pocillos a 498 nm en un lector de microplacas.

*Ensayo contra el virus de la hepatitis B:*

Se utilizan estirpes celulares HepAD38 sensibles a la tetraciclina (Ladner *et al.* en *Antimicrob. Agents Chemother.* (1997) 41:1715-1720). Estas son células de hepatoma que han sido transfectadas de manera estable con una copia de ADNc del ARN pregenómico de virus natural. La retirada de la tetraciclina del medio de cultivo da lugar al inicio de la replicación vírica. Se cultivan células a 37°C en atmósfera humidificada de 5% de CO<sub>2</sub>/aire en el medio de cultivo, MEMD/F12 de Ham (50/50) enriquecido con 10% en volumen de suero fetal bovino inactivado por calor, 100 UI/ml de penicilina, 50 µg/ml de estreptomina, 100 µg/ml de kanamicina, 400 µg/ml de G418 y 0,3 µg/ml de tetraciclina. Cuando se inicia el ensayo, las células se siembran en placas de 48 pocillos a una densidad de 5×10<sup>5</sup>/ pocillo. Después de 2 a 3 días los cultivos se inducen para la producción vírica lavando con PBS precalentado y se alimentan con 200 µl de medio de ensayo (medio de cultivo sin tetraciclina y G418) con o sin los compuestos antivíricos. El medio se cambia a los 3 días. El efecto antivírico se cuantifica midiendo las concentraciones de ADN vírico en el sobrenadante del cultivo al 6º día después de la inducción, por una PCR cuantitativa en tiempo real (Q-PCR). La Q-PCR se realiza con 3 µl de sobrenadante de cultivo en un volumen de reacción de 25 µl utilizando TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Branchburg, NJ) con cebador directo (5'-CCG TCT GTG CCT TCT CAT CTG-3'; concentración final: 600 nM), cebador inverso (5'-AGT CCA AGA GTY CTC TTA TRY AAG ACC TT-3'; concentración final: 600 nM) y la sonda Taqman (6-FAM-CCG TGT GCA CTT CGC TTC ACC TCT GC-TAMRA; concentración final 150 nM). La reacción se analiza utilizando un SDS 7000 (Applied Biosystems, Foster City, CA). Para preparar la curva patrón se utiliza un plásmido que contenía la inserción completa del genoma del VHB. La cantidad de ADN vírico producida en los cultivos tratados se expresa en porcentaje de las muestras simuladas tratadas. El efecto citostático de los diversos compuestos se evalúa empleando la estirpe celular de hepatoma HepG2 original. El efecto de los compuestos sobre las células HepG2 en crecimiento exponencial se evalúa mediante el método MTS (Promega). En resumen, las células se siembran a una densidad de 3.000/pocillo (placa de 96 pocillos) y se les deja multiplicarse durante 3 días en ausencia o presencia de compuestos, tras lo cual se determina la densidad celular.

Ejemplo 2: Materiales y procedimientos generales de preparación

Para todas las reacciones, se utilizan disolventes de calidad analítica. Todas las reacciones sensibles a la humedad se llevaron a cabo en material de vidrio secado en estufa (135°C) bajo una atmósfera de nitrógeno. Se calentó a reflujo THF anhidro sobre sodio/benzofenona y se destiló. Un espectrómetro Varian Unity de 500 MHz y un aparato Varian Gemini de 200 MHz se utilizaron para  $^1\text{H}$  RMN y  $^{13}\text{C}$  RMN. Se realizaron mediciones de masa exactas en un espectrómetro de masas de cuadrupolo-tiempo de vuelo (Q-ToF-2, Micromass, Manchester, G.B.) equipado con una interfaz de electroatomización-ionización (ESI) convencional; las muestras se infundieron en i-PrOH/H<sub>2</sub>O 1:1 a 3  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Para TLC se utilizaron hojas de aluminio revestidas previamente (gel de sílice Fluka/tarjetas de TLC, 254 nm). Las manchas se examinaron a la luz UV. La cromatografía en columna se realizó sobre gel de sílice ICN 63-200 60 Å.

Los nucleósidos (**3a-h**) se sintetizaron a partir de (R,R)-2,3-dihidroxi-dihidro-furan-1-ona (**4**) según la figura 1. El grupo hidroxilo en la posición 2 puede protegerse selectivamente con un grupo TBDMS. El grupo hidroxilo libre de **5** se protegió a continuación por benzoilación y la lactona se reduce a hemiacetal utilizando Dibal-H en THF. El grupo hidroxilo anomérico está protegido con un grupo TBDMS y el grupo O-benzoilo se elimina con amoniaco en metanol. En la etapa de **8**, se introduce la función fosfonato utilizando el triflato de alcohol diisopropilfosfonometilico y NaH en THF. Los dos grupos protectores sililo de **9** son eliminados y se sustituyen por grupos protectores benzoilo. La presencia de un grupo 2-O-benzoilo permite la introducción selectiva del resto básico en la configuración  $\beta$ . Las bases nucleotídicas (uracilo, timina, N<sup>6</sup>-benzoiladenina, N<sup>4</sup>-acetilcitosina) se introducen después de la siliación y utilizando SnCl<sub>4</sub> como catalizador de Lewis. La desprotección de **11-14** se realiza en dos etapas, en primer lugar, la eliminación de los grupos protectores benzoilo con amoniaco en metanol (dando **15-18**), y, en segundo lugar, la hidrólisis de los grupos protectores diisopropilo con TMSBr a temperatura ambiente (dando **3a-d**). Con el fin de obtener los análogos desoxigenados en 2', el grupo 2'-OH de **15-17** se elimina por desoxigenación de Barton, **16,17** dando **19-21**. El compuesto **22** se obtiene a partir de **21**. La hidrólisis de la función éster de fosfonato de **19** se llevó a cabo con TMSBr a temperatura ambiente. Sin embargo, para los compuestos **20-22**, TMSBr escindió rápidamente la base nucleotídica del azúcar incluso a 0°C. Por esta razón, se utilizó TMSI para la hidrólisis del grupo (diisopropilfosfonometilico) de **20-22**. Después de la purificación por cromatografía en gel de sílice, resina Sephadex-DEAE A-25 y la resina de intercambio de ion sodio Dowex, se obtuvieron fosfonatos ácidos de nucleósidos **3 eh**.

Las condiciones para cada etapa de la figura 1 pueden resumirse de la manera siguiente: a) TBDMSCl, imidazol, MeCN b) BzCl, piridina c) Dibal-H, THF d) NH<sub>3</sub> sat. en MeOH e) Trifluorometansulfonato de diisopropilfosfonilmetanol, NaH, THF f) TFA/H<sub>2</sub>O g) SnCl<sub>4</sub>, MeCN h) 1.  $\phi\text{OC}(\text{S})\text{Cl}$ , DMAP, MeCN 2. Bu<sub>3</sub>SnH, AIBN i) P(O)Cl<sub>3</sub>, 1,2,4-triazol, DCM 2. j) 1. TMSBr, DCM-DEAE Sephadex, Dowex-Na<sup>+</sup> k) 1. TMSI, DCM 2. sephadex-DEAE, Dowex-Na<sup>+</sup>.

Ejemplo 3: Preparación de compuestos intermedios

#### 2-O-tributildimetilsilil-L-treonolactona (**5**)

A la solución de (3R,4S)-dihidro-3,4-dihidroxfuran-2(3H)-ona **4** (10,8 g, 92 mmol) e imidazol (12,5 g, 184 mmol) en 250 ml de MeCN se añadió TBDMSCl (31,2 g, 3,17 mmol) a 0°C en una porción. La mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 6:1) para dar **5** (15,2 g, 65,4 mmol, rendimiento del 71%) como un sólido incoloro que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  0,12 (s, 6H, SiCH<sub>3</sub>), 0,90 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3,86 (dd,  $J_1 = 6,96$  Hz,  $J_2 = 7,70$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,11-4,36 (m, 3H, OH, C(3')H, C(4')H<sub>b</sub>), 5,82 (d,  $J = 5,13$  Hz, 1H, C(2')H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{C}}$  -4,93 (SiCH<sub>3</sub>), 17,99 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,61 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 69,62 (C-4'), 72,62 (C-2'), 74,59 (C-3'), 174,60 (C-1');

- calculado para C<sub>10</sub>H<sub>20</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>1</sub>Na<sub>1</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 255,1028, detectado 255,1010.

#### 2-O-tributildimetilsilil-3-O-benzoil-L-treonolactona (**6**)

A la solución de **5** (18,00 g, 77,5 mmol) en 200 ml de piridina se añadió gota a gota BzCl (11,2 ml, 96,9 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y se evaporó junto con 20 ml de tolueno dos veces al vacío. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O (100 ml) y EtOAc (350 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 8:1) para dar **6** (25,9 g, 77,0 mmol) como un sólido incoloro con un rendimiento del 99% que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta_{\text{H}}$  0,14 (d,  $J_1 = 13,2$ , 6H, SiCH<sub>3</sub>), 0,87 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 4,23 (dd,  $J_1 = 6,8$  Hz,  $J_2 = 9,3$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,68 (dd,  $J_1 = 7,3$  Hz,  $J_2 = 9,3$  Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,96 (d,  $J = 6,8$  Hz, 1H, C(2')H), 5,48 (dd,  $J_1 = 7,3$  Hz,  $J_2 = 13,0$  Hz, 1H, C(3')H), 7,57-8,01 (m, 5H, Ar-H');

- $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{C}}$  -5,16 (SiCH<sub>3</sub>), -4,84 (SiCH<sub>3</sub>), 17,84 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,42 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 67,20 (C-4'), 71,67 (C-2'), 75,46 (C-3'), 128,65 (C arom.), 128,90 (C arom.), 129,36 (C arom.), 133,94 (aroma -C), 165,08 (Bz-CO), 172,76 (C-1');
- masa calculada para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 337,1471, detectada 337,1465.

#### 5 2-O-tributildimetilsilil-3-O-benzoil-L-treosa (7)

A la solución de **6** (10,0 g, 29,7 mmol) en 100 ml de THF anhidro se añadió lentamente gota a gota hidruro de diisopropilo y aluminio 1,0 M (37,1 ml, 37,1 mmol) en tolueno a -78°C. La mezcla de reacción se agitó a -78°C., y tan pronto como el material de partida se consumió completamente (TLC, de 4 a 10 horas), se añadió metanol (10 ml) durante un período de 5 minutos con el fin de interrumpir la reacción. Se retiró el baño de refrigeración, se añadieron 100 ml de una solución acuosa sat. de tartrato de sodio y potasio y 200 ml de EtOAc y la mezcla se agitó vigorosamente durante 3 horas. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 8:1) para dar **7** (7,40 g, 21,8 mmol) como un sólido incoloro con un rendimiento del 73%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{H}}$  0,10 (s, 6H, Si-CH<sub>3</sub>), 0,87 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3,93 (dd,  $J_1 = 9,89$  Hz,  $J_2 = 3,66$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,16 (br s, 1H, OH), 4,24 (dd,  $J_1 = 10,26$  Hz,  $J_2 = 5,86$  Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 5,02-5,07 (m, 2H, C(2')H, C(3')H), 6,54 (d,  $J = 4,76$  Hz, 1H, C(1')H), 7,51-8,00 (m, 5H, Ar-H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{C}}$  -7,39 (SiCH<sub>3</sub>), -7,30 (SiCH<sub>3</sub>), 15,41 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23,27 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 67,06 (C-4'), 77,14 (C-2'), 78,87 (C-3'), 100,23 (C-1'), 126,58 (C arom.), 127,09 (C arom.), 131,40 (C arom.), 163,18 (Bz-CO);
- masa calculada para C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>O<sub>5</sub>Si<sub>1</sub>Na<sub>1</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 361,1447, detectada 361,1452.

20

#### 1 $\alpha$ ,2-di-O-tributildimetilsilil-L-treosa (8a) y 1 $\beta$ ,2-di-O-tributildimetilsilil-L-treosa (8b)

A la solución de **7** (7,30 g, 21,6 mmol) e imidazol (2,94 g, 43,1 mmol) en 100 ml de MeCN se añadió TBDMSCI (0,98 g, 23,8 mmol) a 0°C en una porción. La mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en MeOH saturado con amoníaco (100 ml), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (n-hexano:EtOAc, 20:1, 10:1) para dar el compuesto **8a** (2,22 g, 1,40 mmol) como un aceite incoloro con un rendimiento del 42% y **8b** (1,00 g, 1,40 mmol) como un aceite incoloro con un rendimiento del 19% que se caracterizó de la manera siguiente.

#### 30 Compuesto 8a:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{H}}$  0,06-0,08 (m, 12H, Si-CH<sub>3</sub>), 0,87 (s, 18H, CH<sub>3</sub>), 3,59-3,65 (m, C(2')H, 1H), 3,87-3,99 (m, 3H, C(4')H<sub>a</sub>, C(3')H, C(4')H<sub>b</sub>), 5,00 (d,  $J = 1,1$  Hz, C(1')H), 5,07-5,10 (m, 1H, OH);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{C}}$  -5,14 (SiCH<sub>3</sub>), -4,92 (SiCH<sub>3</sub>), -4,65 (SiCH<sub>3</sub>), -4,38 (SiCH<sub>3</sub>), 17,66 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 17,81 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,61 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,73 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,92 (C-4'), 76,66 (C-2'), 85,58 (C-3'), 103,91 (C-1');
- masa calculada para C<sub>16</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>Na<sub>1</sub> 371,2050, detectada 371,2059.

#### Compuesto 8b:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{H}}$  0,05 (s, 6H, SiCH<sub>3</sub>), 0,06 (d,  $J_1 = 5,2$  Hz, SiCH<sub>3</sub>), 0,86 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 0,87 (s, 9H, CH<sub>3</sub>), 3,41 (dd,  $J_1 = 8,0$  Hz,  $J_2 = 3,7$  Hz, C(2')H); 3,81 (dd,  $J_1 = 5,2$  Hz,  $J_2 = 3,7$  Hz, C(3')H), 3,94-4,07 (m, 2H, C(4')H<sub>a</sub>, C(4')H<sub>b</sub>), 5,12-5,15 (m, 2H, OH, C(1')H);
- $^1\text{H}$  RMN 200 MHz (DMSO-d6 + 1D D<sub>2</sub>O)  $\delta_{\text{H}}$  0,02 (s, 6H, SiCH<sub>3</sub>), 0,04 (d,  $J_2 = 4,4$  Hz, SiCH<sub>3</sub>), 0,84 (s, 18H, CH<sub>3</sub>), 3,39 (dd,  $J_1 = 7,7$  Hz,  $J_2 = 3,6$  Hz, C(2')H); 3,79 (dd,  $J_1 = 4,4$  Hz,  $J_2 = 4,4$  Hz, C(3')H), 3,92-4,07 (m, 2H, C(4')H<sub>a</sub>, C(4')H<sub>b</sub>), 5,10 (d, 1H,  $J_2 = 3,6$  Hz, C(1')H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO-d6)  $\delta_{\text{C}}$  -4,95 (SiCH<sub>3</sub>), -4,74 (SiCH<sub>3</sub>), -4,67 (SiCH<sub>3</sub>), 17,45 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,64 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 25,79 (C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 70,80 (C-4'), 74,17 (C-2'), 79,45 (C-3'), 97,11 (C-1');
- masa calculada para C<sub>16</sub>H<sub>36</sub>O<sub>4</sub>Si<sub>2</sub>Na<sub>1</sub> 371,2050, detectada 371,2052.

1 $\alpha$ ,2-di-O-tributildimetilsilil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (**9a**) y 1 $\beta$ ,2-di-O-tributildimetilsilil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (**9b**)

A una solución de **8a** (3,41 g, 9,8 mmol) en THF anhidro (25 ml) se añadió hidruro de sodio (dispersión al 80% en aceite mineral 0,56 mg, 19,6 mmol) a  $-78^{\circ}\text{C}$ . Después se añadió gota a gota la solución del triflato de diisopropilfosfonometanol (5,80 g, 19,6 mmol) en THF anhidro (10 ml), y la mezcla de reacción se calentó lentamente a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con  $\text{NaHCO}_3$  sat. y se concentró. El residuo se repartió entre  $\text{H}_2\text{O}$  y EtOAc. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 2:1) para dar **9a** (4,75 g, 9,0 mmol, 92%) como un aceite incoloro que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  0,06-0,10 (m, 12H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0,86 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 0,87 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1,22-1,26 (m, 12H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,75 (d,  $J = 9,2$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 3,78 (d,  $J = 9,2$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 3,88-3,95 (m, 1H,  $\text{C}(3')\text{H}$ ), 3,99 (s, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 4,10 (dd,  $J_1 = 9,2$  Hz,  $J_2 = 8,6$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,52-4,68 (m, 2H, CH), 5,02 (s, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ );
- masa exacta para  $\text{C}_{23}\text{H}_{52}\text{O}_7\text{P}_1\text{Si}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  Calculada 527,2989, detectada 527,2988.

La síntesis de **9b** comenzó a partir de **8b** (2,00 g, 5,7 mmol) y siguió el mismo procedimiento que para la síntesis de **9a** a partir de **8a** dando lugar a un producto (2,7 g, 5,1 mmol, rendimiento 90%) como un aceite incoloro que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  0,08-0,11 (m, 12H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0,93 (br s, 18H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1,33 (d,  $J = 6,2$  Hz, 12H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,66-3,94 (m, 3H,  $\text{C}(4')\text{H}$ ,  $\text{PCH}_2$ ), 4,2-4,22 (m, 3H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ,  $\text{C}(3')\text{H}$ ,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,67-4,83 (m, 2H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 5,13 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ );
- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  0,06-0,93 (m, 12H,  $\text{SiCH}_3$ ), 0,87 (s, 18H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1,22-1,26 (m, 12H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,58-3,65 (m, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 3,78 (d,  $J = 9,2$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 3,96-4,08 (m, 3H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ,  $\text{C}(3')\text{H}$ ,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,51-4,67 (m, 2H,  $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 5,15 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ );
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  -5,22 ( $\text{SiCH}_3$ ), -5,07 ( $\text{SiCH}_3$ ), -4,58 ( $\text{SiCH}_3$ ), 17,88 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 23,98 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 25,62 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 25,71 ( $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 65,12 (d,  $J_{\text{P,C}} = 173,6$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 68,38 (C-4'), 70,87 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 70,96 ( $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 78,88 (C-2'), 85,68 (d,  $J_{\text{P,C}} = 12,0$  Hz, C-3'), 97,3 (C-1');
- masa calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{52}\text{O}_7\text{P}_1\text{Si}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  527,2989, detectada 527,2972.

**1 $\alpha$ ,2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (10a)** y **1 $\beta$ ,2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (10b)**

Una solución de **9a** (4,25 g, 8,1 mmol) en TFA- $\text{H}_2\text{O}$  (3:1, 20 ml) se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . A continuación, la mezcla se repartió entre el DCM (400 ml) y agua (20 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre  $\text{MgSO}_4$ , y después se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (DCM:MeOH = 20:1) para dar 3-O-diisopropilfosfonometil-L-treosa (2,20 g, 7,3 mmol) como un sólido amorfo incoloro con un rendimiento del 92%.

A la solución de 3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (687 mg, 2,3 mmol) en 100 ml de piridina se añadió gota a gota  $\text{BzCl}$  (0,67 g, 5,8 mmol) a  $0^{\circ}\text{C}$ . La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y se evaporó junto con 20 ml de tolueno dos veces al vacío. El residuo se repartió entre  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 1:1) para dar **10a** y **10b** (1,0 g, 2,0 mmol) como aceites incoloros con un rendimiento del 87% que se caracterizaron de la manera siguiente:

Compuesto **10a**:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  1,20-1,26 (m, 12H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,40-4,11 (m, 3H,  $\text{PCH}_2$ ,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 4,40-4,54 (m, 2H,  $\text{C}(3')\text{H}$ ,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,56-4,71 (m, 2H,  $\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ ), 5,51 (s, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 6,47 (s, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ ), 7,43-8,07 (m, 10H, Ar-H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta_{\text{C}}$  23,82 ( $\text{CH}_3$ ), 64,45 (d,  $J = 155,4$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 70,59 ( $\text{CH}(\text{CH}_3)$ ), 73,23 (C-4'), 80,12 (C-2'), 80,30 (C-2'), 99,78 (C-1'), 129,04 (C arom.), 129,83 (C arom.), 134,14 (C arom.), 164,61 (Bz-CO), 165,07 (Bz-CO);
- masa calculada para  $\text{C}_{25}\text{H}_{31}\text{O}_9\text{P}_1\text{Na}_1$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  529,1603, detectada 529,1601.

Ejemplo 4 - Preparación de compuestos finales

**1-(N<sup>6</sup>-benzoiladenin-9-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (11)**



A una mezcla de **10a** (425 mg, 0,83 mmol) y N<sup>6</sup>-benzoiladenina silitada (401 mg, 1,6 mmol) en MeCN anhidro (30 ml) se añadió gota a gota SnCl<sub>4</sub> (0,3 ml, 2,5 mmol) bajo N<sub>2</sub> a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 a 5 horas. A-C se inactivó la reacción con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se concentró. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O (20 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 40:1) para dar **11** (431 mg, 0,69 mmol) como un sólido amorfo incoloro con un rendimiento del 83% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,31-1,36 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 3,94 (dd, J<sub>1</sub> = 14,0 Hz, J<sub>2</sub> = 8,6 Hz, 1H, PCH<sub>a</sub>), 4,01 (dd, J<sub>1</sub> = 14,0 Hz, J<sub>2</sub> = 8,6 Hz, 1H, PCH<sub>b</sub>), 4,38 (dd, J<sub>1</sub> = 11,0 Hz, J<sub>2</sub> = 4,6 Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,50-4,52 (m, 2H, C(3')H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,73-4,80 (m, 2H, OCH), 5,08 (s, 1H, C(2')H), 6,56 (s, 1H, C(1')H), 7,48-7,65 (m, 6H, Ar-H), 8,2-8,8 (m, 4H, Ar-H), 8,50 (s, 1H, Adinie-C(8)-H), 8,82 (s, 1H, Adinie-C(2)-H), 9,07 (br s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 23,97 (CH<sub>3</sub>), 24,01 (CH<sub>3</sub>), 24,03 (CH<sub>3</sub>), 24,06 (CH<sub>3</sub>), 65,36 (J<sub>P,C</sub> = 168,9 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,45 (POCH), 71,51 (POCH), 73,55 (C-4'), 80,27 (C-2'), 83,74 (J<sub>P,C</sub> = 9,8 Hz, C-3'), 87,86 (C-1'), 122,72 (AC(5)), 127,80 (C arom.), 128,65 (C arom.), 128,67 (C arom.), 128,86 (C arom.), 129,93 (C arom.), 132,31 (C arom.), 133,99 (C arom.), 141,98 (AC(8)), 149,45 (AC(6)), 151,59 (AC(4)), 152,93 (AC(2)), 164,44 (OBz(CO)), 165,17 (NBz(CO));
- masa calculada para C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 624,2223, detectada 624,2222.

**1- (timin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (12)**

Se añadieron a un matraz seco timina (0,34 g, 2,7 mmol), sulfato de amonio (10 mg, 0,07 mmol) y 6 ml de HMDS. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche bajo nitrógeno. El HMDS se eliminó al vacío. Al matraz con residuo se añadió la solución de compuesto **10a** (0,92 g, 1,8 mmol) en 10 ml de MeCN anhidro seguido de la adición gota a gota de SnCl<sub>4</sub> (640 µl, 5,4 mmol) bajo N<sub>2</sub> a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. La reacción se inactivó con solución acuosa sat. de NaHCO<sub>3</sub> y se concentró hasta un pequeño volumen. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O (30 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 1:1) para dar **12** (0,76 g, 1,4 mmol) como un sólido amorfo incoloro con un rendimiento del 78% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,35 (d, J = 6,2 Hz, 12H, CH<sub>3</sub>), 1,99 (d, J = 1,5 Hz, 3H, T-CH<sub>3</sub>), 3,86-4,05 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,11-4,16 (m, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,26 (br t, 1H, C(3')H), 4,40 (d, J = 10,6 Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,70-4,86 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,38 (s, 1H, C(2')H), 6,29 (t, J = 2,2 Hz, 1H, C(1')H), 7,43-7,66 (m, 4H, Ar-H, TC(6)H), 8,2-8,7 (m, 2H, Ar-H), 9,13 (s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 12,42 (T-CH<sub>3</sub>), 23,83 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23,92 (CH(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>)), 64,48 (d, J<sub>P,C</sub> = 168,5 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,29 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,45 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72,72 (C-4'), 80,28 (C-2'), 83,70 (J<sub>P,C</sub> = 10,6 Hz, C-3'), 89,02 (C-1'), 111,39 (TC(5)), 128,60 (C arom.), 129,90 (C arom.), 133,84 (TC(6)), 136,12 (C arom.), 150,42 (TC(2)), 163,86 (TC(4)), 165,32 (Bz-CO);
- masa calculada para C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>O<sub>9</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 511,1845, detectada 511,1831.

**1- (uracil-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (13)**

Se añadieron a un matraz seco uracilo (0,81 g, 7,2 mmol), sulfato de amonio (10 mg, 0,07 mmol) y 20 ml de HMDS. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche bajo nitrógeno. El HMDS se eliminó al vacío. Al residuo se añadió la solución de compuesto **10a** (2,43 g, 4,8 mmol) en 50 ml de MeCN anhidro seguido de una adición gota a gota de SnCl<sub>4</sub> (1,7 ml, 14,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. La reacción se inactivó con solución acuosa sat. de NaHCO<sub>3</sub> y se concentró hasta un pequeño volumen. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O (30 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM/MeOH = 25:1) para dar **13** (2,09 g, 4,2 mmol) como un sólido amorfo incoloro con un rendimiento del 84% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>H</sub> 1,23-1,26 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 3,97 (d, J = 9,0 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,16 (dd, J<sub>1</sub> = 10,7 Hz, J<sub>2</sub> = 4,2 Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,36 (d, J = 10,7 Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,39-4,40 (m, 1H, C(3')H), 4,58-4,64 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,41 (s, 1H, C(2')H), 5,61 (d, J = 8,1 Hz, 1H, U-C(5)H), 6,02 (d, J = 2,0 Hz, 1H, C(1')H), 7,55-7,60 (m, 2H, Ar-H), 7,63 (d, J = 8,1 Hz, 1H, U-C(5)H), 7,70-7,73 (m, 1H, Ar-H), 8,2 a 8,4 (m, 2H, Ar-H), 11,4 (s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>C</sub> 23,74 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23,84 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 63,10 (d, J<sub>P,C</sub> = 168,5 Hz, PCH<sub>2</sub>), 70,53 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72,32 (C-4'), 79,83 (C-2'), 82,78 (C-3'), 89,06 (C-1'), 101,91 (U-C(5)), 128,95 (C arom.), 129,63 (C arom.), 134,07 (C arom.), 140,72 (U-C(6)), 150,39 (U-C(2)), 163,19 (U-C(4)), 164,73 (Bz-CO);

- masa calculada para  $C_{22}H_{29}N_2O_9P_1Na_1$   $[M+Na]^+$  519,1508, detectada 519,1506.

*1-(N<sup>4</sup>-acetilcitosin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (14)*

5 Se añadieron a un matraz seco N<sup>4</sup>-acetilcitosina (0,41 g, 2,7 mmol) y sulfato de amonio (10 mg, 0,07 mmol) y 6 ml de HMDS. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche bajo nitrógeno. El HMDS se eliminó al vacío. Al residuo se le añadió la solución de compuesto **10a** (0,92 g, 1,8 mmol) en 10 ml de MeCN anhidro, seguido de una adición gota a gota de cloruro estánico (640 µl, 5,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. La reacción se inactivó con solución acuosa sat. de NaHCO<sub>3</sub> y se concentró hasta un pequeño volumen. El residuo se repartió entre H<sub>2</sub>O (30 ml) y EtOAc (150 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 2:1) para dar **14** (0,51 g, 0,94 mmol) como un sólido amorfo incoloro con un rendimiento del 52% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>H</sub> 1,17-1,23 (m, 12H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,10 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3,80-4,00 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,24-4,36 (m, 2H, C(4')H<sub>a</sub>, C(3')H), 4,48-4,63 (m, 3H, C(4')H<sub>b</sub>, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,44 (s, 1H, C(2')H), 6,04 (s, 1H, C(1')H), 7,27 (d, J = 7,7 Hz, 1H, C-C(5)H), 7,54-7,77 (m, 3H, Ar-H), 8,3-8,7 (m, 3H, Ar<sub>o</sub>-H, C-C(6)H), 10,95 (s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ<sub>C</sub> 23,76 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 24,39 (Ac-CH<sub>3</sub>), 63,77 (d, J<sub>P,C</sub> = 166,4 Hz, PCH<sub>2</sub>), 70,44 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 70,59 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73,56 (C-4'), 79,75 (C-3'), 82,83 (d, J<sub>P,C</sub> = 13,7 Hz, C-3'), 90,74 (C-1'), 94,74 (C-C(5)), 128,86 (C arom.), 129,14 (C arom.), 134,07 (C arom.), 129,77 (C arom.), 134,23 (C arom.), 145,40 (C-C(6)), 154,69 (C-C(2)), 162,95 (Bz-CO), 164,77 (C-C(4)); 171,26 (Ac-CO);
- masa calculada para  $C_{24}H_{33}N_3O_9P_1$   $[M+H]^+$  538,1954, detectada 538,1956.

*1-(adenin-9-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (15)*

25 Una solución de **11** (431 mg, 0,80 mmol) en MeOH saturado con amoniaco (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 9:1) para dar el compuesto **15** (278 mg, 0,67 mmol) como un polvo blanco con un rendimiento del 84% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub> 1,21-1,26 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 3,85-3,94 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,10-4,13 (m, 2H, C(4')H<sub>a</sub>, C(3')H), 4,24-4,27 (m, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,57-4,63 (m, 3H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, C(2')H), 5,93 (d, J = 2,1 Hz, 1H, C(1')H), 6,05 (br s, 1H, OH), 7,24 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 8,15 (s, 1H, C(2)H), 8,18 (s, 1H, C(8)H);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>C</sub> 23,82 (CH<sub>3</sub>), 63,5 (J<sub>P,C</sub> = 164,6 Hz, PCH<sub>2</sub>), 70,41 (OCH), 70,53 (OCH), 71,65 (C-4'), 78,27 (C-2'), 85,62 (J<sub>P,C</sub> = 13,6 Hz, C-3'), 89,53 (C-1'), 118,79 (A-C(5)), 139,39 (A-C(8)), 149,47 (A-C(6)), 152,90 (A-C(4)), 156,24 (A-C(2));
- masa calculada para  $C_{16}H_{27}N_5O_6P_1$   $[M+H]^+$  416,1699, detectada 416,1681.

35 *1-(timin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (16)*

Una solución de **12** (715 mg, 1,7 mmol) en MeOH saturado con amoniaco (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 10:1) para dar el compuesto **16** (515 mg, 1,2 mmol) como un polvo blanco con un rendimiento del 71% que se caracterizó de la manera siguiente:

- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,27-1,33 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 1,93 (d, J = 1,7 Hz, 3H, T-CH<sub>3</sub>), 3,75 (d, J = 8,8 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,13 (br t, 1H, C(3')H), 4,24-4,31 (m, 2H, C(4')H<sub>2</sub>), 4,38 (s, 1H, C(2')H), 4,61-4,80 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,81 (s, 1H, C(1')H), 7,41 (d, J = 1,46 Hz, T-C(6)H), 10,27 (br s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 2,42 (T-CH<sub>3</sub>), 23,89 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 64,46 (d, J<sub>P,C</sub> = 168,5 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,26 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73,54 (C-4'), 78,94 (C-2'), 85,33 (d, J<sub>P,C</sub> = 10,6 Hz, C-3'), 93,12 (C-1'), 110,12 (T-C(5)), 136,40 (T-C(6)), 151,08 (T-C(2)), 164,56 (T-C(4));
- masa calculada para  $C_{16}H_{28}N_2O_8P_1$   $[M+H]^+$  407,1583, detectada 407,1568.

**1-(uracilo-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (17)**

Una solución de **13** (2,03 g, 4,0 mmol) en MeOH saturado con amoniaco (300 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1) para dar el compuesto **17** (1,52 g, 3,8 mmol) como un polvo blanco con un rendimiento del 96% que se caracterizó de la manera siguiente:

- 5
- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub> 1,19-1,25 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 3,78 (dd, J<sub>1</sub> = 13,9 Hz, J<sub>2</sub> = 9,2 Hz, PCH<sub>a</sub>), 3,85 (dd, J<sub>1</sub> = 13,9 Hz, J<sub>2</sub> = 9,2 Hz, PCH<sub>b</sub>), 3,98-4,28 (m, 4H, C(2')H, C(3')H, C(4')H<sub>2</sub>), 4,50-4,66 (m, 2H, CH(CH<sub>3</sub>)), 5,50 (d, J = 8,0 Hz, U-C(5)H), 5,66 (d, J = 1,5 Hz, OH), 5,93 (d, J = 4,4 Hz, C(1')H), 7,54 (d, J = 8,0 Hz, U-C(6)H);
  - 10 - <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>C</sub> 23,70 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23,79 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 63,29 (d, J<sub>P,C</sub> = 166,3 Hz, PCH<sub>2</sub>), 70,34 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 70,47 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72,29 (C-4'), 77,84 (C-2'), 85,23 (J<sub>P,C</sub> = 10,7 Hz, C-3'), 91,68 (C-1'), 101,12 (U-C(5)), 141,12 (U-C(6)), 150,72 (U-C(2)), 163,46 (C-C(4));
  - masa calculada para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 393,1427, detectada 393,1425.

**1-(citisin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (18)**

15 Una solución de **14** (450 mg, 0,84 mmol) en MeOH saturado con amoniaco (100 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 20:1) para dar el compuesto **18** (281 mg, 0,72 mmol) como un polvo blanco con un rendimiento del 86% que se caracterizó de la manera siguiente:

- 20
- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>H</sub> 1,18-1,25 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 3,72 (dd, J<sub>1</sub> = 13,6 Hz, J<sub>2</sub> = 8,8 Hz, PCH<sub>a</sub>), 3,84 (dd, J<sub>1</sub> = 13,6 Hz, J<sub>2</sub> = 8,8 Hz, PCH<sub>b</sub>), 3,95-4,05 (m, 3H, C(2')H, C(3')H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,25 (d, J = 9,5 Hz, C(4')H<sub>b</sub>), 4,48-4,64 (m, 2H, CH(CH<sub>3</sub>)), 5,65 (d, J = 7,6 Hz, CC(5)H), 5,70 (d, J = 1,5 Hz, OH), 5,85 (d, J = 15,4 Hz, C(1')H), 7,04 (br s, NH<sub>a</sub>), 7,14 (br s, NH<sub>b</sub>), 7,50 (d, J = 7,6 Hz, C-C(6)H);
  - 25 - <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ<sub>C</sub> 23,68 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 23,78 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 64,46 (d, J<sub>P,C</sub> = 164,8 Hz, PCH<sub>2</sub>), 70,30 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 70,42 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 72,00 (C-4'), 78,19 (C-2'), 85,66 (d, J<sub>P,C</sub> = 12,2 Hz, C-3'), 92,30 (C-1'), 93,46 (C-C(5)), 141,63 (C-C(6)), 155,47 (C-C(2)), 165,94 (C-C(4));
  - masa calculada para C<sub>15</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 392,1586, detectada 392,1577.

**1-(adenin-9-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (19)**

30 A una solución de fenil(cloro)tiocarbonato (0,25 ml, 1,8 mmol) y DMAP (426 mg, 3,5 mmol) en MeCN anhidro (25 ml) se añadió compuesto **15** (483 mg, 1,2 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH/10:1) para dar 1-(adenin-9-il)-2-O-fenoxitiocarbonilo-3-O-diisopropilfosfonometil-L-treosa como un aceite incoloro. A la solución de 1-(adenin-9-il)-2-O-fenoxitiocarbonilo-3-O-diisopropilfosfonometil-L-treosa anhidra en 50 ml de tolueno se añadió hidruro de tributilestaño (339 µl, 1,2 mmol) y AIBN (48 mg, 0,3 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 6 horas y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH/10:1) para dar el compuesto **19** (110 mg, 0,27 mmol) como un aceite incoloro con un 23% de rendimiento que se caracterizó de la manera siguiente:

- 40
- <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>H</sub> 1,27-1,34 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 2,54-2,75 (m, 2H, C(2)H<sub>2</sub>), 3,62-3,82 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,04 (dd, J<sub>1</sub> = 10,3 Hz, J<sub>2</sub> = 4,0 Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,35 (d, J = 10,3 Hz, C(4')H<sub>b</sub>), 4,43-4,48 (m, 1H, C(3')H), 4,62-4,84 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6,21 (br s, 2H, NH<sub>2</sub>), 6,47 (dd, J<sub>1</sub> = 7,2 Hz, J<sub>2</sub> = 2,7 Hz, 1H, C(1')H), 8,31 (s, 1H, A-C(2)H), 8,33 (s, 1H, AC(8)H);
  - 45 - <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ<sub>C</sub> 23,89 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38,05 (C-2'), 64,10 (d, J<sub>P,C</sub> = 169,4 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,31 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,46 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73,68 (C-4'), 80,49 (d, J<sub>P,C</sub> = 10,7 Hz, C-3'), 83,42 (C-1'), 119,50 (AC(5)), 136,63 (AC(8)), 149,73 (AC(6)), 153,07 (AC(4)), 155,62 (AC(2));
  - masa calculada para C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 400,1750, detectada 400,1740.

**1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (20)**

Este compuesto se preparó como se describe para **19**, utilizando **16** (450 mg, 1,1 mmol) como material de partida. La purificación cromatográfica en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH/10:1) dio el compuesto **20** (275 mg, 0,70 mmol) como un aceite incoloro con un rendimiento del 64% que se caracterizó de la manera siguiente:

- 5 - <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,31 (d, 6H, CH<sub>3</sub>), 1,34 (d, 6H, CH<sub>3</sub>), 1,97 (d, *J* = 1,1 Hz, 3H, T-CH<sub>3</sub>), 2,16 (d, *J* = 15,0 Hz, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,46-2,62 (m, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 3,72 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3,84 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10,6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,7 Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,29-4,37 (m, 2H, C(4')H<sub>b</sub>, C(3')H), 4,66-4,84 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6,24 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8,0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,6 Hz, 1H, C(1')H), 7,55 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H, T-C(6)H), 8,48 (s, 1H, NH);
- 10 - <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 12,45 (T-CH<sub>3</sub>), 23,92 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38,27 (C-2'), 63,99 (d, *J* = 169,2 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,26 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73,36 (C-4'), 80,23 (d, *J* = 10,5 Hz, C-3'), 84,83 (C-1'), 110,72 (TC(5)), 136,55 (TC(6)), 150,57 (TC(2)), 163,80 (TC(4));
- masa calculada para C<sub>16</sub>H<sub>27</sub>N<sub>12</sub>O<sub>7</sub>P<sub>1</sub>Na<sub>1</sub> [M+Na]<sup>+</sup> 413,1454, detectada 413,1447.

#### 1- (uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (**21**)

15 Este compuesto se preparó como se describe para **19**, utilizando **17** (1,1 g, 2,8 mmol) como material de partida. La purificación cromatográfica en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 40: 1) dio el compuesto **21** (500 mg, 1,3 mmol) como un aceite incoloro, con un rendimiento del 46%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 20 - <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,29-1,34 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 2,21 (d, *J* = 15,4, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,44-2,60 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,69 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3,86 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10,6 Hz, *J*<sub>2</sub> = 3,3 Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,30-4,38 (m, 2H, C(4')H<sub>b</sub>, C(3')H), 4,65-4,81 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,74 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, U-C(5)H), 6,21 (dd, *J*<sub>1</sub> = 8,0 Hz, *J*<sub>2</sub> = 2,0 Hz, 1H, C(1')H), 7,71 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, U-C(6)H), 9,16 (s, 1H, NH);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>P</sub> 23,98 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38,42 (C-2'), 63,86 (d, *J*<sub>P,C</sub> = 170,7 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,26 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,36 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 73,94 (C-4'), 80,11 (d, *J*<sub>P,C</sub> = 11,2 Hz, C-3'), 85,44 (C-1'), 101,95 (U-C(5)), 140,92 (U-C(6)), 150,63 (U-C(2)), 163,47 (U-C(4));
- masa calculada para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>P<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 377,1478, detectada 377,1479.

25

#### 1- (citosin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treosa (**22**)

30 A la solución de 1,2,4-triazol (662 mg, 9,6 mmol) en 15 ml de piridina se añadió oxiclورو de fósforo (223 μl, 2,4 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 10 minutos. A continuación la solución de **21** (289 mg, 0,80 mmol) se añadió a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó durante 4 horas. A continuación se burbujó gas amoníaco en la mezcla de reacción durante 1-3 horas y la mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH = 12:1) para dar el compuesto **22** (220 mg, 0,58 mmol) como una espuma incolora, con un rendimiento del 73%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 35 - <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub> 1,22-1,30 (m, 12H, CH<sub>3</sub>), 2,27 (d, *J* = 15,0, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,41-2,55 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,63 (d, *J* = 9,5 Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3,91 (dd, *J*<sub>1</sub> = 10,3, *J*<sub>2</sub> = 3,5, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,22-4,36 (m, 2H, C(4')H<sub>b</sub>, C(3')H), 4,56-4,76 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,77 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, C-C(5)H), 6,17 (dd, *J*<sub>1</sub> = 7,3, *J*<sub>2</sub> = 1,8, 1H, C(1')H), 7,67 (d, *J* = 7,3 Hz, 1H, C-C(6)H), 8,18 (s, 2H, NH<sub>2</sub>);
- <sup>13</sup>C RMN (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub> 23,80 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 38,46 (C-2'), 63,66 (d, *J*<sub>P,C</sub> = 172,2 Hz, PCH<sub>2</sub>), 71,48 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,60 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 71,75 (CH(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 74,12 (C-4'), 80,40 (d, *J*<sub>P,C</sub> = 11,2 Hz, C-3'), 86,68 (C-1'), 94,21 (C-C(5)), 141,9 (C-C(6)), 156,58 (C-C(2)), 165,83 (C-C(1));
- 40 - masa calculada para C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>P<sub>1</sub>Na<sub>1</sub> [M+H]<sup>+</sup> 376,1637, detectada 376,1638.

#### Sal sódica de 1-(adenin-9-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (**3a**)

45 A una solución de **15** (220 mg, 0,55 mmol) y Et<sub>3</sub>N (1 ml) en DCM (9 ml) se añadió bromotrimetilsilano (290 μl, 2,2 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 48 horas. La reacción se inactivó con una solución de TEAB 1,0 M. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH /2:1, 1:1, 1:2) para dar el compuesto del título enbruto. La purificación usando Sephadex DEAE A-25 con una solución de TEAB en gradiente desde 0,01 M a 0,5 M intercambios de iones por la resina Dowex-Na + ofreció **3a** (96 mg, 0,25 mmol) como un sólido incoloro, con un rendimiento del 45%, que se caracterizó como de la siguiente manera:

- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  3,54-3,62 (m, 2H,  $\text{PCH}_2$ ), 4,32-4,39 (m, 3H,  $\text{C}(4')\text{H}_2$ ,  $\text{C}(3')\text{H}$ ), 4,82 (dd,  $J_1 = 2,4$  Hz,  $J_2 = 2,0$  Hz, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 6,09 (d,  $J = 2,4$  Hz, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ ), 8,23 (s, 1H, A-C(8)H), 8,45 (s, 1H, A-C(2)H);
  - $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta_{\text{C}}$  70,1 (d,  $J_{\text{P,C}} = 164,6$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 75,38 (C-4'), 80,70 (C-2'), 87,56 ( $J_{\text{P,C}} = 9,8$  Hz, C-3'), 91,93 (C-1'), 121,21 (A-C(5)), 143,74 (A-C(8)), 151,49 (A-C(6)), 155,48 (A-C(4)), 158,30 (A-C(2));
- 5 -  $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ).  $\delta_{\text{P}}$  13,64;
- masa calculada para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_6\text{P}_1$   $[\text{M-H}]^-$  330,0603, detectada 330,0602.

*Sal sódica de 1-(timin-9-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3b)*

- Este compuesto se preparó como se describe para **3a**, utilizando **16** (220 mg, 0,58 mmol) como material de partida. El compuesto **3b** (90 mg, 0,24 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro con un rendimiento del 42%, que se caracterizó de la manera siguiente:
- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  1,89 (s, 3H, T- $\text{CH}_3$ ), 3,60-3,68 (m, 2H,  $\text{PCH}_2$ ), 4,16 (d,  $J = 4,1$  Hz, 1H,  $\text{C}(3')\text{H}$ ), 4,24 (dd,  $J_1 = 10,7$  Hz,  $J_2 = 4,1$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 4,42 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,45 (s, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 5,85 (d,  $J = 1,2$  Hz, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ ), 7,59-7,60 (m, 1H, TC(6)H);
- 15 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta_{\text{C}}$  14,28 (T- $\text{CH}_3$ ), 67,95 (d,  $J_{\text{P,C}} = 157,2$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 75,78 (C-4'), 80,17 (C-2'), 87,27 (d,  $J_{\text{P,C}} = 11,7$  Hz, C-3'), 94,22 (C-1'), 113,36 (TC(5)), 140,66 (TC(6)), 154,30 (TC(2)), 169,39 (TC(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  15,68;
  - masa calculada para  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}_1$   $[\text{M-H}]^-$  321,0488, detectada 321,0474.

20 *Sal sódica de 1-(uracil-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3c)*

- Este compuesto se preparó como se describe para **3a** utilizando **17** (200 mg, 0,53 mmol) como material de partida y TBMSBr (200 ml, 2,1 mmol). El compuesto **3c** (93 mg, 0,26 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro, con un rendimiento del 49%, que se caracterizó de la manera siguiente:
- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  3,58 a 3,67 (m, 2H,  $\text{PCH}_2$ ), 4,16 (d,  $J = 3,3$  Hz, 1H,  $\text{C}(3')\text{H}$ ), 4,26 (dd,  $J_1 = 10,7$  Hz,  $J_2 = 3,9$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 4,45 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 4,47 (s, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 5,85 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, U-C(5)H), 5,85 (s, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ ), 7,80 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H, U-C(6)H);
- 25 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  67,98 (d,  $J = 156,2$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 76,22 (C-4'), 80,09 (C-2'), 87,15 (d,  $J = 11,7$  Hz, C-3'), 94,63 (C-1'), 104,09 (U-C(5)), 145,23 (U-C(6)), 154,26 (U-C(2)), 169,22 (U-C(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  15,37;
- 30 - masa calculada para  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8\text{P}_1$   $[\text{M-H}]^-$  307,0331, detectada 307,0325.

*Sal sódica de 1-(citosin-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3d)*

- Este compuesto se preparó como se describe para **3a**, utilizando **18** (150 mg, 0,38 mmol) como material de partida. El compuesto **3d** (58 mg, 0,16 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro, con un rendimiento del 43%, que se caracterizó de la manera siguiente:
- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  3,53-3,62 (m, 2H,  $\text{PCH}_2$ ), 4,15 (d,  $J = 3,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(3')\text{H}$ ), 4,27 (dd,  $J_1 = 10,7$  Hz,  $J_2 = 3,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_a$ ), 4,42 (s, 1H,  $\text{C}(2')\text{H}$ ), 4,44 (d,  $J = 10,7$  Hz, 1H,  $\text{C}(4')\text{H}_b$ ), 5,86 (s, 1H,  $\text{C}(1')\text{H}$ ), 6,01 (d,  $J = 7,6$  Hz, CC(5)H), 7,77 (d,  $J = 7,6$  Hz, C-C(6)H);
- 35 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  68,0 (d,  $J_{\text{P,C}} = 156,2$  Hz,  $\text{PCH}_2$ ), 76,17 (C-4'), 80,13 (C-2'), 87,27 (d,  $J_{\text{P,C}} = 11,8$  Hz, C-3'), 95,16 (C-1'), 98,23 (C-C(5)), 145,04 (C-C(6)), 160,06 (C-C(2)), 168,84 (C-C(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  15,28;
  - masa calculada para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_7\text{P}_1$   $[\text{M-H}]^-$  306,0491, detectada 306,0481.

*Sal sódica de 1-(adenin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3e)*

Este compuesto se preparó como se describe para **3a**, utilizando **19** (70 mg, 0,23 mmol) como material de partida. El compuesto **3e** (38 mg, 0,11 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro, con un rendimiento del 43%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 5 -  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , 60°C)  $\delta_{\text{H}}$  2,63 (dd,  $J_1 = 15,5$  Hz,  $J_2 = 1,3$  Hz, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,75-2,81 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,55-3,64 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,09 (dd,  $J_1 = 10,0$  Hz,  $J_2 = 4,0$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,33 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 4,51 (dd,  $J_1 = 5,5$  Hz,  $J_2 = 4,5$  Hz, 1H, C(3')H), 6,39 (dd,  $J_1 = 8,0$  Hz,  $J_2 = 2,0$  Hz, 1H, C(1')H), 8,22 (s, 1H, C(2)H), 8,49 (s, 1H, C(8)H);
- 10 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  39,78 (C-2'), 68,34 (d,  $J_{\text{P,C}} = 155,2$  Hz, PCH<sub>2</sub>), 76,53 (C-4'), 82,79 (d,  $J_{\text{P,C}} = 11,9$  Hz, C-3'), 86,32 (C-1'), 121,13 (A-C(5)), 143,89 (A-C(8)), 151,33 (A-C(6)), 155,25 (A-C(4)), 158,18 (A-C(2));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  154,46;
- masa calculada para  $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_5\text{P}_1$  [M-H]<sup>-</sup> 314,0654, detectada 314,0632.

*Sal sódica de 1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3f)*

- 15 A una solución de **20** (260 mg, 0,67 mmol) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (1 ml) en DCM (25 ml) se añadió yodotrimetilsilano (0,73 ml, 5,36 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. La reacción se inactivó con una solución de TEAB 1,0 M. La mezcla se concentró, y el residuo se purificó por cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH/2:1, 1:1, 1:2) para dar **3f** en bruto. La purificación utilizando Sephadex DEAE-A-25 con una solución de TEAB en gradiente desde 0,01 M a 0,5 M e intercambios de iones por la resina Dowex- $\text{Na}^+$  ofreció **3f** (95 mg, 0,27 mmol) como un sólido incoloro, con un rendimiento del 40%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 20 -  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  1,91 (s, 3H, T-CH<sub>3</sub>), 2,29 (d,  $J = 15,4$  Hz, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,58-2,64 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,57-3,65 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3,95 (dd,  $J_1 = 10,5$  Hz,  $J_2 = 3,4$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,38-4,41 (m, 2H, C(4')H<sub>b</sub>, C(3')H), 6,20 (dd,  $J_1 = 8,3$  Hz,  $J_2 = 2,4$  Hz, 1H, C(1')H), 7,78 (d,  $J = 1,0$  Hz, 1H, TC(6)H);
- 25 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  14,50 (T-CH<sub>3</sub>), 39,62 (C-2'), 67,81 (d,  $J = 158,1$  Hz, PCH<sub>2</sub>), 76,63 (C-4'), 82,66 (d,  $J = 11,3$  Hz, C-3'), 88,41 (C-1'), 113,94 (T-(C(5))), 141,32 (T-(C(6))), 154,68 (T-(C(2))), 169,51 (TC(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  16,02;
- masa calculada para  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}_1$  [M-H]<sup>-</sup> 305,0538, detectada 305,0537.

*Sal sódica de 1-(uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3g)*

- 30 Este compuesto se preparó como se describe para **3f**, utilizando **21** (154 mg, 0,41 mmol) como material de partida y yodotrimetilsilano (0,47 ml, 3,3 mmol). El compuesto **3g** (50 mg, 0,14 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro, con un rendimiento del 34%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 35 -  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,31-2,35 (m, 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,57-2,62 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,54-3,62 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 3,97 (dd,  $J_1 = 10,5$  Hz,  $J_2 = 3,7$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,38-4,40 (m, 1H, C(3')H), 4,42 (dd,  $J_1 = 10,5$  Hz,  $J_2 = 2,0$  Hz, 1H, C(4')H<sub>b</sub>), 5,88 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, U-C(5)H), 6,21 (dd,  $J_1 = 8,2$  Hz,  $J_2 = 2,0$  Hz, 1H, C(1')H), 7,99 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H, U-C(6)H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  39,46 (C-2'), 67,56 (d,  $J = 156,9$  Hz, PCH<sub>2</sub>), 76,77 (C-4'), 82,31 (d,  $J = 13,8$  Hz, C-3'), 88,57 (C-1'), 101,45 (U-C(5)), 145,81 (U-C(6)), 169,23 (U-C(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  15,72;
- 40 - masa calculada para  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_7\text{P}_1$  [M-H]<sup>-</sup> 291,0382, detectada 291,0391.

*Sal sódica de 1-(citosin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treosa (3h)*

- 45 Este compuesto se preparó como se describe para **3f**, utilizando **22** (200 mg, 0,53 mmol) como material de partida y yodotrimetilsilano (0,6 ml, 4,2 mmol). El compuesto **3h** (130 mg, 0,38 mmol) se obtuvo como un sólido incoloro, con un rendimiento del 73%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,32 (d,  $J = 15,3$ , 1H, C(2')H<sub>a</sub>), 2,56-2,61 (m, 1H, C(2')H<sub>b</sub>), 3,52-3,61 (m, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,01 (dd,  $J_1 = 10,5$  Hz,  $J_2 = 3,6$  Hz, 1H, C(4')H<sub>a</sub>), 4,39-4,40 (m, 1H, C(3')H), 4,44 (dd,  $J_1 = 10,7$ ,  $J_2 = 1,7$  Hz, C(4')H<sub>b</sub>), 6,06 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, C-C(5)H), 6,20 (dd,  $J_1 = 7,8$  Hz,  $J_2 = 2,0$  Hz, 1H, C(1')H), 7,95 (d,  $J = 7,6$  Hz, 1H, C-C(6)H);
- 5 -  $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{C}}$  37,22 (C-2'), 64,88 (d,  $J = 157,2$  Hz, PCH<sub>2</sub>), 74,37 (C-4'), 79,99 (d,  $J = 11,7$  Hz, C-3'), 86,71 (C-1'), 95,99 (CC(5)), 143,02 (CC(6)), 157,56 (CC(2)), 169,23 (CC(4));
- $^{31}\text{P}$  RMN (500 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta_{\text{P}}$  15,96;
- masa calculada para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_6\text{P}_1$  [M-H]<sup>-</sup> 290,0535, detectada 290,0542.

#### 10 Ejemplo 5: Actividad antivírica

Se evaluaron los compuestos **3 a-h** por su potencial para inhibir la replicación del VIH en un modelo de cultivo celular para infección aguda. La estirpe (III<sub>B</sub>) del virus VIH-1 y la estirpe (ROD) del VIH-2 se obtuvieron a partir del sobrenadante de cultivo de células MT-4 infectadas con VIH-1 o VIH-2, respectivamente. El efecto inhibitor de los compuestos sobre la replicación de VIH-1 y VIH-2 se controló midiendo la viabilidad de las células MT-4 5 días después de la infección. Se determinó en paralelo la citotoxicidad de los compuestos midiendo la viabilidad de las células infectadas de forma simulada el día 5, utilizando un método colorimétrico basado en tetrazolio para determinar el número de células viables.

PMDTA (abreviatura del compuesto **3e**) presenta un valor de  $\text{CI}_{50}$  de 1,0  $\mu\text{g/ml}$  tanto contra el VIH-1 como el VIH-2. PMDTT (abreviatura del compuesto **3f**) tiene un valor de  $\text{CI}_{50}$  de 2,4  $\mu\text{g/ml}$  contra el VIH-1 y el VIH-2. No se observó citotoxicidad para PMDTA ni PMDTT en la concentración más alta ensayada (125  $\mu\text{g/ml}$ ), dando los compuestos un  $\text{IS} > 125$  (PMDTA) y  $> 50$  (PMDTT) en estos sistemas celulares. En el sistema de ensayo celular, ambos compuestos son tan activos como PMEA y PMPA, y su citotoxicidad es menor.

#### Ejemplo 6

25 Los nucleósidos **106a** y **106b** se sintetizaron a partir de (S)-6-hidroxi- $\gamma$ -butirolactona (figura 1). El grupo hidroxilo en posición 3 está protegido por benzoilación y la lactona se reduce utilizando Dibal-H en THF. El grupo hidroxilo anomérico está protegido con anhídrido acético en piridina. La base nucleotídica (N<sup>6</sup>-benzoiladenina) se introduce utilizando  $\text{SnCl}_4$  como catalizador de Lewis, dando una mezcla de compuesto **104a** y **104b** con el resto de base en configuración  $\beta$  y  $\alpha$  respectivamente.

30 La desprotección de **104a** y **104b** se realiza en una sola etapa, eliminando los grupos protectores benzoilo con amoníaco en metanol. Por último, se introduce la función fosfonato utilizando el triflato de alcohol diisopropilfosfonometílico y NaH en THF.

#### (S)- $\beta$ -benzoiloxi- $\gamma$ -butirolactona (**101**)

35 A la solución de (S)- $\beta$ -hidroxi- $\gamma$ -butirolactona (1,0 g, 9,8 mmol) en 25 ml de piridina se añadió gota a gota BzCl (1,4 ml, 12,2 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se concentró y se evaporó junto con tolueno dos veces al vacío. El residuo se repartió entre  $\text{H}_2\text{O}$  (15 ml) y EtOAc (40 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 8:1) para dar **101** (1,78 g, 8,6 mmol) como un sólido blanco, con un rendimiento del 89%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 40 -  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,76-3,08 (m, 2H, C(2')H<sub>2</sub>), 4,58-4,70 (m, 2H, C(4')H<sub>2</sub>), 5,70-5,75 (m, 1H, C(3')H), 7,49-8,07 (m, 5H, Ar-H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$  33,21 (C-2'), 68,88 (C-4'), 71,73 (C-3'), 127,24 (C arom.), 128,43 (C-arom), 132,43 (C-arom), 169,05 (Bz-CO);
- masa calculada para  $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_4\text{Na}_1$  229,0477, detectada 229,0435.

#### 45 3-O-benzoil-2-desoxi-treosa (**102**)

50 A una solución de **101** (0,780 g, 3,8 mmol) en 13 ml de THF anhidro se añadió gota a gota lentamente hidruro de diisopropilo y aluminio 1,0 M (4,7 ml, 4,7 mmol) en tolueno a -78°C. La mezcla de reacción se agitó a -78°C, y tan pronto como el material de partida se consumió completamente (TLC, 2 horas), se añadió lentamente metanol (2 ml) con el fin de interrumpir la reacción. Se retiró el baño de enfriamiento, se añadieron 15 ml de una solución acuosa saturada de tartrato sódico potásico y 25 ml de EtOAc y la mezcla se agitó vigorosamente durante 3 horas. Se

lavó la capa orgánica con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 8:2) para dar **102** (590 mg, 2,8 mmol) como un aceite incoloro, con un rendimiento del 75%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- 5 -  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,30-2,40 (m, 2H, C(2')H<sub>2</sub>), 4,05-4,36 (m, 2H, C(4')H<sub>2</sub>), 5,30-5,82 (m, 2H, C(1'+3')H), 7,40-8,07 (m, 5H, Ar-H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$  71,38, 72,63, 73,94, 74,97, 128,44 (C arom.), 129,69 (C arom.), 133,27 (C arom.), 166,44 (Bz C O);
- masa calculada para  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_4\text{Na}_1$   $[\text{M}+\text{Na}]^+$  231,0633, detectada 231,0629.

#### 10 $1\beta$ -O-acetil-3-O-benzoil-2-desoxi-treosa (**103a**) y $1\alpha$ -O-acetil-3-O-benzoil-2-desoxi-treosa (**103b**)

A la solución de **102** (150 mg, 0,72 mmol) en 6,5 ml de  $\text{Et}_3\text{N}$  se añadió gota a gota  $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$  (0,34 ml) y DMAP (8,8 mg, 0,072 mmol) a 0°C, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. Después se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice (n-hexano/EtOAc = 9:1) para dar el compuesto **103a** (117 mg, 0,47 mmol) como un aceite incoloro, con un rendimiento del 65%, y **103b** (32 mg, 0,13 mmol) como un aceite incoloro, con un rendimiento del 18%, que se caracterizaron de la manera siguiente:

Compuesto **103a** :

- 20 -  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,48-2,52 (m, 2H, C(2')H<sub>2</sub>), 4,14 (dd,  $J_1 = 10,6$  Hz,  $J_2 = 2,2$  Hz, 1H, C(4')Hb), 4,26 (dd,  $J_1 = 10,6$  Hz,  $J_2 = 4,2$  Hz, 1H, C(4')Ha), 5,61-5,65 (m 1H, C(3')H), 6,49 (t,  $J = 4,0$  Hz, 1H, C(1')H), 7,40-8,05 (m, 5H, Ar-H).

Compuesto **103b**:

- 25 -  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,07 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2,41-2,46 (m, 2H, C(2')H<sub>2</sub>), 4,22 (dd,  $J_1 = 10,6$  Hz,  $J_2 = 2,6$  Hz, 1H, C(4')Hb), 4,36 (dd,  $J_1 = 10,6$  Hz,  $J_2 = 5,2$  Hz, 1H, C(4')Ha), 5,61-5,65 (m, 1H, C(3')H), 6,40 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, C(1')H), 7,43-8,09 (m, 5H, Ar-H).

#### $1\beta$ -(N<sup>6</sup>-benzoiladenin-9-il)-3-O-benzoil-2-desoxi-treosa (**104a**) y $1\alpha$ -(N<sup>6</sup>-benzoiladenin-9-il)-3-O-benzoil-2-desoxi-treosa (**104b**)

A una mezcla de **103** (210 mg, 0,84 mmol) y N<sup>6</sup>-benzoiladenina (405 mg, 1,62 mmol) en MeCN anhidro (30 ml) se añadió gota a gota  $\text{SnCl}_4$  (0,3 ml, 2,5 mmol) bajo  $\text{N}_2$  a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 horas. A continuación se inactivó la reacción con una solución saturad. de  $\text{NHCO}_3$  y se concentró. El residuo se repartió entre  $\text{H}_2\text{O}$  (20 ml) y EtOAc (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH/40:0,5) para proporcionar una mezcla de isómeros  $\beta/\alpha$  (187 mg, 0,44 mmol) con un rendimiento del 52% que se separaron finalmente utilizando TLC de preparación y como eluyente ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH/40:1) (3 veces), que se caracterizaron de la manera siguiente:

Compuesto **104a**:

- 40 -  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,84-2,89 (m, 1H, C(2')Hb), 3,23-3,28 (m, 1H, C(2')Ha), 4,29 (d,  $J = 10,6$  Hz, 1H, C(4')Hb), 4,63 (dd,  $J_1 = 4,3$ ,  $J_2 = 10,6$  Hz, 1H, C(4')Ha), 5,92 (m, 1H, C(3')H), 6,50 (t,  $J = 6,5$  Hz, 1H, C(1')H), 7,45-8,15 (m, 10H, Ar-H);
- $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{C}}$  38,59 (C-2'), 73,43 (C-4'), 74,34 (C-3'), 85,15 (C-1'), 127,88 (C arom.), 128,45 (C arom.), 128,73 (C arom.), 129,64 (C arom.), 132,69 (C arom.), 133,40 (C arom.), 164,74 (Bz-CO), 166,00 (Bz-CO);
- masa calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4\text{Na}_1$  452,1335, detectada 452,1339.

Compuesto **104b**:

- 45 -  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,90-2,96 (m, 1H, C(2')Hb), 3,05 (d,  $J = 15,4$  Hz, 1H, C(2')Ha), 4,40 (dd,  $J_1 = 4,4$  Hz,  $J_2 = 10,0$  Hz, 1H, C(4')Hb), 4,46 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1H, C(4')Ha), 5,74 (m, 1H, C(3')H), 6,56 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H, C(1')H), 7,38-8,03 (m, 10H, Ar-H);



- $^{13}\text{C}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  38,63 (C-2'), 73,45 (C-3'), 74,80 (C-4'), 85,19 (C-1'), 127,90 (C arom.), 128,59 (C arom.), 128,76 (C arom.), 129,36 (C arom.), 132,69 (C arom.), 133,54 (C arom.), 164,67 (Bz-CO), 165,79 (Bz-CO);
- masa calculada para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4\text{Na}$  452,1335, detectada 452,1334.

5

*1 $\beta$ -(adenin-9-il)-2-desoxi-treosa (105a) y 1 $\alpha$ -(adenin-9-il)-2-desoxi-treosa (105b)*

Una solución de **104a** (90 mg, 0,21 mmol) en metanol saturado con amonio (26 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La solución se concentró a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH/9:1) para dar el compuesto **105a** (40 mg, 0,18 mmol) como un sólido blanco, con un rendimiento del 86%, que se caracterizó de la manera siguiente:

10

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,27-2,34 (m, 1H, C(2')Hb), 2,78-2,85 (m, 1H, C(2')Ha), 3,76 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, C(4')Hb), 4,21 (dd,  $J_1 = 3,6$ ,  $J_2 = 8,8$  Hz, 1H, C(4')Ha), 4,62 (s ancho, 1H, OH), 5,20 (d,  $J = 3,6$  Hz, 1H, C(3')H), 6,37 (t,  $J = 8,6$  Hz, 1H, C(1')H), 7,26 (br s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 8,14 (s, 1H, H-8), 8,30 (s, 1H, H-2).

15

El compuesto **105b** se preparó como se ha descrito para **105a** utilizando **104b** (110 mg, 0,26 mmol) como material de partida y se obtuvo (48 mg, 0,22 mmol) como un sólido blanco con un rendimiento del 86%, que se caracterizó de la manera siguiente:

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  2,23-2,30 (m, 1H, C(2')Hb), 2,63-2,71 (m, 1H, C(2')Ha), 3,90-3,93 (m, 2H, C(4')H<sub>2</sub>), 4,45 (m, 1H, OH), 5,80 (d,  $J = 4,4$  Hz, 1H, C(3')H), 6,26 (dd,  $J_1 = 2,2$  Hz,  $J_2 = 8,0$  Hz, 1H, C(1')H), 7,28 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 8,13 (s, 1H, H-8), 8,35 (s, 1H, H-2);

20

- $^{13}\text{C}$  RMN (200 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta_{\text{H}}$  38,49 (C-2'), 66,99 (C-3'), 74,04 (C-4'), 80,90 (C-1'), 137,54 (C-8), 150,19 (C-2), 153,90 (C-6).

*1 $\beta$ -(adenina-9-il)-3-(diisopropilfosfonometil)-treosa (106a) y 1 $\alpha$ -(adenina-9-il)-3-(diisopropilfosfonometil)-treosa (106b)*

25

A la solución de **105a** (50 mg, 0,23 mmol) en 5 ml de THF, que se enfrió utilizando nieve carbónica y acetona, se añadió hidruro de sodio al 80% (11,4 mg, 0,46 mmol). La mezcla se agitó durante 10 min y la solución de trifluorato fosfonato (136 mg, 0,46 mmol) en THF se dejó caer lentamente al matraz de reacción. A continuación la mezcla se calentó lentamente a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con  $\text{NaHCO}_3$  sat. y se concentró. El residuo se repartió entre  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La capa orgánica se lavó con agua y salmuera, y se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de gel de sílice ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /MeOH = 98:2) para proporcionar **106a** como un sólido blanco. El compuesto **106b** se preparó como se ha descrito para **106a** utilizando **105b** como material de partida y se obtuvo como un sólido blanco, que se caracterizó de la manera siguiente:

30

- $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta_{\text{H}}$  1,25-1,35 (m, 12H,  $\text{CH}_3$ ), 2,57-2,62 (m a, 2H, C(2)H<sub>2</sub>), 3,70 (dd,  $J_1 = 1,4$  Hz,  $J_2 = 8,8$  Hz, 2H, PCH<sub>2</sub>), 4,04 (dd,  $J_1 = 4,2$  Hz,  $J_2 = 10,4$  Hz, C(4')Ha), 4,37 (d,  $J = 10,4$  Hz, C(4')Hb), 4,47 (m, 1H, C(3')H), 4,71-4,78 (m, 2H, OCH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 5,75 (m, 2H,  $\text{NH}_2$ ), 6,47 (dd,  $J_1 = 2,7$  Hz,  $J_2 = 7,0$  Hz, C(1')H), 8,29 (s, 1H, H-8), 8,34 (s, 1H, H-2).

35

Ejemplo 7 - Incorporación de PMDTA en el ADN utilizando la transcriptasa inversa

40

La actividad antivírica de los fosfonato nucleósidos de la invención puede explicarse principalmente por su metabolización intracelular en sus difosfatos (en lo sucesivo denominados pp), seguido de incorporación en el genoma vírico y en la terminación de la cadena. Los inventores utilizaron un ensayo de cebador/ampliación con el fin de comparar la capacidad de la transcriptasa inversa del VIH y de la ADN polimerasa- $\alpha$  humana para aceptar PMDTApp (véase la figura 15) como sustrato en comparación con desoxiadenosin-trifosfato (en lo sucesivo denominado dATP). Esto proporcionará información adecuada sobre la selectividad del compuesto anti-VIH de la invención ya que la ADN polimerasa- $\alpha$  humana es principalmente involucrada en la replicación del genoma nuclear, mientras que la transcriptasa inversa del VIH desempeña una función clave en la replicación del genoma vírico.

45

50

El siguiente estudio de incorporación se efectuó con una plantilla de ADN y un cebador de ADN, como ADN polimerasa- $\alpha$  y la transcriptasa inversa son ambos capaces de sintetizar ADN bicatenario (aunque la transcriptasa inversa también es capaz de sintetizar una cadena de ADN utilizando ARN como plantilla). Ambas enzimas fueron capaces de ampliar un cebador de ADN con el fosfonato nucleótido, pero el nucleótido modificado fue sólo un sustrato muy malo para la ADN polimerasa  $\alpha$  humana. Sólo una alta concentración de enzima (0,4 U/ $\mu\text{l}$ ) dio lugar a

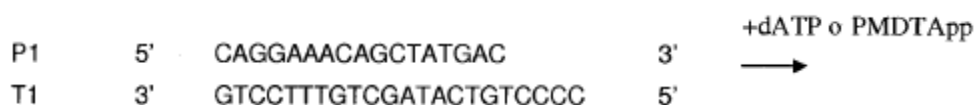
la incorporación de PMDApp, es decir, una concentración de más de 100 veces superior a la concentración utilizada para incorporar el sustrato dATP natural.

La transcriptasa inversa del VIH, por otro lado, aceptó PMDApp tan fácilmente como el bloque de construcción natural. Estos resultados de los ensayos de cebador/ampliación fueron confirmados por los siguientes datos cinéticos.

La determinación de valores de  $K_m$  y  $K_{cat}$  para la incorporación de dATP y PMDApp en un híbrido de ADN se llevó a cabo en condiciones de estado estacionario como las descritas por Creighton *et al.* en *Methods in Enzymology* (1995) 262:232-256. En cada determinación se utilizaron ocho concentraciones de sustrato diferentes en el intervalo de 0,1 a 12,5 mM. Los resultados dados a continuación son la media de tres determinaciones independientes. La mezcla de reacción contenía complejo cebador/plantilla 250 nM 0,025 U/ $\mu$ l de transcriptasa inversa del VIH, y los trifosfato nucleótidos que deben incorporarse (dATP y PMDApp, respectivamente). La secuencia de la plantilla y la secuencia del cebador utilizado en este experimento se muestran a continuación. La reacción se interrumpió después de 1, 2 y 3 minutos añadiendo un volumen doble de solución de terminación (90% de formamida, 0,05% de azul de bromofenol, 0,05% de xileno cianol y EDTA 50 mM). Las muestras se analizaron por electroforesis en gel en un gel de poliacrilamida urea al 16% en tampón TBE (Tris-borato 89 mM, tampón de EDTA 2 mM, pH 8,3) después de calentar las muestras durante 5 minutos a 70°C. Los productos se visualizaron por radioluminografía. La cantidad de radiactividad en las bandas correspondientes a los productos de las reacciones enzimáticas se determinó utilizando el Optiquant Image Analysis Software (Packard). Las curvas de velocidad se determinaron utilizando el programa informático GraphPad Prism®.

Los resultados de este experimento se muestran en la tabla siguiente. Estos datos muestran, para la incorporación de PMDApp por la transcriptasa inversa del VIH, un pequeño aumento en el valor de  $K_m$ , pero también un ligero aumento en el valor de  $k_{cat}$ , en comparación con dATP. Esto indica que, aunque la afinidad de la enzima por el fosfonato nucleótido de la invención puede ser ligeramente inferior, la eficacia catalítica global difiere sólo por un factor de 2,5.

Como PMDApp era dicho mal sustrato para la ADN polimerasa- $\alpha$ , los parámetros cinéticos no se pudieron determinarse en condiciones de estado estacionario.



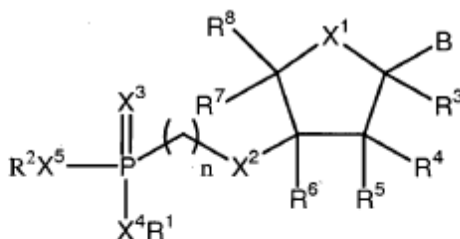
TABLA

| $K_m$ (en $\mu$ M) | $K_{cat}$ (en $\text{min}^{-1}$ ) | $K_{cat}/K_m$ (en $\text{min}^{-1}, \text{M}^{-1}$ ) |      |
|--------------------|-----------------------------------|--|------|
| dATP               | 0,10                              | 0,66   | 6,6  |
| PMDApp             | 0,29                              | 0,79   | 2,72 |

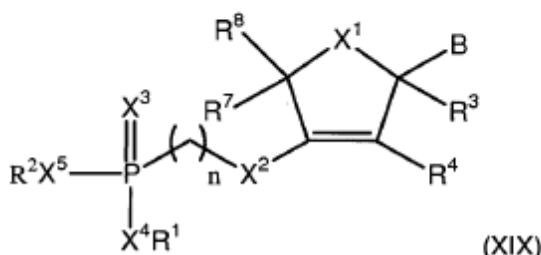
Estos datos demuestran que PMDApp puede incorporarse en el ADN, funcionando como un terminador de cadena. A continuación, se construyó un modelo con objeto de analizar las interacciones entre el nucleótido incorporado y la transcriptasa inversa. Por lo tanto el nucleósido fosfonato de adenina se construyó en el extremo 3' del cebador y se emparejó con un nucleótido timidina en la cadena de la plantilla. Este modelo puso de manifiesto que el anillo de azúcar se pliega en la configuración C3'-endo. Las interacciones hidrófobas entre el nucleótido fosfonato y la transcriptasa inversa se están produciendo en Leu74, Tyr115 y Gln151, mientras que no cabe esperar que ocurra ningún impedimento estérico con Met184 durante la translocación. Este modelo visualiza los resultados experimentales del estudio de incorporación de PMDApp en el ADN utilizando transcriptasa inversa.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que incluye una base nucleotídica heterocíclica unida a un primer átomo de carbono de un grupo heterocíclico saturado o monoinsaturado de cinco eslabones, opcionalmente sustituido, seleccionado de entre tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, dihidrofuranilo y dihidrotienilo y que además incluye un grupo fosfonoalcoxi o fosfonotioalquilo unido a un segundo átomo de carbono de dicho grupo heterocíclico saturado o monoinsaturado de cinco eslabones, estando dicho primer átomo de carbono adyacente al heteroátomo de dicho grupo heterocíclico saturado o monoinsaturado de cinco eslabones, y no estando dicho segundo átomo de carbono adyacente ni al heteroátomo ni al primer átomo de carbono de dicho grupo heterocíclico saturado o monoinsaturado de cinco eslabones, estando representado dicho compuesto por una de las fórmulas generales (II) y (XIX):



(II), y



(XIX)

- 10 en donde:
- $X^1$ ,  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$  y  $X^5$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en oxígeno y azufre,
  - B es una base nucleotídica heterocíclica natural o sintética,
  - $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno;  $(-PO_3R^{16})_m-$   
 15  $PO_3R^{17}R^{18}$ , alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; heterocíclico; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; aciloxialquenilo; aciloxialquinilo; aciloxiarilo; aciloxiarilalquilo; aciloxiarilalquenilo; aciloxi-arilalquinilo; dialquilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilalquencilcarbonato; alquilalquencilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilarilcarbonato; alquilarilcarbonato; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente de entre el grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
  - $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, azido, halógeno, ciano, alquilo, alquenilo, alquinilo,  $SR^{14}$  y  $OR^{14}$ ;
  - $R^7$  y  $R^8$  son ambos hidrógeno;
  - $R^{14}$  se selecciona de entre hidrógeno; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; heterocíclico; arilalquilo; alquilo heterocíclico; aciloxialquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;
  - $R^{16}$ ,  $R^{17}$  y  $R^{18}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno; alquilo; alquenilo; alquinilo; cicloalquilo; cicloalquenilo; cicloalquinilo; arilo; arilalquilo; anillo heterocíclico; anillo alquílico heterocíclico; aciloxi-alquilo; en donde dichos alquilo, alquenilo y alquinilo contienen opcionalmente uno o más

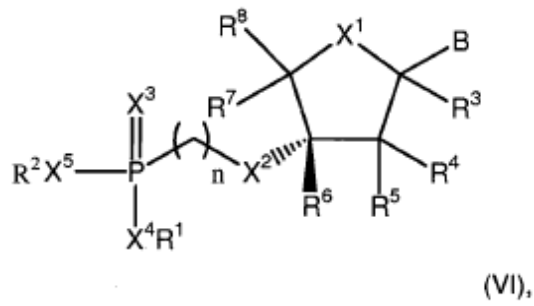
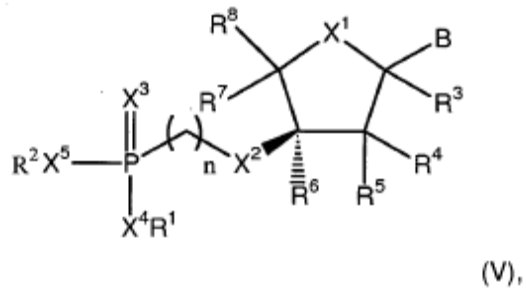
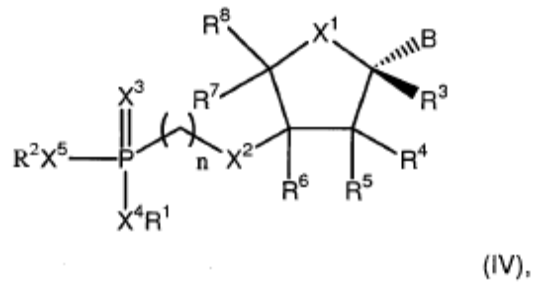
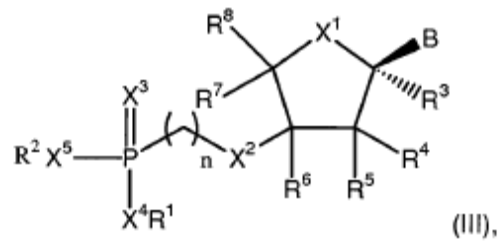
heteroátomos en la cadena de hidrocarburo o al final de la misma, seleccionándose dichos heteroátomos independientemente del grupo que consiste en oxígeno, azufre y nitrógeno;

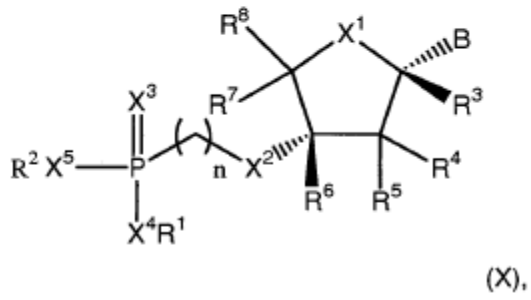
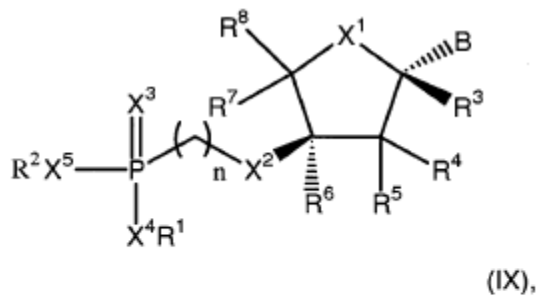
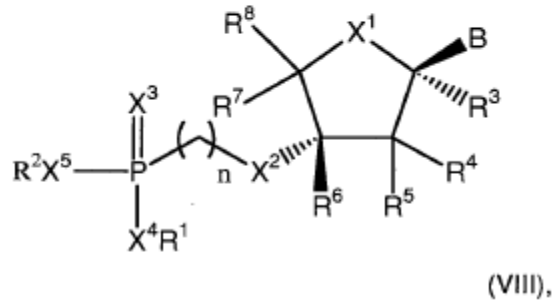
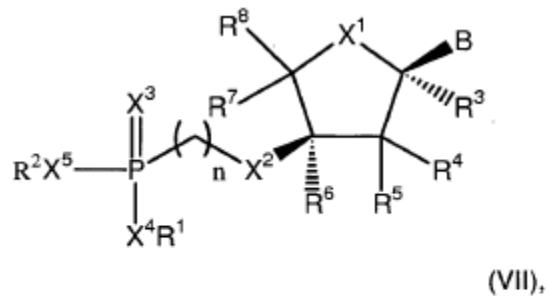
- 5 -  $X^4$  y  $R^1$ , o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un resto de aminoácido o polipéptido en donde una función carboxilo de dicho resto de aminoácido que está a una distancia del nitrógeno del amidato no mayor que 5 átomos está esterificada;
- $X^4$  y  $R^1$  o  $X^5$  y  $R^2$  pueden formar juntos un grupo que tiene la fórmula  $-OC(R^9)_2OC(O)Y(R^{10})_a$  en donde  $Y = N$  u  $O$ ,  $a = 1$  cuando  $Y$  es  $O$  y  $a = 1$  o  $2$  cuando  $Y$  es  $N$ ;
- 10 -  $R^9$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo o alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro y  $OR^{14}$ ;
- 15 -  $R^{10}$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, arilo, alquenilo, alquinilo, alquenilarilo, alquinilarilo y alquilarilo, en donde cada uno de dichos grupos alquilo, alquenilo, alquinilo y arilo está opcionalmente sustituido con uno o más átomos o grupos seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, azido, nitro,  $OR^{14}$  y  $NR^{11}R^{12}$ ;
- $R^{11}$  y  $R^{12}$  se seleccionan cada uno independientemente de entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo, con tal que al menos uno de  $R^{11}$  y  $R^{12}$  no sea hidrógeno;
- 20 -  $n$  es un número entero que representa el número de grupos metileno entre  $X_2$  y  $P$ , estando cada uno de dichos grupos metileno opcional e independientemente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, hidroxilo, sulfhidrilo y alquilo  $C_{1-4}$ , y seleccionándose  $n$  de entre 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y
- $m$  es 0 o 1,

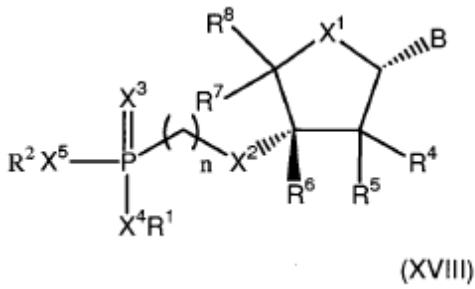
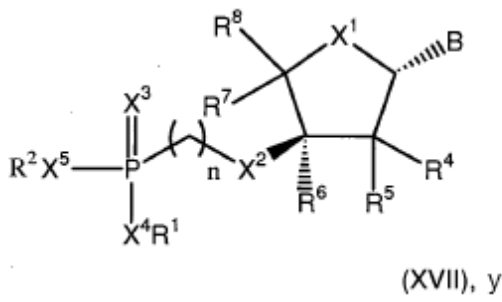
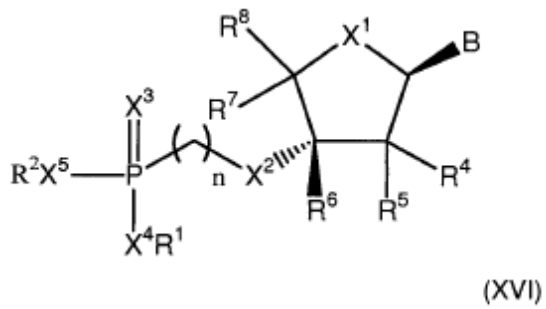
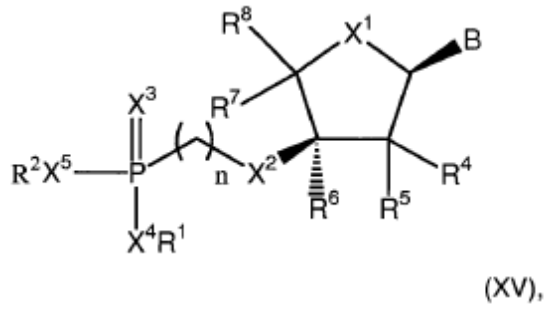
incluidos sus sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, que está representado por una de las fórmulas generales (III) a (XVIII):

25

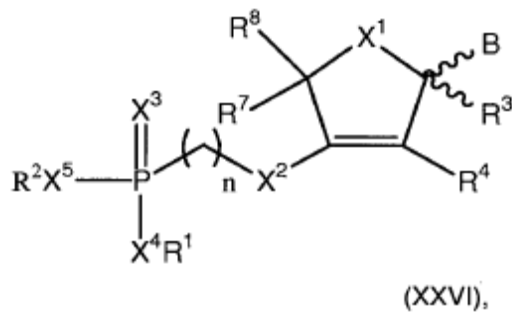
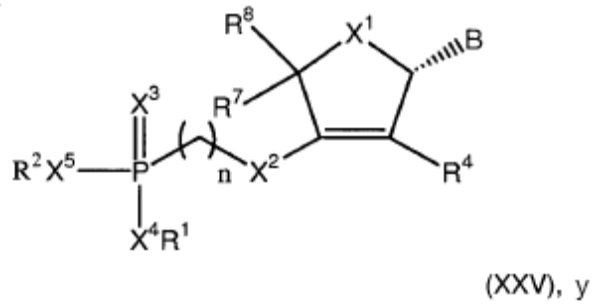
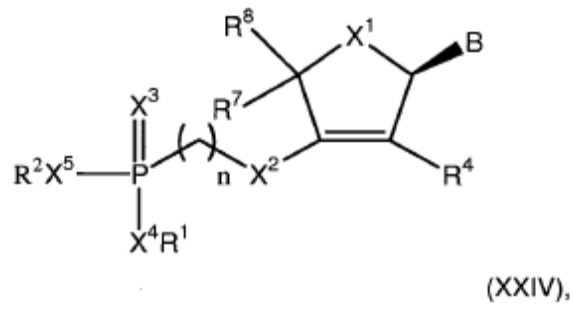
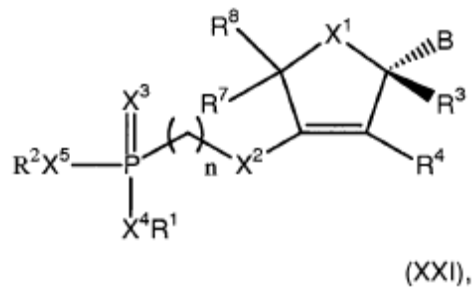
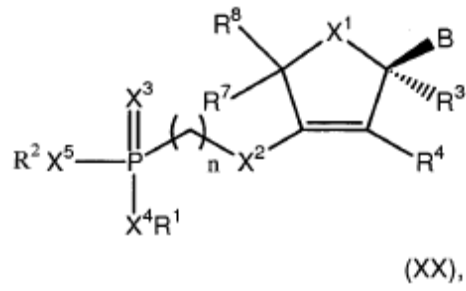






en donde n, m, B, X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup>, X<sup>5</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> se definen como en la fórmula (II), incluidas sus sales, solvatos, y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

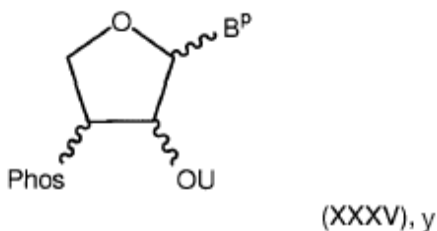
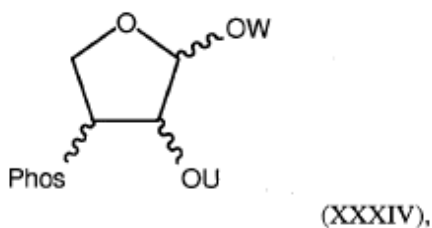
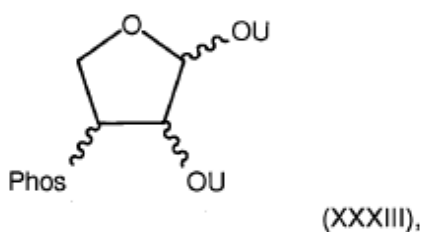
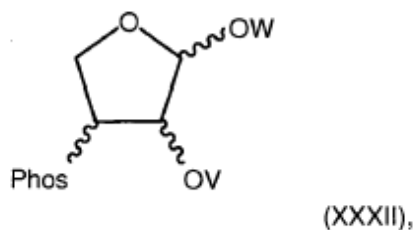
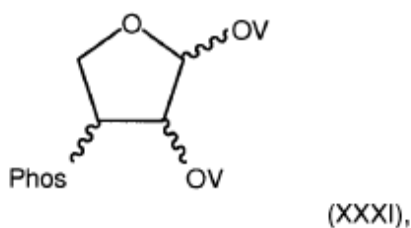
5 3. Un compuesto según la reivindicación 1, que está representado por cualquiera de las siguientes fórmulas (XX) a (XXVI):

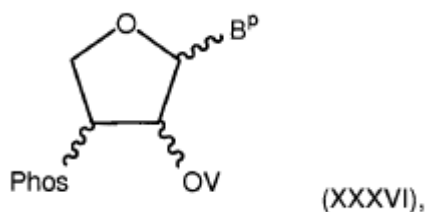


en donde n, m, B, X<sup>1</sup>, X<sup>2</sup>, X<sup>3</sup>, X<sup>4</sup>, X<sup>5</sup>, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup>, R<sup>11</sup>, R<sup>12</sup>, R<sup>14</sup>, R<sup>16</sup>, R<sup>17</sup> y R<sup>18</sup> se definen como en la fórmula (II), incluidas sus sales, solvatos, y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.



4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde B se selecciona del grupo que consiste en hipoxantina, guanina, adenina, citosina, timina, uracilo, xantina, derivados 8-aza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina, inosina y xantina; derivados 7-desaza-8-aza de adenina, guanina, 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 1-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 7-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; derivados 3-desaza de 2-aminopurina, 2,6-diaminopurina, 2-amino-6-cloropurina, hipoxantina y xantina; 6-azacitosina; 5-fluorocitosina; 5-clorocitosina; 5-yodocitosina; 5-bromocitosina; 5-metilcitosina; 5-bromoviniluracilo; 5-fluorouracilo; 5-clorouracilo; 5-yodouracilo; 5-bromouracilo; 5-trifluorometiluracilo; 5- metoximetiluracilo; 5-etiniluracilo y 5-propiniluracilo.
5. Un compuesto representado por una de las siguientes fórmulas generales (XXXI) a (XXXVI):





en donde:

- U es un grupo acilo,
  - V es un grupo sililo,
- 5
- W es un grupo alquilo,
  - el símbolo serpenteado significa cualquier disposición estereoquímica del enlace respectivo,
  - B<sup>p</sup> es una base nucleotídica heterocíclica opcionalmente protegida, y
  - Phos es un grupo fosfonoalcoxi o fosfonotioalquilo protegido con O.
6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R<sup>3</sup> es hidrógeno.
- 10 7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que se selecciona del grupo que consiste en:
- 1-(N<sup>6</sup>-benzoadenin-9-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**11**);
  - 1-(timin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**12**);
  - 1-(uracil-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**13**);
  - 1-(N<sup>4</sup>-acetilcitosin-1-il)-2-O-benzoil-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**14**);
- 15
- 1-(adenin-9-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**15**);
  - 1-(timin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**16**);
  - 1-(uracil-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**17**);
  - 1-(citosin-1-il)-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-treofuranosa (**18**);
  - 1-(adenin-9-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa (**19**);
- 20
- 1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa (**20**);
  - 1-(uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa (**21**);
  - 1-(citosin-1-il)-2-desoxi-3-O-(diisopropilfosfonometil)-L-trefuranosa (**22**);
  - sal sódica de 1-(adenin-9-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3a**);
  - sal sódica de 1-(timin-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3b**);
- 25
- sal sódica de 1-(uracil-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3c**);
  - sal sódica de 1-(citosin-1-il)-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3d**);
  - sal sódica de 1-(adenin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3e**);
  - sal sódica de 1-(timin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3f**);
  - sal sódica de 1-(uracil-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3g**);
- 30
- sal sódica de 1-(cytidin-1-il)-2-desoxi-3-O-(fosfonometil)-L-treofuranosa (**3h**),
- una sal, un estereoisómero o un solvato del mismo, farmacéuticamente aceptable.

8. La utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la preparación de un medicamento destinado a la prevención o tratamiento de una infección vírica en un mamífero.
9. La utilización según la reivindicación 8, en donde dicha infección vírica es una infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).
- 5 10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 como principio activo en mezcla con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable.
11. Una composición farmacéutica según la reivindicación 10, en donde dicho principio activo está en una concentración de al menos 0,1% en peso y como máximo 20% en peso de dicha composición.
- 10 12. Una composición farmacéutica según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, que comprende además un agente antivírico.
13. Una composición farmacéutica según la reivindicación 12, en donde dicho agente antivírico es un inhibidor enzimático retrovírico.
14. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su utilización en el tratamiento o prevención de una infección vírica en un mamífero.
- 15 15. Un compuesto para usar según la reivindicación 14, en donde dicha infección vírica es una infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

Figura 1

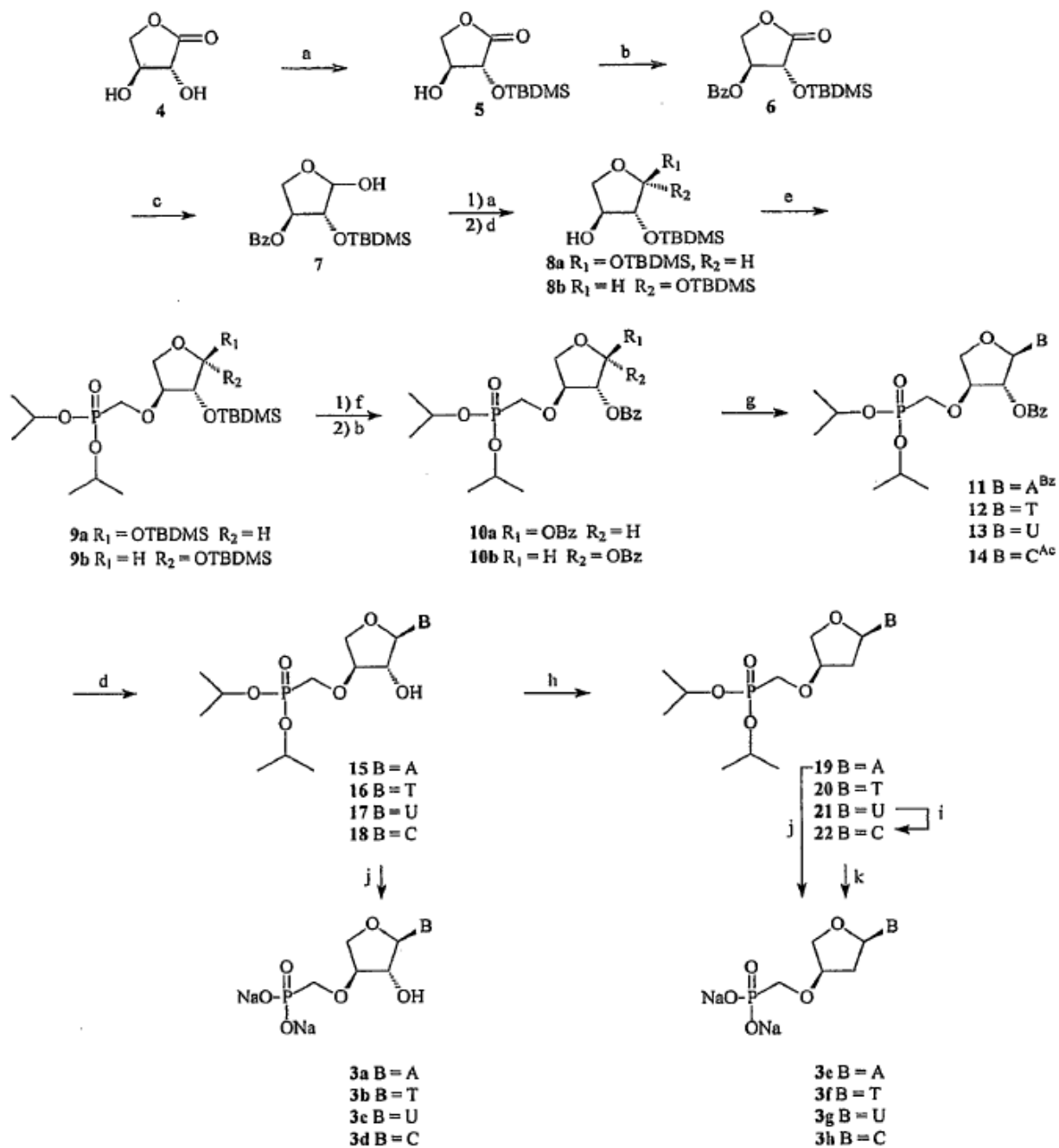


Figura 2

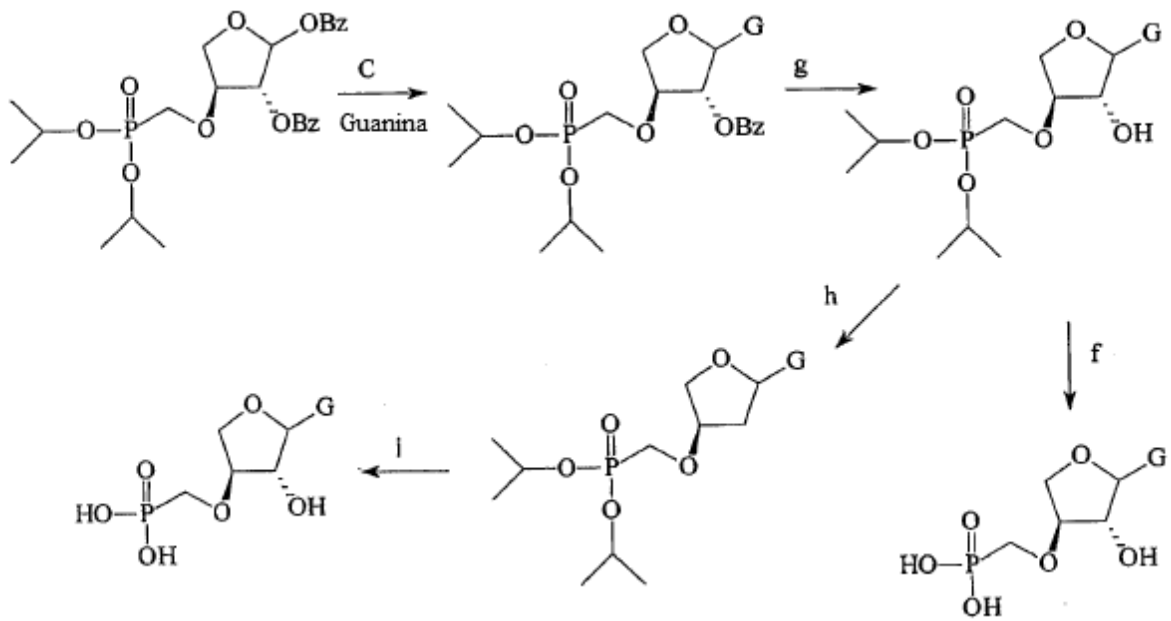


Figura 3

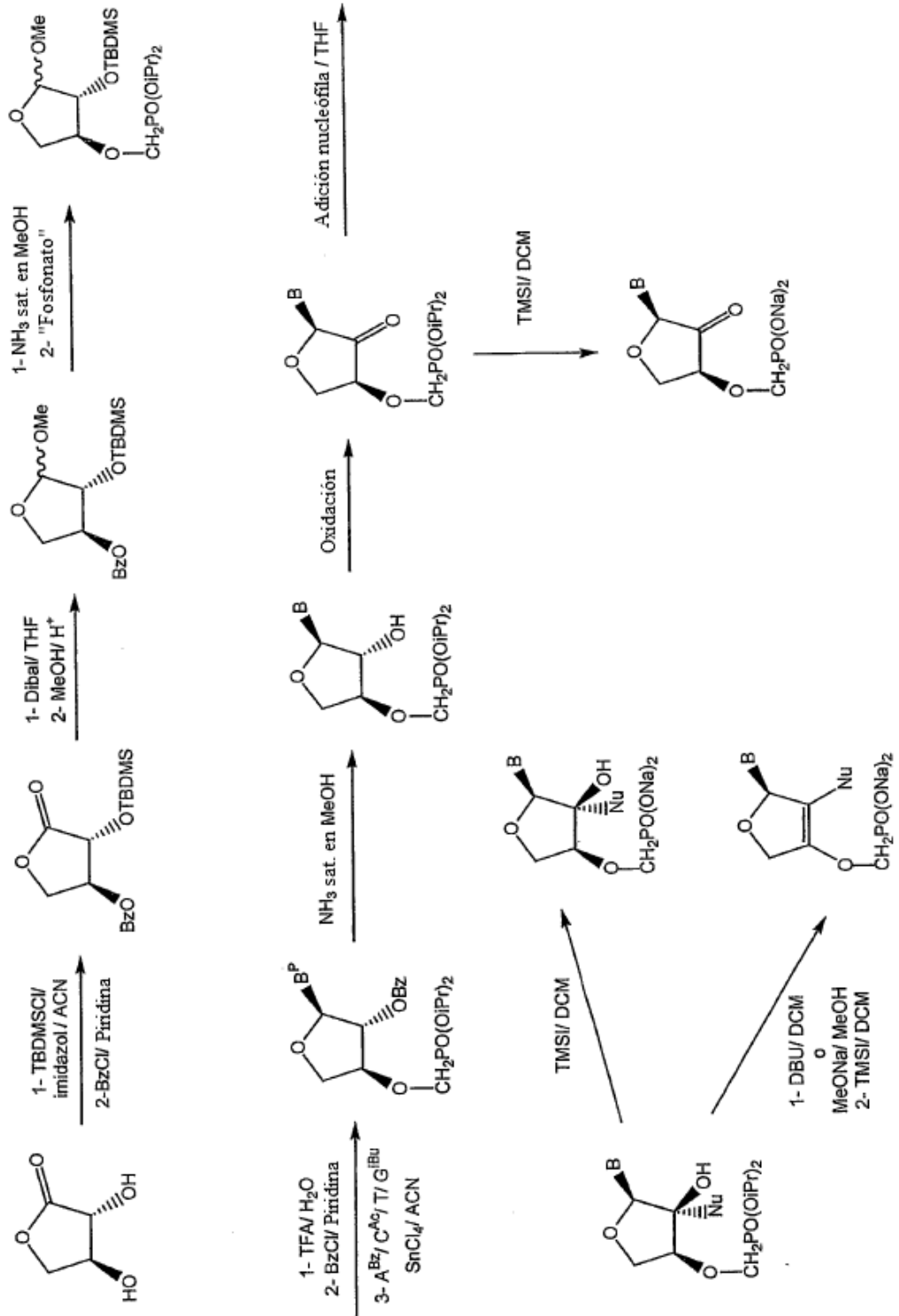


Figura 4

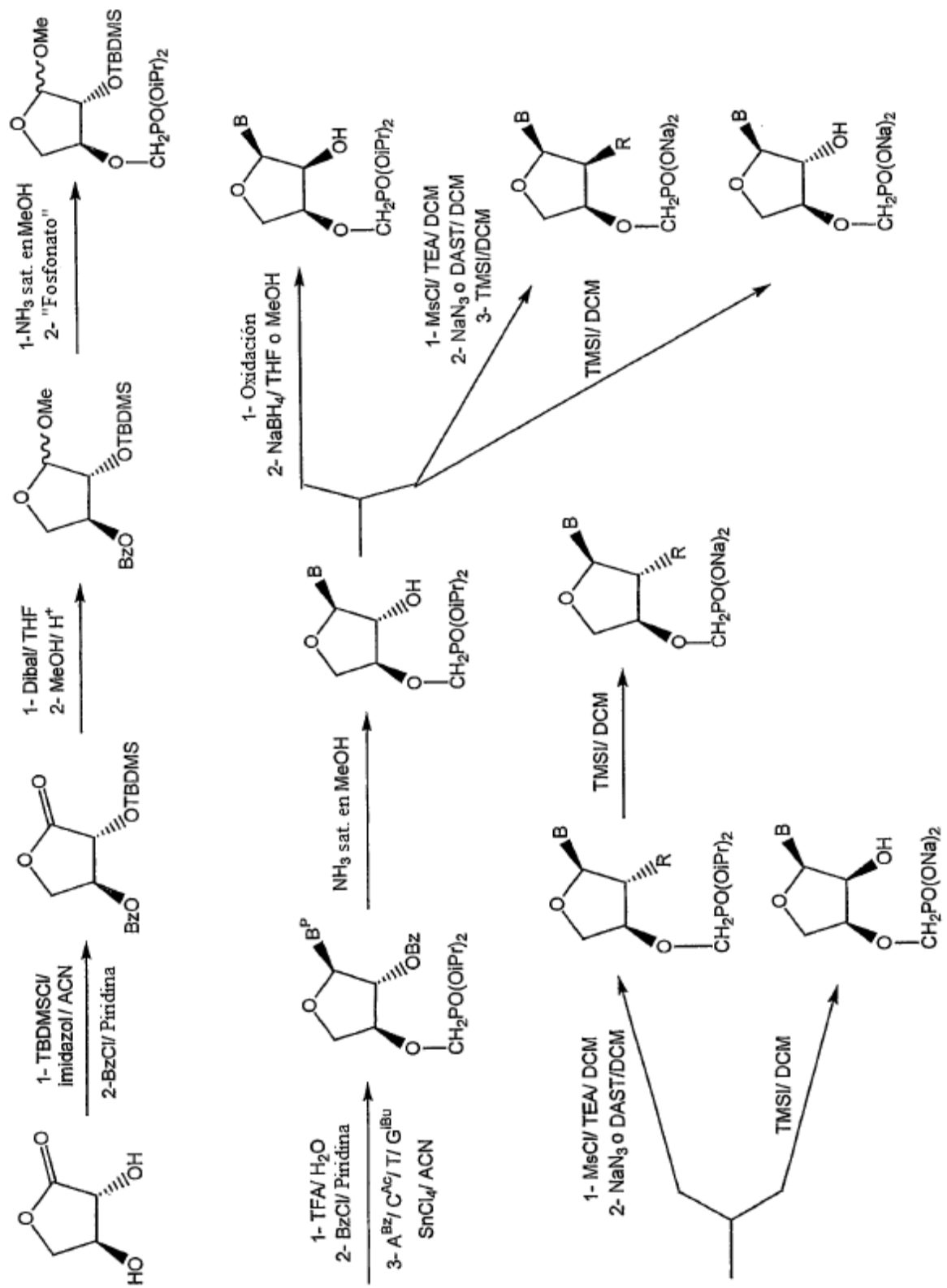


Figura 5

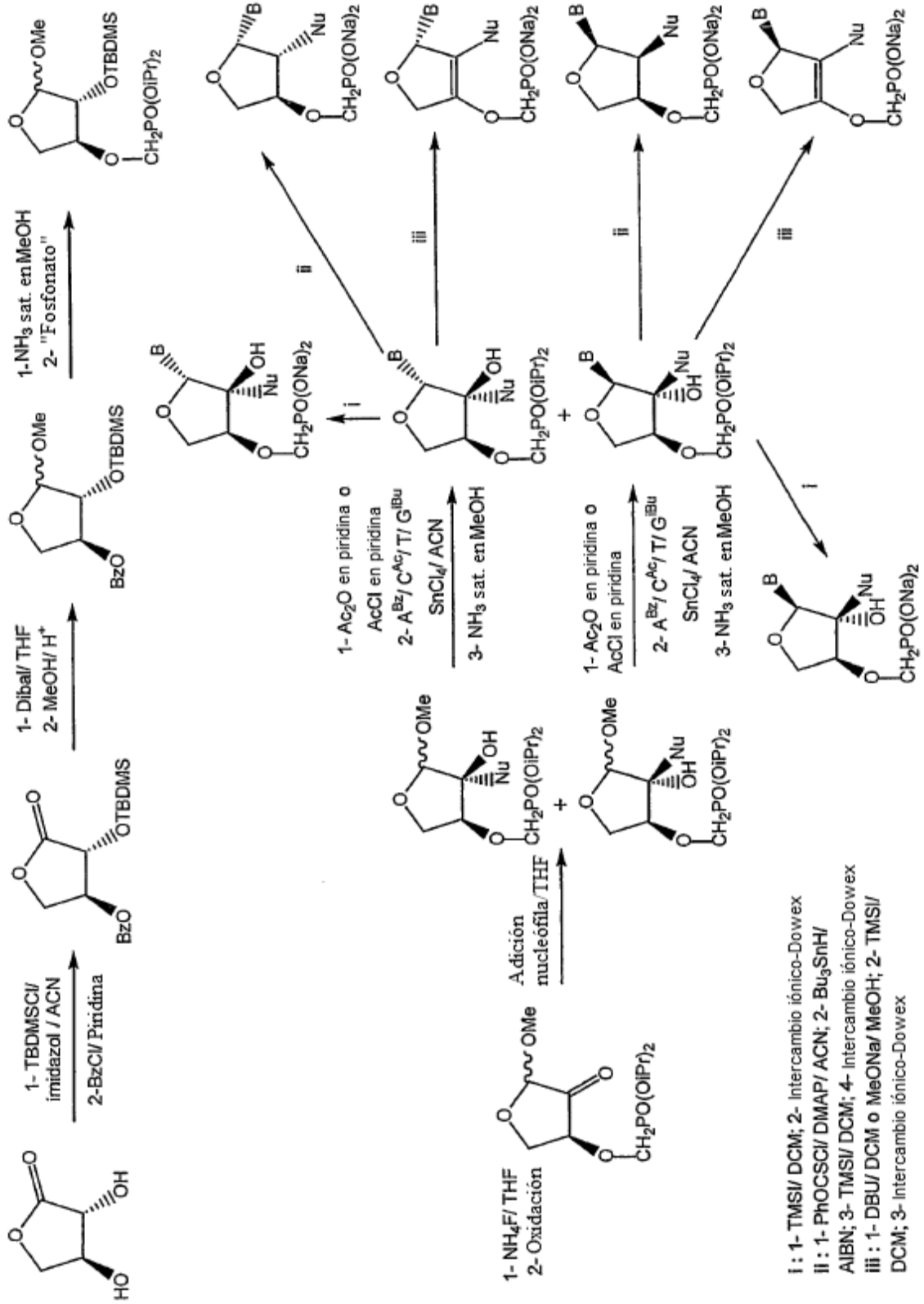






Figura 7

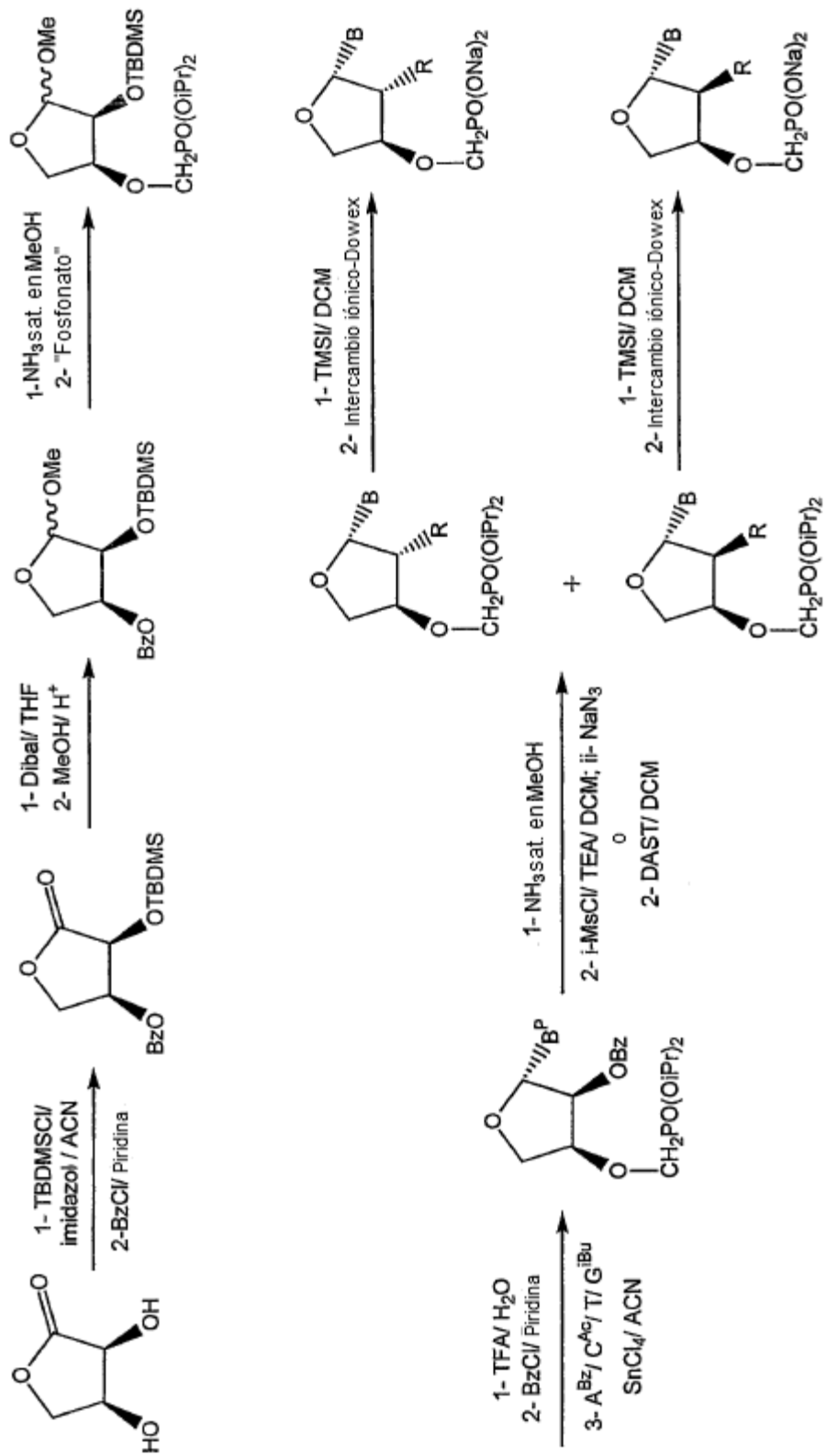


Figura 8

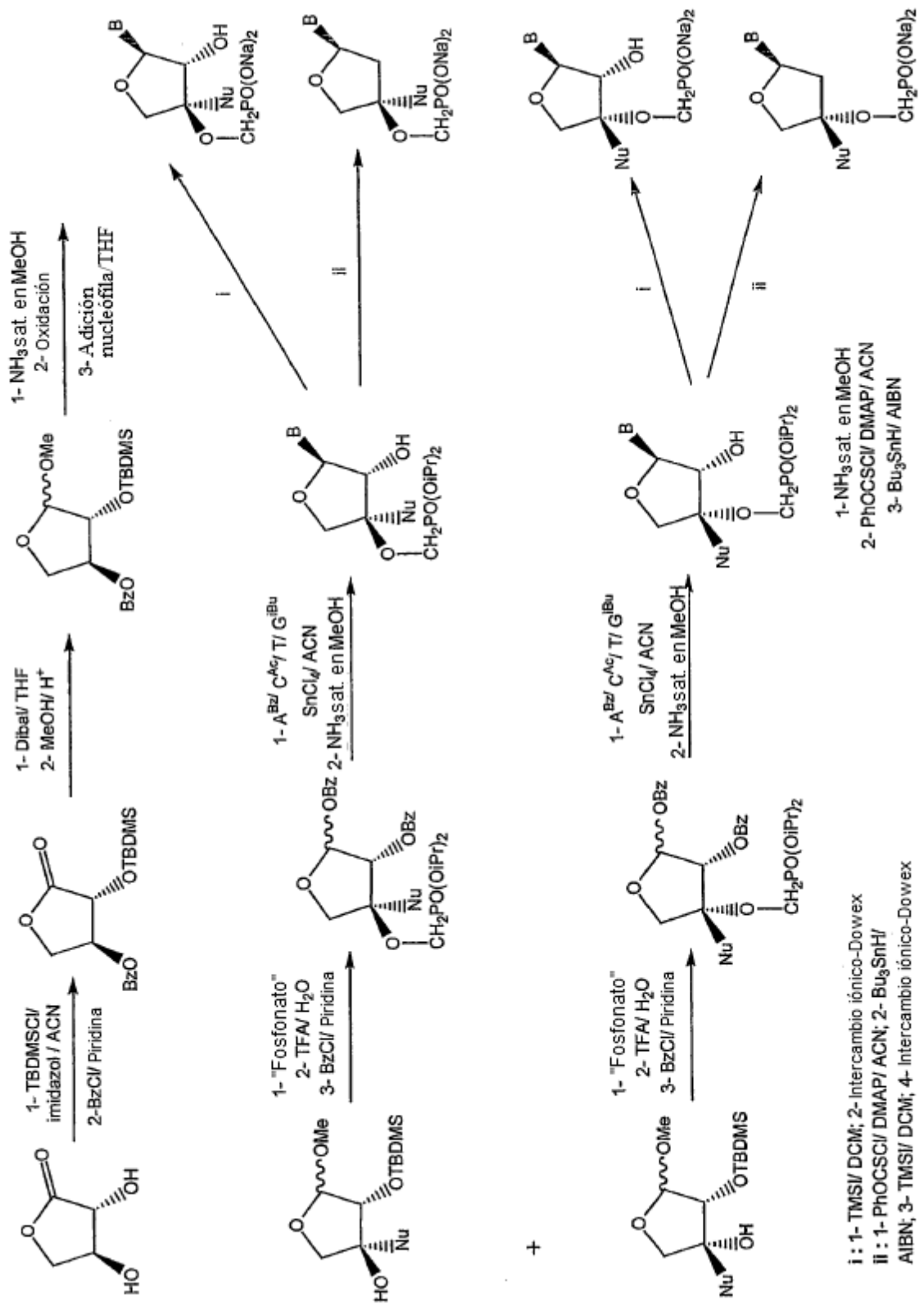


Figura 9

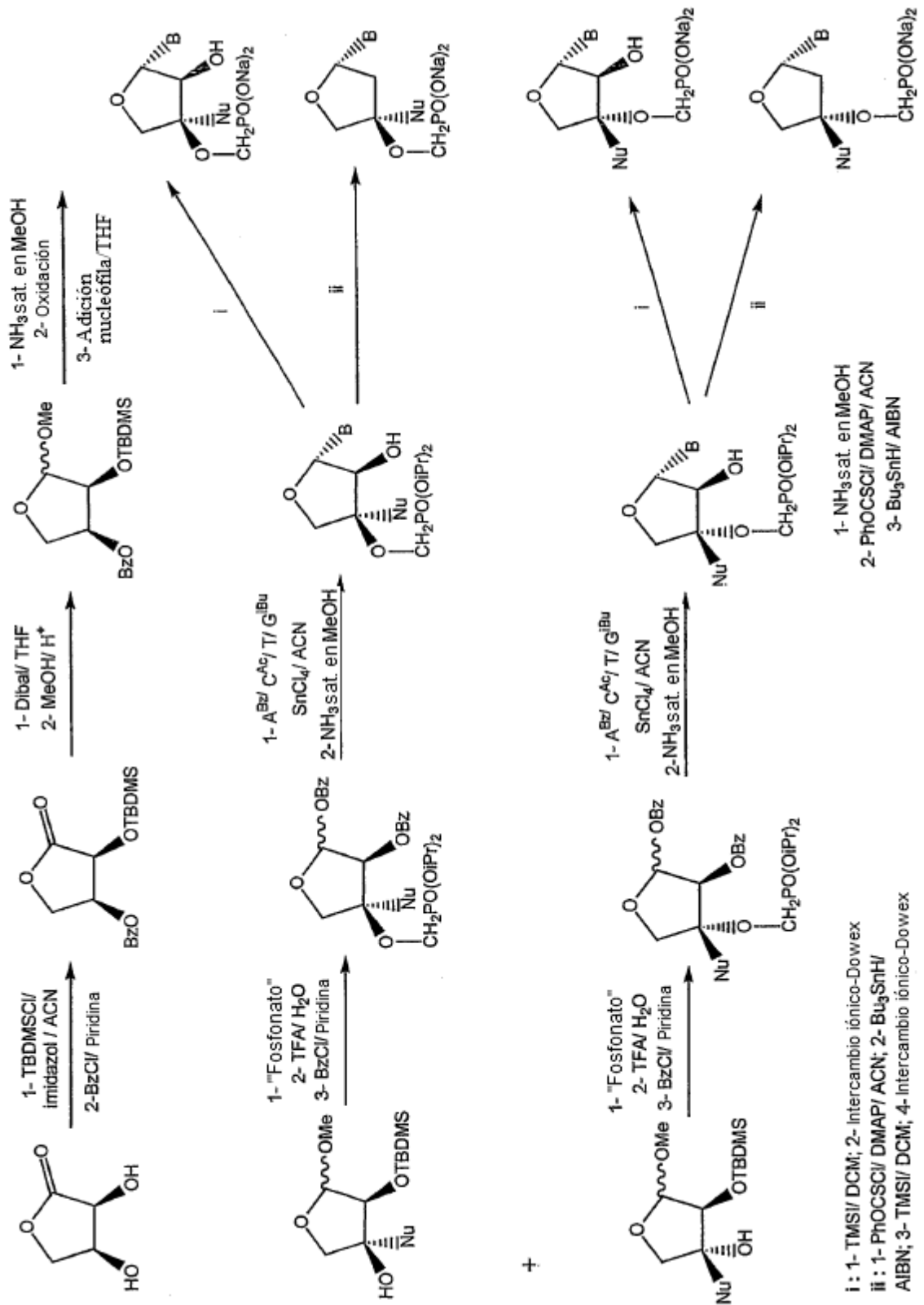


Figura 10

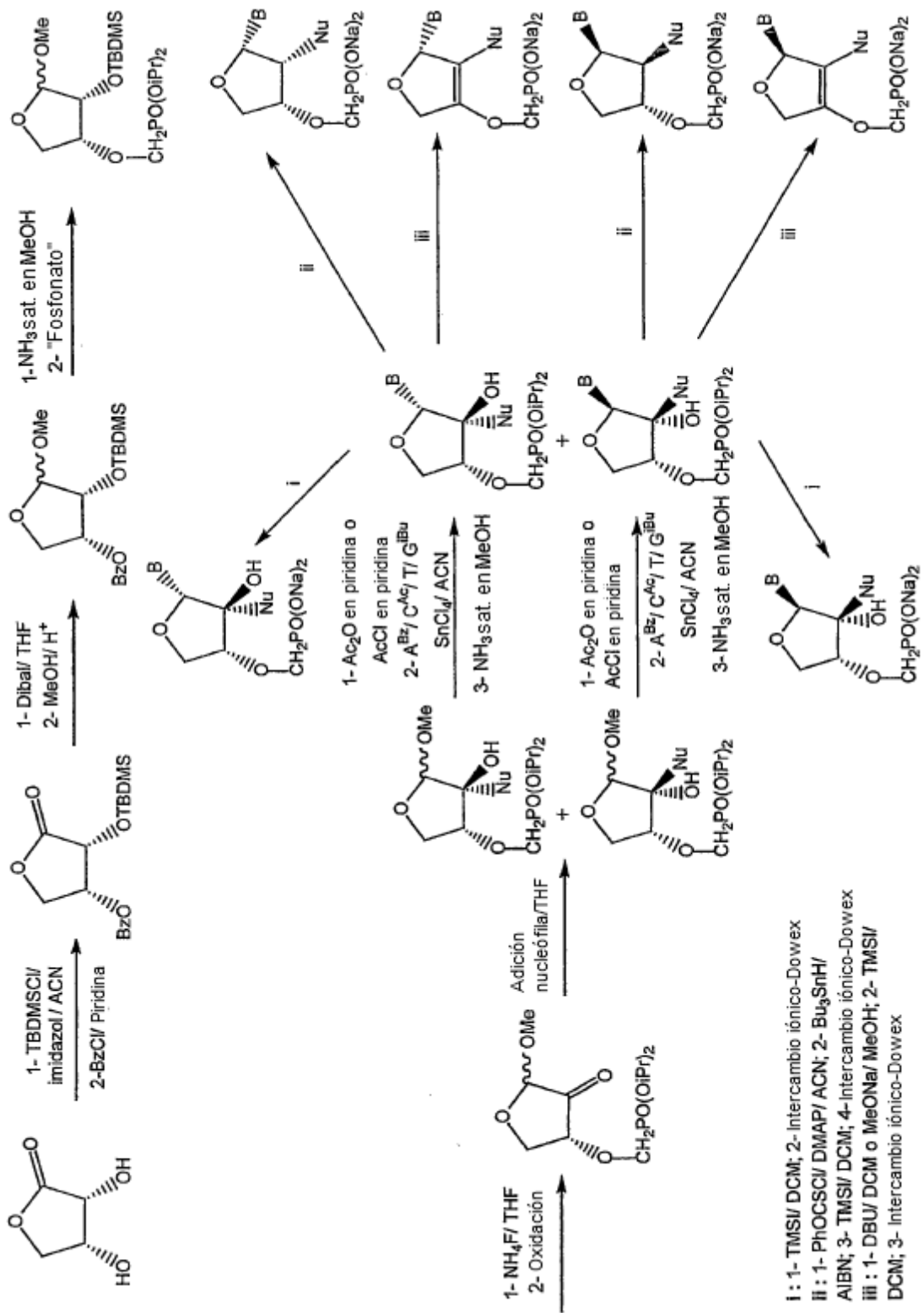


Figura 11

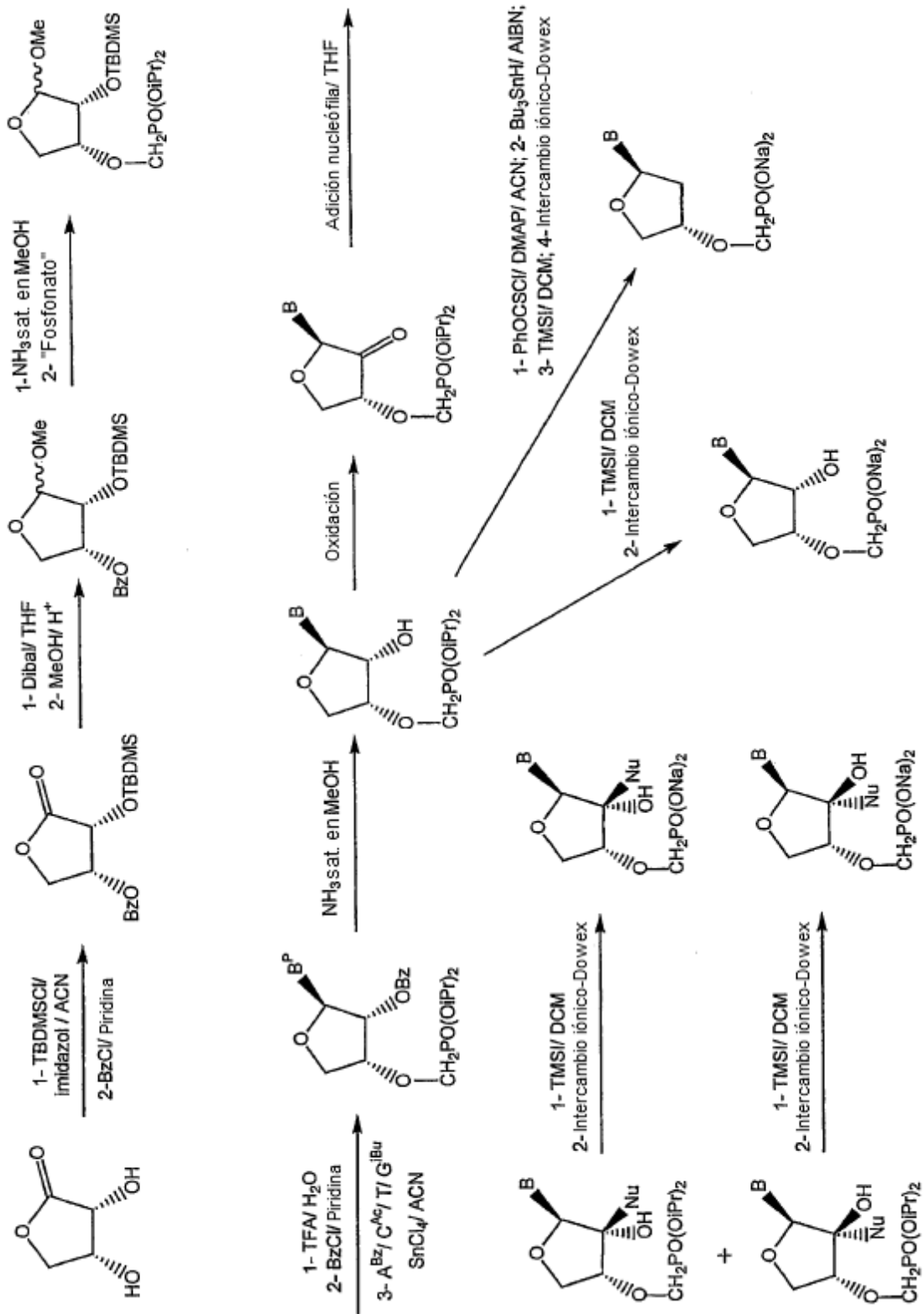


Figura 12

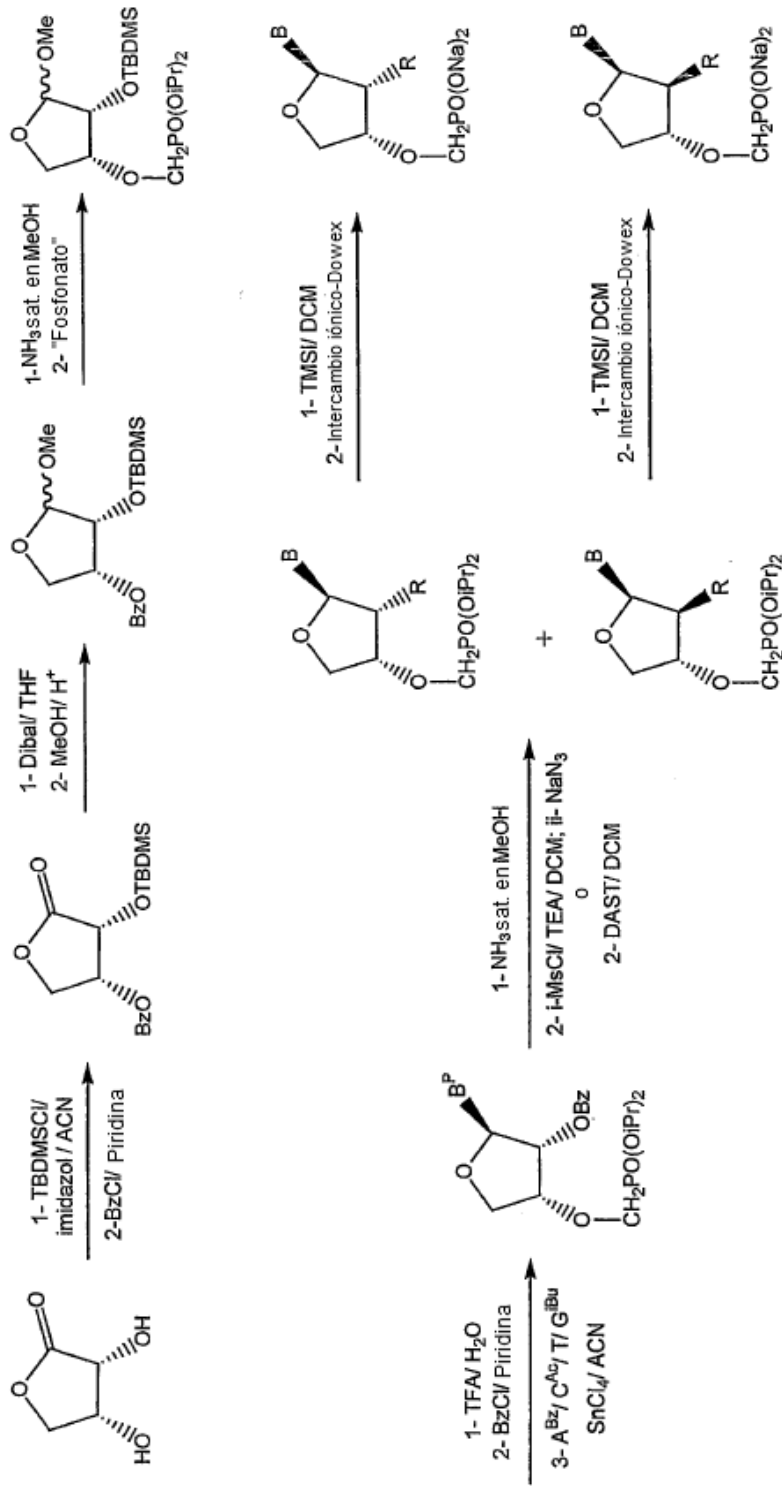


Figura 13

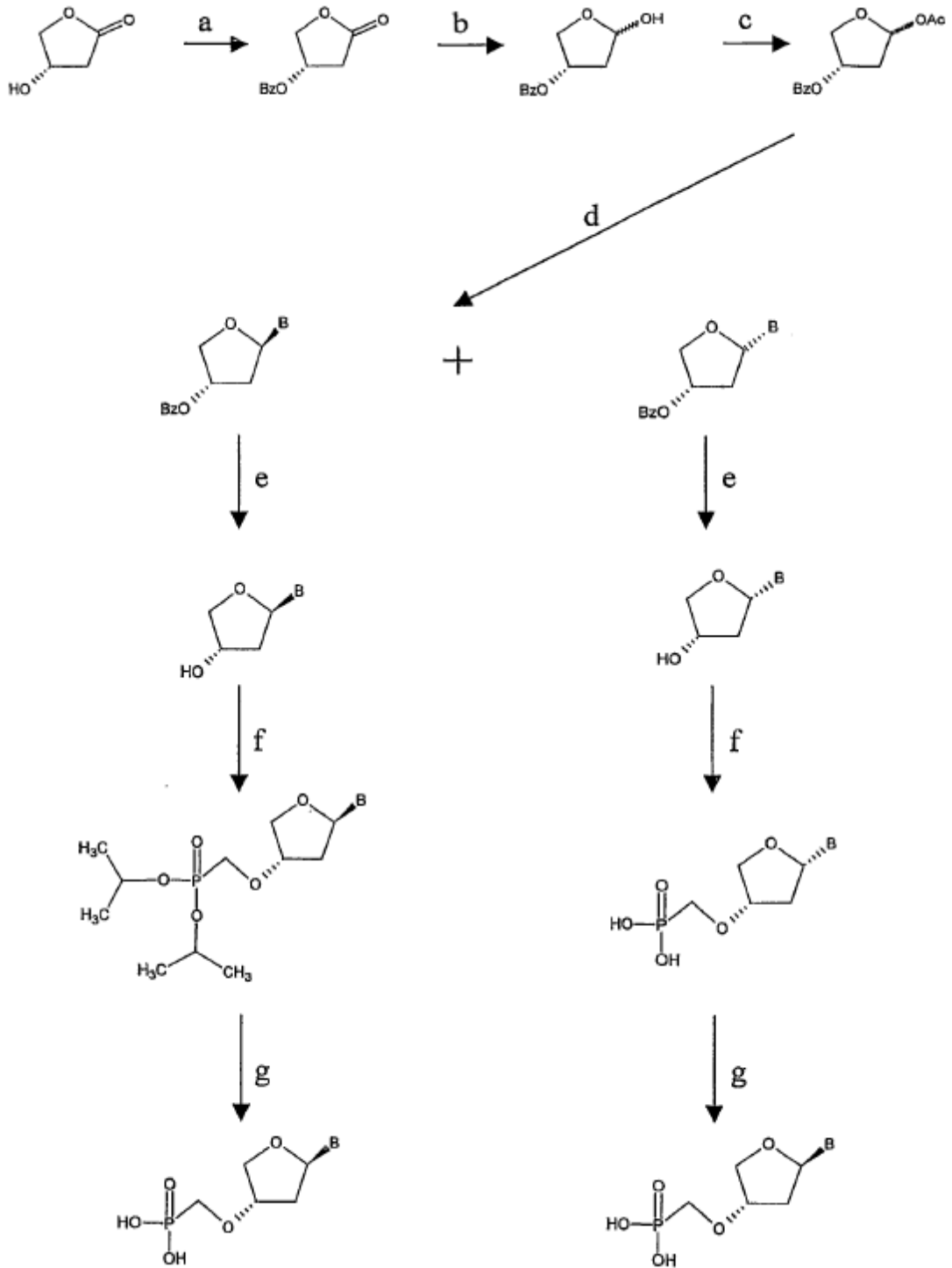




Figura 14

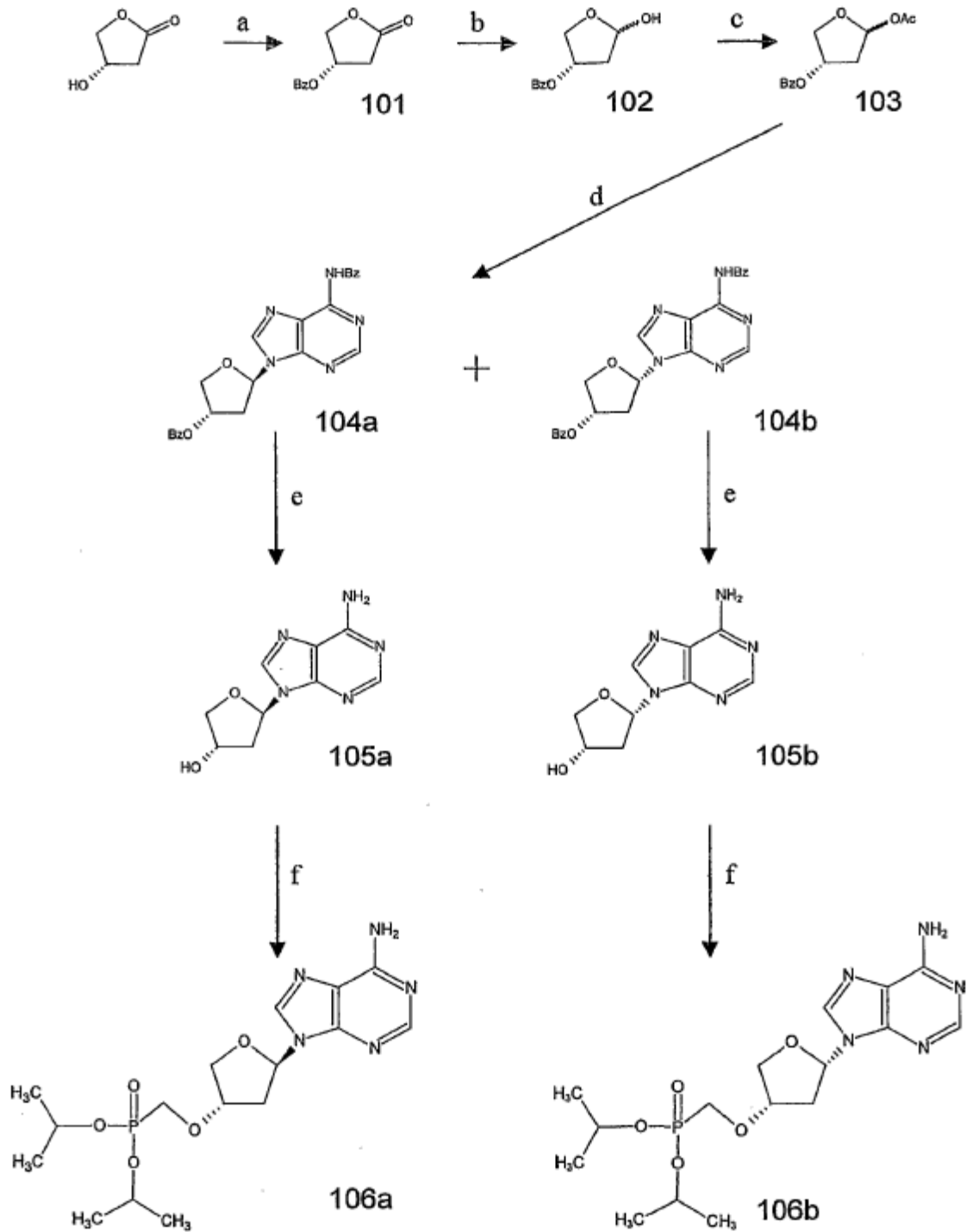


Figura 15

