

CONJUGADOS DE FÁRMACOS DE MOLÉCULA PEQUEÑA DE MONOFOSFATO DE GEMCITABINA

Reivindicación de prioridad

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional U. S. N.º
5 62/625.820, presentada el 02/02/2018, que se incorpora en el presente documento
como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a nuevos conjugados de fármacos de molécula
10 pequeña (SMDC) para su uso en el tratamiento o profilaxis de cánceres y otras
afecciones proliferativas que, por ejemplo, se caracterizan por células que expresan el
citocromo P450 1B1 (CYP1B1) y sus variantes alélicas. La presente invención también
proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más de tales
compuestos para uso en terapia médica, por ejemplo, en el tratamiento o profilaxis de
15 cánceres u otras afecciones proliferativas, así como métodos para tratar cánceres u
otras afecciones en pacientes humanos o animales no humanos. Otros aspectos de la
invención se describen adicionalmente en la memoria descriptiva.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 CYP1B1 es un miembro de la familia de genes CYP1 inducibles por dioxina que
también incluye CYP1A1 y CYP1A2 como se describe por Sutter et al. (J Biol. Chem., 6
de mayo; 269(18): 13092–9, 1994). CYP1B1 es una enzima monooxigenasa de
hemetiolato que es capaz de metabolizar y activar una variedad de sustratos que
incluyen esteroides, xenobióticos, medicamentos y/o SMDC. La proteína CYP1B1 se
25 expresa a una alta frecuencia en una amplia gama de cánceres humanos primarios y
metastásicos de diferentes tipos histogénicos y no se expresa o se expresa a niveles
insignificantes en el tejido normal (por ejemplo, McFadyen MC, Melvin WT y Murray GI,
“Cytochrome P450 Enzymes: Novel Options for Cancer Therapeutics”, Mol Cancer
Ther., 3 (3): 363–71, 2004; McFadyen MC y Murray GI, “Cytochrome P450 1B1: a Novel
30 Anticancer Therapeutic Target”, *Future Oncol.*, 1 (2): 259–63, 2005.

Más específicamente, se ha demostrado que CYP1B1 se expresa en cánceres
de vejiga, cerebro, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, ovario,
próstata y piel, sin expresarse en el tejido normal correspondiente. Por ejemplo, Barnett,
et al. En Clin. Cancer Res., 13 (12): 3559–67, 2007, informaron que CYP1B1 se
35 sobreexpresó en tumores gliales, incluidos glioblastomas, astrocitomas anaplásicos,
oligodendrogliomas y oligodendrogliomas anaplásicos, pero no tejido cerebral no
afectado; Carnell, et al., en Int. J. Radiat. Oncol Biol. Phys., 58 (2): 500–9, 2004,

informaron que CYP1B1 se sobreexpresó en adenocarcinomas de próstata, pero no en tejido prostático normal compatible; Carnell, et al., 2004 (ibid.) también mostraron que CYP1B1 se expresa en (n = 22, 100%) de carcinomas de vejiga; Downie et al., en Clin. Cancer Res., 11 (20): 7369–75, 2005 y McFadyen, et al., en Br. J. Cancer, 85 (2): 242–6, 2001, informaron una mayor expresión de CYP1B1 en cáncer de ovario primario y metastásico, pero no en tejido de ovario normal; y Gibson, et al., en Mol. Cancer Ther., 2 (6): 527–34, 2003, y Kumarakulasingham, et al., en Clin. Cancer Res., 11 (10): 3758–65, 2005, informaron que CYP1B1 se sobreexpresó en adenocarcinomas de colon en comparación con el tejido normal compatible.

10 Varios estudios han demostrado que CYP1B1 se sobreexpresa en el cáncer de mama en comparación con el tejido normal compatible (ver, por ejemplo: Murray GI, Taylor MC, McFadyen MC, McKay JA, Greenlee WF, Burke MD and Melvin WT, “Tumor-Specific Expression of Cytochrome P450 CYP1B1”, *Cancer Res.*, 57(14): 3026–31, 1997; Haas S, Pierl C, Harth V, Pesch B, Rabstein S, Bruning T, Ko Y, Hamann U, Justenhoven C, Brauch H and Fischer HP, “Expression of Xenobiotic and Steroid Hormone Metabolizing Enzymes in Human Breast Carcinomas”. *Int. J. Cancer*, 119(8): 1785–91, 2006; McKay JA, Murray GI, Ah-See AK, Greenlee WF, Marcus CB, Burke MD and Melvin WT, “Differential Expression of CYP1A1 and CYP1B1 in Human Breast Cancer”, *Biochem. Soc. Trans.*, 24(2): 327S, 1996).

20 Everett et al., en J. Clin. Oncology, 25: 18S, 2007, informó que CYP1B1 se sobreexpresó en melanoma maligno y enfermedad diseminada, pero no en la piel normal. Chang, et al., en Toxicol. Sci., 71 (1): 11–9, 2003, informaron que la proteína CYP1B1 no está presente en el hígado normal, pero Everett, et al., 2007 (ibid.) confirmaron la sobreexpresión de CYP1B1 en metástasis en estadio IV de melanoma en el hígado, pero no en el tejido hepático normal adyacente.

 Greer et al., en Proc. Am. Asoc. Cancer Res., 45: 3701, 2004, informaron que CYP1B1 se sobreexpresó durante la progresión maligna del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, pero no en el epitelio normal.

30 McFadyen, et al., en Br. J. Cancer, 91 (5): 966–71, 2004, detectaron CYP1B1 en carcinomas renales pero no en el tejido normal correspondiente.

 Murray, et al., 2004 (ibid.) utilizaron inmunohistoquímica para mostrar la sobreexpresión de CYP1B1 en células de cáncer de pulmón en comparación con el tejido pulmonar normal. Su, et al., en Anti-Cancer Res., 2, 509–15, 2009, usaron inmunohistoquímica para mostrar la sobreexpresión de CYP1B1 en el cáncer de pulmón de células no pequeñas en estadio IV avanzado en comparación con los estadios más tempranos de la enfermedad.

Es evidente a partir de las numerosas divulgaciones citadas con anterioridad que la expresión de CYP1B1 es característica de un rango de cánceres diferentes y otras condiciones proliferativas, y que la expresión de CYP1B1 puede usarse para definir dicho rango de cánceres y otras condiciones. Como las células normales (no cancerosas) no expresan niveles significativos de CYP1B1, también puede esperarse razonablemente que los compuestos que exhiben citotoxicidad en las células que expresan CYP1B1, pero que sean sustancialmente no citotóxicos en las células normales, tengan utilidad como agentes anticancerígenos dirigidos en cánceres caracterizados por la expresión de CYP1B1. Por “dirigidos” se entiende que tales compuestos podrían administrarse sistémicamente y solo se activarían en presencia de células cancerosas que expresan CYP1B1, permaneciendo sustancialmente no tóxicas para el resto del cuerpo.

Además, se sabe que varias enzimas del citocromo P450 metabolizan y desintoxican una variedad de medicamentos contra el cáncer. McFadyen et al. (Biochem Pharmacol. 2001, 15 de julio; 62(2): 207–12) demostraron una disminución significativa en la sensibilidad de docetaxel en las células que expresan CYP1B1 en comparación con las células que no expresan CYP1B1. Este hallazgo indica que la presencia de CYP1B1 en las células puede disminuir su sensibilidad a algunos fármacos citotóxicos. Los SMDC activados por CYP1B1 pueden ser útiles, por lo tanto, para el tratamiento de cánceres cuya resistencia a los medicamentos está mediada por CYP1B1.

Además, el gen CYP1B1 es altamente polimórfico en el cáncer y se han identificado varios polimorfismos de nucleótidos individuales contenidos en el gen CYP1B1 que alteran la expresión y/o actividad de la proteína codificada. De estos, el alelo CYP1B1*3 (4326C>G; L432V) se ha caracterizado por una mayor expresión y cinética enzimática de CYP1B1 hacia varios sustratos, según lo descrito por Sissung, et al. en Mol Cancer Ther., 7(1): 19–26, 2008 y referencias citadas allí. Este hallazgo indica que no solo CYP1B1, sino que las variantes alélicas de la enzima también pueden contribuir a la activación de SMDC y la focalización del cáncer.

Los SMDC se han investigado como un medio para reducir la toxicidad no deseada o algún otro atributo negativo de un medicamento sin pérdida de eficacia. Un SMDC es un medicamento que se ha modificado químicamente para dejarlo inactivo, pero que, después de la administración, se metaboliza o se convierte de otra manera en una forma activa del medicamento en el cuerpo. La sobreexpresión de CYP1B1 en tumores primarios y enfermedad metastásica en comparación con el tejido normal ofrece una tremenda oportunidad para el desarrollo de SMDC activados por CYP1B1 para la terapia dirigida contra el cáncer según la revisión de McFadyen et al., Mol

Cancer Ther., 3(3), 363–71, 2004. De hecho, el descubrimiento y el desarrollo de SMDC activados por CYP1B1 para la terapia dirigida contra el cáncer probablemente ofrecerán ventajas farmacológicas significativas sobre los SMDC existentes activados por citocromo P450 no dirigidos utilizados clínicamente, como los agentes alquilantes de SMDC ciclofosfamida, ifosfamida, dacarbazina, procarbazona que se activan por el citocromo P450 expresado en tejido normal según lo revisado por Patterson LH y Murray GI en Curr Pharm Des., 8(15): 1335–47, 2002.

La utilización de la denominada química 'activador–enlazador–efector' en el diseño de SMDC requiere la activación del disparador para iniciar la fragmentación de un enlazador para liberar un efector (típicamente un fármaco activo), cuya actividad biológica está enmascarada en la forma SMDC. El diseño modular de los SMDC selectivos dirigidos a los citocromos P450 que expresan tumores, como el CYP1B1, requiere (1) la identificación de restos disparadores selectivos, (2) el uso de enlazadores bioestables que se fragmentan eficientemente después de la activación del disparador (en general por hidroxilación aromática), y (3) efectores o fármacos adecuados que no interfieren con la eficiencia del proceso de activación.

El documento WO 99/40944 describe SMDC que comprenden un resto de fármaco unido a un marco portador, describiéndose el SMDC activado mediante hidroxilación por CYP1B1 para liberar el resto de fármaco.

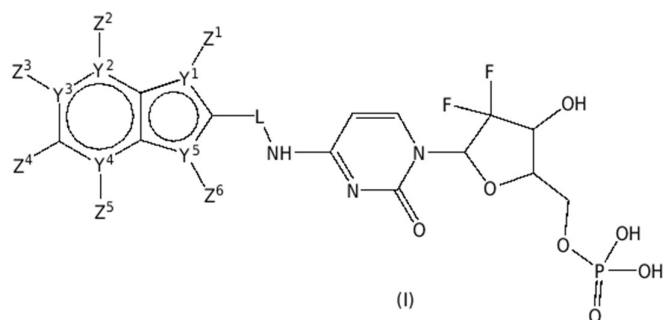
El documento WO 2010/125350 también describe SMDC activados como a través de hidroxilación por CYP1B1 para liberar un resto de fármaco.

En consecuencia, sigue existiendo una fuerte necesidad de nuevos SMDC que sean útiles para los pacientes que los necesitan.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona SMDC descritos con características estructurales y funcionales novedosas, en donde estas características novedosas se han desarrollado para satisfacer necesidades no satisfechas de pacientes que necesitan estos SMDC.

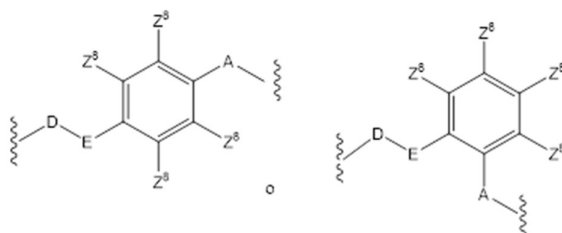
De acuerdo con un primer aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I):



o una de sus sales, ésteres, solvatos estereoisómeros farmacéuticamente aceptables,

5 en donde:

–L– se define como: –alquilen (C₁–C₅)–O–C(O)–, –alquenilen (C₃–C₅)–O–,



A es –alquilen (C₁–C₅)–O–C(O)–;

10 E es –O–, –O–C(O)N(H)–, –O–C(S)N(H)– o –S– o –S–C(O)N(H)–;

D es –alquilen (C₁–C₅)– o –alquenilen (C₃–C₅)–;

Y¹ es C=C, carbono o nitrógeno, en donde, si Y¹ es nitrógeno, Z¹ está ausente;

Cada uno de Y⁴ e Y⁵ es, de modo independiente, carbono o nitrógeno, en donde, si Y³ es nitrógeno, Z³ está ausente y, si Y⁴ es nitrógeno, Z⁵ está ausente;

15 Y² es C o N en donde, si Y² es nitrógeno, Z² está ausente;

Y⁵ es un átomo de oxígeno, carbono, nitrógeno o azufre, en donde Z⁶ está ausente cuando Y⁵ es un átomo de oxígeno o de azufre;

Cada uno de Z¹ y Z², cuando están presentes, se seleccionan, de modo independiente, de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, halo, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está sustituido opcionalmente, de modo independiente, con 1–3 halo;

Z³, Z⁴ y Z⁵ se seleccionan cada uno, de modo independiente, de hidrógeno, alquilo, alquilo deuterado, alcoxi C₁–6, alcoxi C₁–6 deuterado, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi,

alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, alquilamino, aralquilamino, arilamino, hidroxio, halo, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está sustituido opcionalmente, de modo independiente, con 1–3 halo;

5 siempre que al menos uno de Z^1 , Z^2 o Z^4 sea H;

Z^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y aralquilo, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está sustituido opcionalmente, de modo independiente, con 1–3 halo;

Cada Z^8 es, de modo independiente, hidrógeno, alquilo C_1 – C_6 no sustituido, alquilo C_1 – C_6 sustituido, alcoxi C_1 – C_6 no sustituido, alcoxi C_1 – C_6 deuterado no sustituido, alcoxi C_1 – C_6 sustituido y alcoxi C_1 – C_6 deuterado sustituido, donde el alquilo sustituido, alcoxi y alcoxi deuterado están sustituidos con uno o más grupos seleccionados de amino, amino mono– o disustituido, alquil C_1 – C_5 –amino cíclico, imidazolilo, alquil C_1 – C_6 –piperazinilo, morfolino, tiol, tioéter, tetrazol, ácido carboxílico, éster, amido, amido mono– o disustituido, amida N–conectada, sulfonamida N–conectada, sulfoxi, sulfonato, sulfonilo, sulfoxi, sulfinato, sufinilo, fosfonooxi, fosfato o sulfonamida, en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está opcionalmente sustituido con 1–3 halo.

Otro aspecto la invención se refiere a un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva o a su sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable, para usar como un medicamento.

Otro aspecto de la invención se refiere a un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva o a su sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable, para usar en un método de tratamiento o profilaxis de una condición proliferativa.

Otro aspecto de la invención se refiere un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una cantidad de utilidad terapéutica o profiláctica de un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva a un paciente que lo necesita.

Otro aspecto de la invención se refiere un método de tratamiento o profilaxis que comprende la administración de una cantidad de utilidad terapéutica o profiláctica de un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva a un paciente que lo necesita, en donde la condición proliferativa es un cáncer seleccionado de cáncer de vejiga, cerebro, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, ovario, páncreas, próstata o piel.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de tratamiento o profilaxis de una condición proliferativa, en donde dicho método comprende la administración de

una cantidad de utilidad terapéutica o profiláctica de un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva o su sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable, a un sujeto que lo necesita.

5 Otro aspecto de la invención se refiere al uso de un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva o a su sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable, para la preparación de medicamento para usar en un método de tratamiento o profilaxis de una condición proliferativa.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de diagnóstico de un paciente respecto de la presencia de células tumorales que expresan la enzima
10 CYP1B1 que comprende (a) la administración al paciente de un SMDC específico revelado en cualquiera de las realizaciones descritas en el presente documento; (b) la determinación de la cantidad del correspondiente metabolito hidroxilado que luego se produce; y (c) correlación de la cantidad con la presencia o ausencia de las células tumorales en el paciente.

15 Otro aspecto de la invención se refiere a un método de (1) identificación de la presencia de un tumor en un paciente; y (2) tratamiento del paciente, identificado por necesitar el tratamiento, por administración de una cantidad de utilidad terapéutica o profiláctica de un compuesto de la invención como se describe en la memoria descriptiva o su sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable.

20 Otro aspecto de la invención se refiere a compuestos intermedios que se pueden usar para preparar ciertos compuestos de la fórmula (I), en donde el intermedio es como se define en la fórmula (I) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

Otros aspectos y realización de la invención siguientes seguirán de la discusión
25 que sigue a continuación.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1a muestra un mecanismo para la 3-hidroxilación inducida por CYP1B1 de (1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il)carbamato de (5,7-di(metoxi)benzofuran-2-il)metilo
30 (I) seguido de liberación espontánea de la molécula efectora citotóxica por eliminación 1,4.

La Figura 1b muestra un mecanismo para la 4-hidroxilación inducida por CYP1B1 de (1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il)carbamato de (5,7-di(metoxi)benzofuran-2-il)metilo
35 (I) seguido de liberación espontánea de la molécula efectora citotóxica mediante eliminación 1,6.

La Figura 1c muestra un mecanismo para la 6-hidroxilación inducida por CYP1B1 de (1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il)carbamato de (5,7-di(metoxi)benzofuran-2-il)metilo (I) seguido de liberación espontánea de la molécula efectora citotóxica por eliminación
5 1,8.

La Figura 1d muestra un mecanismo para la desalquilación C-6 inducida por CYP1B1 de (1-((2R,4R,5R)-3,3-difluoro-4-hidroxi-5-(hidroxil-metil)tetrahidrofuran-2-il)-2-oxo-1,2-dihidropirimidin-4-il)carbamato de (5,6,7-tri(metoxi)benzofuran-2-il)metilo (II) seguido de liberación espontánea de la molécula efectora citotóxica por
10 eliminación 1,6.

La Figura 2a muestra la concentración plasmática media de gemcitabina y dFdU después de la dosificación iv de gemcitabina a ratones CD-1.

La Figura 2b muestra la concentración plasmática media de Int 1-4, gemcitabina y dFdU después de la dosificación iv de Int 1-4 a ratones CD-1.

15 La Figura 3a muestra las concentraciones plasmáticas del Compuesto 1, Int 1-4, gemcitabina, dFdU y monofosfato de gemcitabina después de las dosis iv del Compuesto 1 (11,6 mg/Kg y 23,2 mg/Kg) a ratones CD-1 machos.

La Figura 3b muestra las concentraciones plasmáticas de Compuesto 1, Int 1-4, gemcitabina, dFdU y monofosfato de gemcitabina después de las dosis intravenosas de
20 Int 1-4 (10,0 mg/Kg, formulaciones 1 y 2) a ratones CD-1 machos.

La Figura 4 muestra la concentración de Int 3-3, gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de Int 3-3 tras la administración intravenosa a ratones CD-1.

La Figura 5 muestra C_0 o C_{max} de Int 1-4, gemcitabina y dFdU en tejido y
25 plasma normales después de la dosificación iv de Int 1-4 a ratones CD-1.

La Figura 6 muestra C_0 o C_{max} de gemcitabina y dFdU en tejido y plasma normales después de la dosificación iv de gemcitabina a ratones CD-1.

La Figura 7 muestra las concentraciones plasmáticas medias de Int 1-4, gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de Int 1-4 en un mono
30 cynomolgus macho.

La Figura 8a muestra las concentraciones plasmáticas medias de Int 1-4, gemcitabina y dFdU después de las dosis iv de Int 1-4 en un mono cynomolgus macho.

La Figura 8b muestra las concentraciones plasmáticas medias de gemcitabina y dFdU después de las dosis iv de gemcitabina (a 2,65 y 5 mg/kg) en un mono
35 cynomolgus macho.

La Figura 9a muestra las concentraciones plasmáticas del compuesto 1, Int 1–4, gemcitabina y dFdU después de la dosificación iv del compuesto 1 (5 mg/kg) en un mono cynomolgus macho.

La Figura 9b muestra la concentración plasmática de gemcitabina y dFdU después de la dosificación iv de gemcitabina en un mono cynomolgus macho.

La Figura 10a muestra la concentración plasmática media de gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de gemcitabina a ratas Sprague–Dawley macho.

La Figura 10b muestra la concentración plasmática media de Int 1–4, gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de Int 1–4 a ratas Sprague–Dawley macho.

La Figura 11 muestra la concentración plasmática media de Int 1–4, gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de Int 1–4 a un perro Beagle macho.

La Figura 12a muestra la concentración plasmática media de Int 1–4, gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de Int 1–4 a un perro Beagle macho.

La Figura 12b muestra la concentración plasmática media de gemcitabina y dFdU después de la administración intravenosa de gemcitabina al perro Beagle macho.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Se describen SMDC en los que la molécula efectora es un análogo de gemcitabina que tiene una función farmacológica.

Estas moléculas efectoras se modifican químicamente haciéndolas reaccionar para formar un compuesto de la fórmula (I). La hidroxilación de compuestos de la fórmula (I), como la hidroxilación inducida por CYP1B1, permite la liberación de las moléculas de gemcitabina por un colapso de los compuestos de la fórmula (I) que ocurre como resultado de la hidroxilación o hidroxilación a través de la formación de epóxido. Alternativamente, la desalquilación de compuestos de la fórmula (II), como la desalquilación inducida por CYP1B1, permite la liberación de la molécula de gemcitabina por un colapso de los compuestos de la fórmula (II).

En resumen, se puede considerar que la estructura de los compuestos de la fórmula (I) comprende tres partes: una región disparadora, un enlazador y una molécula de gemcitabina monofosforilada. El disparador sirve como sustrato para la hidroxilación inducida típicamente por CYP1B1 y se puede entender que generalmente comprende el resto bicclico representado en el lado izquierdo de la fórmula (I) y sus sustituyentes, es decir, que comprende esa parte de los compuestos que contienen Y¹, Y², Y³, Y⁴, Y⁵, Z¹,

Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ y los átomos de carbono restantes a los que están unidos algunos de estos restos.

La región disparadora de los compuestos está unida a través de una región enlazadora que comprende L, y la región enlazadora está unida a la molécula efectora que está marcada como tal. En la discusión que sigue, se hace referencia a una serie de términos, que deben entenderse por tener el significado proporcionado, a continuación, a menos que el contexto dicte lo contrario.

Cuando se representan o describen estructuras químicas, a menos que se indique explícitamente lo contrario, se supone que todos los carbonos tienen sustitución de hidrógeno para conformar una valencia de cuatro. Por ejemplo, para el resto químico –C(C)₃, hay nueve hidrógenos implicados, de modo que la estructura es –C(CH₃)₃. A veces, un átomo particular en una estructura se describe en la fórmula textual como que tiene un hidrógeno o hidrógenos como sustitución (hidrógeno expresamente definido), por ejemplo, –CH₂CH₂–. Un experto en la materia entiende que las técnicas descriptivas mencionadas con anterioridad son comunes en las artes químicas para proporcionar brevedad y simplicidad a la descripción de estructuras complejas.

A menos que un punto de unión indique lo contrario, los restos químicos enumerados en las definiciones de las variables de la fórmula (I), y todas sus realizaciones, deben leerse de izquierda a derecha, en donde el lado derecho está directamente unido a la estructura principal como se define. Sin embargo, si se muestra un punto de unión en el lado izquierdo del resto químico (por ejemplo, –alquiloxi– (alquilo C₁–C₂₅)), entonces el lado izquierdo de este resto químico se une directamente al resto principal como se define.

Se supone que, cuando se consideran descripciones genéricas de compuestos de los descritos aquí con el propósito de construir un compuesto, dicha construcción da como resultado la creación de una estructura estable. Es decir, un experto en la técnica reconocería, en teoría, algunas construcciones que normalmente no se considerarían como compuestos estables (es decir, estéricamente prácticos y/o sintéticamente factibles).

Los compuestos descritos en el presente documento, así como sus sales farmacéuticamente aceptables u otros derivados de ellos, pueden existir opcionalmente en forma marcada isotópicamente, en la que uno o más átomos de los compuestos se reemplazan por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica que generalmente se encuentra en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos descritos en el presente documento incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloruro, tales como ²H (deuterio), ³H (tritio), ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O,

³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F and ³⁶Cl, respectivamente. Los compuestos marcados isotópicamente descritos en el presente documento, así como las sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, SMDC, solvatos, hidratos u otros derivados de ellos, en general pueden prepararse llevando a cabo los procedimientos descritos en los Esquemas y/o en los Ejemplos a continuación, sustituyendo con facilidad el reactivo marcado isotópicamente disponible por un reactivo marcado no isotópicamente. Cuando una posición particular de hidrógeno se reemplaza con una “D” o “deuterio”, debe entenderse que la abundancia de deuterio en esa posición es sustancialmente mayor que la abundancia natural de deuterio, que es del 0,015%, y típicamente tiene al menos un 50% de incorporación de deuterio en esa posición. En una realización, uno o más hidrógenos unidos a uno o más carbonos sp³ en los compuestos descritos en este documento se reemplazan con deuterio. En otra realización, uno o más hidrógenos unidos a uno o más carbonos sp² en los compuestos descritos en este documento se reemplazan con deuterio.

Opcional “u” opcionalmente “significa que el evento o circunstancia que se describe posteriormente puede o puede no ocurrir, y que la descripción incluye casos en los que se produce dicho evento o circunstancia y casos en los que no se produce. Un experto en la técnica entenderá que, con respecto a cualquier molécula descrita que contenga uno o más sustituyentes opcionales, solo se incluirán compuestos estéricamente prácticos y/o sintéticamente viables. “Opcionalmente sustituido” significa sustituido o no sustituido y se refiere a todos los modificadores posteriores en un término a menos que se especifique lo contrario, por ejemplo, en la expresión “arilalquilo opcionalmente sustituido”, tanto la porción “alquilo” como la porción “arilo” de la molécula pueden estar sustituidas o no sustituidas.

A menos que se especifique lo contrario, la expresión “opcionalmente sustituido” se aplica al resto químico que lo precede inmediatamente. Por ejemplo, si un grupo variable (como R) se define como arilo, alquilo opcionalmente sustituido o cicloalquilo, entonces solo el grupo alquilo está opcionalmente sustituido.

Una “sal farmacéuticamente aceptable” de un compuesto significa una sal que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Se entiende que las sales farmacéuticamente aceptables no son tóxicas. Se puede encontrar información adicional sobre sales farmacéuticamente aceptables adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a edición, Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1985, que se incorpora aquí como referencia o SM Berge, et al., “Pharmaceutical Salts,” *J. Pharm. Sci.*, 1977; 66:1–19, los cuales se incorporan en el presente documento como referencia.

Los ejemplos no limitantes de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen aquellos formados con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; así como ácidos orgánicos como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, cítrico ácido, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilenbis-(3-hidroxi-2-en-1-carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido terc-butilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, ácido p-toluenosulfónico y ácido salicílico, y similares.

Los ejemplos no limitantes de sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables incluyen aquellos formados cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por una forma iónica de sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares. Las sales preferibles son las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las sales mencionadas con anterioridad pueden sustituirse, cuando sea posible. Los ejemplos no limitantes de sales sustituidas incluyen sales de amonio alquiladas, tales como sales de trietilamonio. Las sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico. Entre los ejemplos de bases orgánicas se incluyen isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, dicitclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, trometamina, N-metilglucamina, resinas de poliamina, y similares. Las bases orgánicas de ejemplo son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitclohexilamina, colina y cafeína.

Todos los compuestos descritos en el presente documento incluyen su forma de base libre o sus sales farmacéuticamente aceptables, ya sea que se indique en la memoria descriptiva que estos compuestos pueden existir como su sal farmacéuticamente aceptable o no.

El término “SMDC” se refiere a un conjugado de fármaco de molécula pequeña. Los SMDC son medicamentos que están unidos en gran medida a otro resto químico para aplicaciones específicas.

5 “Tratar” o “tratamiento” de una enfermedad, trastorno o síndrome, como se usa en el presente documento, incluye (i) evitar que la enfermedad, trastorno o síndrome ocurra en un ser humano, es decir, causar que los síntomas clínicos de la enfermedad, trastorno o síndrome no se desarrollen en un animal que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad, trastorno o síndrome pero que aún no experimenta o muestra síntomas de la enfermedad, trastorno o síndrome; (ii) inhibir la enfermedad,
10 trastorno o síndrome, es decir, detener su desarrollo; y (iii) aliviar la enfermedad, trastorno o síndrome, es decir, causar regresión de la enfermedad, trastorno o síndrome. Como es sabido en la técnica, pueden ser necesarios ajustes para la administración sistémica versus localizada, edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, tiempo de administración, interacción farmacológica y la gravedad de la afección,
15 y serán comprobables con experimentación de rutina por un experto en la técnica.

Todos los compuestos descritos en el presente documento pueden existir como estereoisómeros individuales (incluidos enantiómeros individuales y diastereómeros individuales), racematos, mezclas de enantiómeros y diastereómeros y polimorfos. Los estereoisómeros de los compuestos en esta descripción incluyen isómeros geométricos
20 e isómeros ópticos, tales como atropisómeros. Los compuestos descritos en el presente documento también pueden existir como isómeros geométricos. Todos estos estereoisómeros individuales, racematos y mezclas de ellos, e isómeros geométricos están destinados a estar dentro del alcance de los compuestos descritos en este documento.

25 Además, los compuestos de esta descripción pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas a los efectos de los compuestos de esta descripción.

30 Por alquilo se entiende en el presente documento un radical hidrocarbilo saturado, que puede ser de cadena lineal, cíclica o ramificada (típicamente, cadena lineal, a menos que el contexto dicte lo contrario). Cuando un grupo alquilo tiene uno o más sitios de insaturación, ellos pueden estar constituidos por enlaces dobles de carbono-carbono o enlaces triples de carbono-carbono triple. Cuando un grupo alquilo
35 comprende un enlace doble de carbono-carbono, esto proporciona un grupo alquenilo; la presencia de un enlace triple de carbono-carbono proporciona un grupo alquinilo. En un ejemplo, los grupos alquilo, alquenilo y alquinilo comprenderán de 1 a 25 átomos de

carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo, alqueno y alquino comprenderán de 1 a 10 átomos de carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo, alqueno y alquino comprenderán de 1 a 6 átomos de carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo, alqueno y alquino comprenderán de 1 a 4 átomos de carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo, alqueno y alquino comprenderán de 1 a 3 átomos de carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo, alqueno y alquino comprenderán de 1 a 2 átomos de carbono. En otro ejemplo, los grupos alquilo comprenderán 1 átomo de carbono. Se entiende que el límite inferior en los grupos alqueno y alquino son 2 átomos de carbono y en los grupos cicloalquilo, son 3 átomos de carbono.

Los grupos alquilo, alqueno o alquino pueden estar sustituidos, por ejemplo, una vez, dos veces o tres veces, por ejemplo, una vez, es decir, que reemplaza formalmente uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo. Los ejemplos de tales sustituyentes son halo (por ejemplo, fluoro, cloro, bromo y yodo), arilo, hidroxilo, nitro, amino, alcoxi, alquilo, carboxi, ciano, tio, formilo, éster, acilo, tioacilo, amido, sulfonamido, carbamato, y similares.

–alquilenilo (C_3-C_5)–, se entiende que es un grupo alqueno bivalente de 3 a 5 carbonos de largo, que se puede unir con otro átomo tal como en –alquilenil (C_3-C_5)–O– o –alquilenil (C_3-C_5)–O–C(O)N(H)–. El –alquilenilo (C_3-C_5)– puede estar opcionalmente sustituido con uno a cuatro grupos alquilo C_1-C_6 .

Por carboxi se entiende en el presente documento el grupo funcional CO_2H , que puede estar en forma desprotonada (CO_2^-).

Halo o halógeno son cada uno flúor, bromo, cloro o yodo.

Por acilo y tioacilo se entienden los grupos funcionales de las fórmulas $-C(O)-$ alquilo o $-C(S)-$ alquilo, respectivamente, donde alquilo es como se definió antes en el presente documento.

Por éster se entiende un grupo funcional que comprende el resto $-OC(=O)-$.

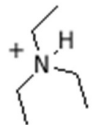
Por amido se entiende un grupo funcional que comprende el resto $-N(H)C(=O)-$, en donde cada átomo de hidrógeno representado se puede reemplazar con alquilo o arilo.

Por carbamato se entiende un grupo funcional que comprende el resto $-N(H)C(=O)O-$, en donde cada átomo de hidrógeno representado se puede reemplazar con alquilo o arilo.

Por sulfonamido se entiende un grupo funcional que comprende el resto $-SO_2N(H)_2-$, en donde cada átomo de hidrógeno representado se puede reemplazar de modo independiente con alquilo o arilo.

Los restos de alquiloxi (sinónimo de alcoxi) y alquiltio son de las fórmulas –O–alquilo y –S–alquilo, respectivamente, donde el alquilo es como se definió con anterioridad en el presente documento.

Et₃NH⁺ se refiere a la estructura



5

Alqueniloxi, alquiniloxi, alqueniltio y alquiniltio son de las fórmulas –O–alquenilo, –O–alquinilo, –S–alquenilo y S–alquinilo, donde alquenilo y alquinilo son como se definieron con anterioridad en el presente documento.

Alquilo deuterado se entiende en el presente documento como un grupo alquilo como se define en el presente documento, en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo está reemplazado con deuterio. Cuando existe más de un grupo alquilo deuterado en una molécula revelada en el presente documento, cada grupo alquilo C₁–C₆ deuterado puede ser igual o diferente.

El alquilo C₁–C₆ deuterado se entiende en el presente documento como un grupo –alquilo C₁–C₆, en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo C₁–C₆ están reemplazados con deuterio. Cuando más de un grupo alquilo C₁–C₆ deuterado existe en una molécula revelada en el presente documento, cada grupo alquilo C₁–C₆ deuterado puede ser igual o diferente.

Alcoxi deuterado se entiende en el presente documento como un grupo –O–alquilo, en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo están reemplazados con deuterio. Cuando existe más de un grupo alquilo deuterado en una molécula revelada en el presente documento, cada grupo alquilo C₁–C₆ deuterado puede ser igual o diferente.

Alcoxi C₁–C₆ deuterado se entiende en el presente documento como grupo O–alquilo C₁–C₆ en donde uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo C₁–C₆ están reemplazados con deuterio. Cuando existe más de un grupo alquilo C₁–C₆ deuterado en una molécula revelada en el presente documento, cada grupo alquilo C₁–C₆ deuterado puede ser igual o diferente.

El metoxi deuterado se entiende en el presente documento como –OCD_{1–3}. Se ha de entender que –OCD_{1–3} incluye –OCH₂D, –OCHD₂ u –OCD₃. Cuando existen más de un grupo metoxi deuterado en una molécula revelada en el presente documento, cada grupo metoxi deuterado puede ser igual o diferente.

Por grupo amino se entiende en el presente documento un grupo de la fórmula –N(R)₂, en donde cada R es, de modo independiente, hidrógeno, alquilo o arilo. Por

ejemplo, R puede ser un alquilo C₁₋₆ no sustituido insaturado tal como metilo o etilo. En otro ejemplo, los dos grupos R unidos al átomo de nitrógeno N están conectados para formar un anillo. Un ejemplo en el que los dos R unidos al átomo de nitrógeno N están conectados es donde –R–R– forma un dirradical alquileo, derivado formalmente de un alcano del que se extrajeron dos átomos de hidrógeno, típicamente, de átomos de carbono terminal, donde se forma un anillo junto con el átomo de nitrógeno de la amina. Como se sabe, el dirradical en las aminas cíclicas no tiene que ser necesariamente alquileo: morfolina (en donde –R–R– es $-(CH_2)_2O(CH_2)_2-$) es uno de tales ejemplos a partir del cual se puede preparar un sustituyente de amino cíclico.

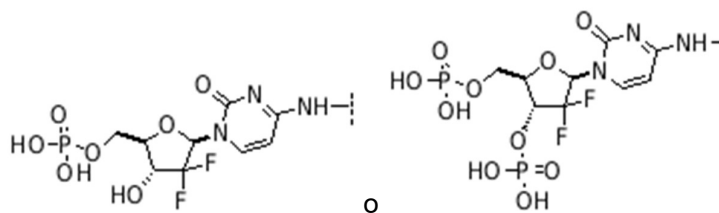
10 Las referencias a amino en el presente documento también se han de entender por comprender dentro de su ámbito derivados cuaternizados o protonados de las aminas resultantes de los compuestos que comprenden tales grupos amino. Los ejemplos de estos últimos pueden entenderse como sales tales como sales de clorhidrato.

15 Por arilo se entiende en el presente documento un radical formado de modo formal por abstracción de un átomo de hidrógeno de un compuesto aromático.

Los dirradicales de arileno se derivan de restos aromáticos, formalmente, por abstracción de dos átomos de hidrógeno y pueden ser, a menos que el contexto dicte específicamente lo contrario, monocíclicos, por ejemplo, fenileno. Como saben los expertos en la técnica, los restos heretoaromáticos son un subgrupo de restos aromáticos que comprenden uno o más heteroátomos, típicamente, O, N o S, en lugar de uno o más átomos de carbono y cualquier átomo de hidrógeno unido a ellos. Los restos heteroaromáticos de ejemplo incluyen piridina, furano, pirrol, tiofeno y pirimidina. Otros ejemplos de anillos heteroaromáticos incluyen pirdidilo; piridazina (en donde 2 átomos de nitrógeno son adyacentes en un anillo de 6 miembros aromático); pirazina (en donde 2 nitrógenos están dispuestos 1,4 en un anillo aromático de 6 miembros); pirimidina (en donde 2 átomos de nitrógeno están dispuestos 1,3 en un anillo aromático de 6 miembros); y 1,3,5-triazina (en donde 3 átomos de nitrógeno están dispuestos 1,3,5 en un anillo aromático de 6 miembros).

30 Los radicales arilo o arileno pueden estar sustituidos una o más veces con un grupo aceptor de electrones.

Un derivado de ácido fosfórico de gemcitabina incluye compuestos que tienen las siguientes estructuras:



Los ejemplos no limitativos de formas salinas de derivado de ácido fosfórico de gemcitabina incluyen sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de trietilamina y sales de amonio.

Los ejemplos no limitativos de grupos aceptores de electrones incluyen ciano ($-\text{CN}$), haloalquilo, amida, nitro, ceto ($-\text{COR}$), alquenilo, alquinilo, amino cuaternario ($-\text{N}^+\text{R}_3$), éster, amido ($-\text{C}(\text{O})\text{NR}_2$), amido N-conectado ($-\text{NR}-\text{C}(\text{O})-\text{R}$), sulfonamido N-conectado ($-\text{NR}-\text{S}(\text{O})_2\text{R}$), sulfoxi ($-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$), sulfonato ($\text{S}(\text{O})_2\text{OR}$), sulfonilo ($\text{S}(\text{O})_2\text{R}$) y sulfonamida ($-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}_2$), donde cada R se selecciona, de modo independiente, de un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo heterocíclico C_3-C_{20} o un grupo arilo C_3-C_{20} , en donde el grupo alquilo C_1-C_6 puede estar sustituido con uno o más grupos seleccionados de éter, amino, amino mono- o disustituido, alquil C_1-C_5 -amino cíclico, imidazolilo, alquil C_1-C_6 -piperazinilo, morfolino, tiol, tioéter, tetrazol, ácido carboxílico, éster, amida, amida mono- o disustituida, amida N-conectada ($-\text{NR}-\text{C}(\text{O})-\text{R}$), sulfonamida N-conectada ($-\text{NR}-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}$), sulfoxi ($-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$), sulfonato ($\text{S}(\text{O})_2\text{OR}$), sulfonilo ($\text{S}(\text{O})_2\text{R}$), sulfoxi ($\text{S}(\text{O})\text{OH}$), sulfinato ($\text{S}(\text{O})\text{OR}$), sulfinilo ($\text{S}(\text{O})\text{R}$), fosfonooxi ($-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$), fosfato ($\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2$) y sulfonamida ($-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}_2$), en donde cada R se selecciona, de modo independiente, de un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo heterocíclico C_3-C_{20} o un grupo arilo C_3-C_{20} . En otro ejemplo, cada R es un grupo alquilo C_1-C_6 (en base a la definición de alquilo en el presente documento anterior, grupo alquilo C_1-C_6 incluye grupos alcoxi C_1-C_6 no sustituido y alcoxi C_1-C_6 sustituido). En otro ejemplo, cada R es un alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 no sustituido o alcoxi C_1-C_6 sustituido, en donde el alquilo sustituido o alcoxi sustituido están sustituidos con uno o más grupos seleccionados de éter, $-\text{OH}$ amino, amino mono- o disustituido, alquil C_1-C_5 -amino cíclico, imidazolilo, alquil C_1-C_6 -piperazinilo, morfolino, tiol, tioéter, tetrazol, ácido carboxílico, éster, amida, amida mono- o disustituida, amida N-conectada ($-\text{NR}-\text{C}(\text{O})-\text{R}$), sulfonamida N-conectada ($-\text{NR}-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}$), sulfoxi ($-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$), sulfonato ($\text{S}(\text{O})_2\text{OR}$), sulfonilo ($\text{S}(\text{O})_2\text{R}$), sulfoxi ($\text{S}(\text{O})\text{OH}$), sulfinato ($\text{S}(\text{O})\text{OR}$), sulfinilo ($\text{S}(\text{O})\text{R}$), fosfonooxi ($-\text{OP}(\text{O})(\text{OH})_2$), fosfato ($\text{OP}(\text{O})(\text{OR})_2$) y sulfonamida ($-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}_2$), en donde cada R se selecciona, de modo independiente, de un grupo alquilo C_1-C_6 , un grupo heterocíclico C_3-C_{20} o un grupo arilo C_3-C_{20} .

La conformación y la variabilidad de estas tres regiones: la región disparadora, enlazadora y efectora de los compuestos de la fórmula (I) se describen ahora.

La región disparadora de los compuestos de la fórmula (I) comprende en general un resto bicíclico conjugado que comprende un anillo de seis miembros
5 fusionado con un anillo de cinco miembros.

Sin quedar ligados por la teoría, se cree que la actividad de los compuestos de la fórmula (I) como sustratos para hidroxilación, por ejemplo, efectuada por CYP1B1, se logra en parte por la estructura del resto disparador que es susceptible a la hidroxilación, lo cual lleva a un colapso espontáneo del compuesto por un proceso de
10 eliminación, ya sea una 1,4-, 1,6- o 1,8-eliminación, dependiendo de en qué posición tiene lugar la hidroxilación como se muestra en las Figuras 1a-1d. Además, -OCH₃ se metabolizaría normalmente por medio de hidroxilación y posterior O-desalquilación. Sin embargo, el metoxi deuterado puede conferir mayor estabilidad a la hidroxilación basada en CYP y la O-desalquilación por medio del efecto del isótopo cinético. Los
15 enlaces C-H aromáticos adyacentes se vuelven así sitios para hidroxilación a base de CYP que lleva a un colapso espontáneo del compuesto por 1,4-, 1,6- o 1,8-eliminación.

Cabe destacar de la estructura de los compuestos de la fórmula (I) que, en virtud de la conjugación de los átomos de carbono, cualquiera de los tres mecanismos
20 para el colapso espontáneo del compuesto puede tener lugar independientemente de la naturaleza de los sustituyentes en la región disparadora. Así, una amplia variedad de la naturaleza de esta región de los compuestos de la fórmula (I) puede ser tolerada como se analiza más abajo.

En una realización del compuesto de la fórmula (I), Y² es C e Y³ es C(H). En otra
25 realización del compuesto de la fórmula (I), Cada uno de Y³ e Y⁴ es C(H). En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y² es C e Y³ e Y⁴ es C(H). En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y² es C e Y¹, Y³ e Y⁴ son C(H).

En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es N, Y² es C, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es S. En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es N, Y² es
30 N, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es C(H). En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es C(H), Y² es C, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es N(CH₃). En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es C(H), Y² es N, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es N. En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es N, Y² es N, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es N. En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es C, Y² es C, Y³
35 es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es S. En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es N, Y² es C, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es O. En otra realización del compuesto de la fórmula (I), Y¹ es C(H), Y² es C, Y³ es C(H), Y⁴ es C(H) e Y⁵ es O.

Los sustituyentes Z^1 , Z^2 y Z^4 pueden ser en general como se describen en el presente documento. Sin embargo, al menos uno de estos restos es un átomo de hidrógeno de modo de permitir un sitio para la hidroxilación del compuesto. En algunas realizaciones del compuesto de la fórmula (I), Z^2 o Z^4 es hidrógeno. En otras realizaciones, Z^2 y Z^4 es hidrógeno. En cualquiera de estas realizaciones, en donde Z^2 o Z^4 es un átomo de hidrógeno o en donde tanto Z^2 como Z^4 son átomos de hidrógeno o en donde ni Z^2 ni Z^4 son átomo de hidrógeno, Z^1 puede ser hidrógeno. En determinadas realizaciones del compuesto de la fórmula (I), cada uno de Z^1 , Z^2 y Z^4 es un átomo de hidrógeno.

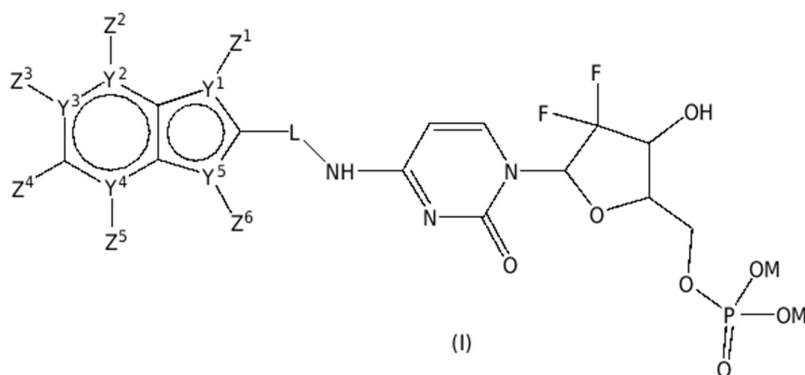
En otra realización de la fórmula (I), Z^3 se selecciona de hidrogenalquilo, alquilo deuterado, alcoxi C_1-6 , alcoxi C_1-6 deuterado, halo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo están opcionalmente sustituidos, de modo independiente, con 1-3 halo. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 es halo. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 es metilo. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 es metoxi. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 es bromo.

En otra realización de la fórmula (I), Z^5 se selecciona de hidrogenalquilo, alquilo deuterado, alcoxi C_1-6 , alcoxi C_1-6 deuterado, halo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, carboxi, formilo, nitro y ciano. En otra realización de la fórmula (I), Z^5 es halo. En otra realización de la fórmula (I), Z^5 es metilo. En otra realización de la fórmula (I), Z^5 es metoxi. En otra realización de la fórmula (I), Z^5 es bromo.

En otra realización de la fórmula (I), Z^3 y Z^5 se seleccionan cada uno de hidrogenalquilo, alquilo deuterado, alcoxi C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 deuterado, halo, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, halo, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo están opcionalmente sustituidos, de modo independiente, con 1-3 halo. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 y Z^5 se seleccionan cada uno de alquilo, alquilo deuterado, alcoxi C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 deuterado, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, halo, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo están opcionalmente sustituidos, de modo independiente, con 1-3 halo. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 y Z^5 son cada uno alcoxi C_1-C_6 deuterado. En otra realización de la fórmula (I), Z^3 y Z^5 son cada

- uno alcoxi C₁–C₆. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno alquilo C₁–C₆. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno alcoxi C₁–C₃. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno alquilo C₁–C₃. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno hidrógeno. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno halo. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno bromo. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno metoxi deuterado. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno metoxi. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno metilo. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno –OCD_{1–3}. En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ son cada uno –OCD₃.
- 10 En otra realización de la fórmula (I), Z³ y Z⁵ se seleccionan cada uno, de modo independiente, de halo, metilo, metoxi o metoxi deuterado.

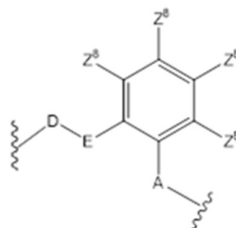
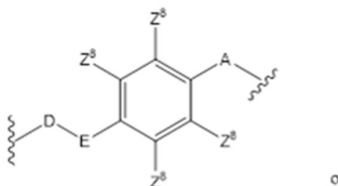
Un aspecto de la invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I):



15

o una de sus sales, ésteres, solvatos estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en donde:

–L– se define como: –alquilen (C₁–C₅)–O–C(O)–, –alquenilen (C₃–C₅)–O–,



20

A es –alquilen (C₁–C₅)–O–C(O)–;

E es $-O-$, $-O-C(O)N(H)-$, $-O-C(S)N(H)-$, $-S-$ o $-S-C(O)N(H)-$;

D es $-alquilen (C_1-C_5)-$ o $-alquenilen (C_3-C_5)-$;

Y^1 es $C=C$, carbono o nitrógeno, en donde, si Y^1 es nitrógeno, Z^1 está ausente;

Cada uno de Y^4 e Y^5 es, de modo independiente, carbono o nitrógeno, en donde,

5 si Y^3 es nitrógeno, Z^3 está ausente y, si Y^4 es nitrógeno, Z^5 está ausente;

Y^2 es C o N en donde, si Y^2 es nitrógeno, Z^2 está ausente;

Y^5 es un átomo de oxígeno, carbono, nitrógeno o azufre, en donde Z^6 está ausente cuando Y^5 es un átomo de oxígeno o de azufre;

Z^3 , Z^4 y Z^5 se seleccionan cada uno, de modo independiente, de hidrógeno,

10 alquilo, alquilo deuterado, alcoxi C_1-6 , alcoxi C_1-6 deuterado, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, alquiloxi, alqueniloxi, alquiniloxi, ariloxi, aralquiloxi, alquiltioxi, alqueniltioxi, alquiniltioxi, ariltioxi, aralquiltioxi, amino, hidroxilo, tio, halo, carboxi, formilo, nitro y ciano, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está sustituido opcionalmente, de modo independiente, con 1-3 halo;

15 siempre que al menos uno de Z^1 , Z^2 o Z^4 sea H;

Z^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo y aralquilo, en donde cada resto de alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está sustituido opcionalmente, de modo independiente, con 1-3 halo;

cada Z^8 es, de modo independiente, hidrógeno, alquilo C_1-C_6 no sustituido,

20 alquilo C_1-C_6 sustituido, alcoxi C_1-C_6 no sustituido, alcoxi C_1-C_6 deuterado no sustituido, alcoxi C_1-C_6 sustituido y alcoxi C_1-C_6 deuterado sustituido, donde el alquilo sustituido, alcoxi y alcoxi deuterado están sustituidos con uno o más grupos seleccionados de amino, amino mono- o disustituido, alquil C_1-C_5 -amino cíclico, imidazolilo, alquil C_1-C_6 -piperazinilo, morfolino, tiol, tioéter, tetrazol, ácido carboxílico,

25 éster, amido, amido mono- o disustituido, amida N-conectada, sulfonamida N-conectada, sulfoxi, sulfonato, sulfonilo, sulfoxi, sulfinato, sufinilo, fosfonooxi, fosfato o sulfonamida, en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi y arilo está opcionalmente sustituido con 1-3 halo; y

en otra realización de la fórmula (I) o una de sus sales, ésteres, amidas,

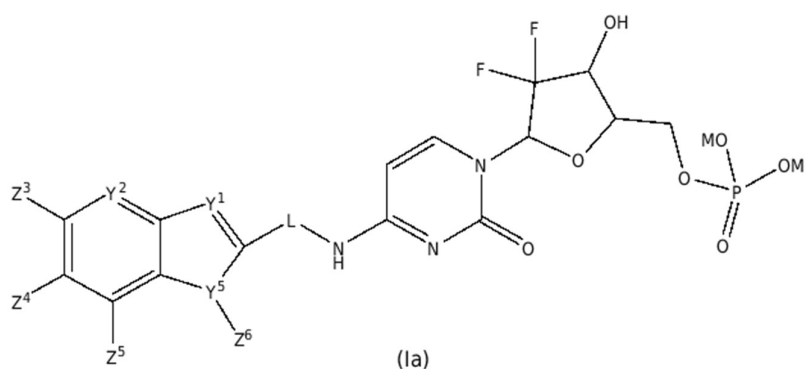
30 solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Y^3 e Y^4 son cada uno carbono.

En otra realización de la fórmula (I) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 , Z^4 y Z^5 se seleccionan cada uno de halo, alquilo C_1-C_3 no sustituido, alquilo C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 no

35 sustituido, alcoxi C_1-C_3 sustituido, alcoxi C_1-C_3 deuterado no sustituido o alcoxi C_1-C_3 sustituido, en donde cada resto de alquilo y alcoxi se puede sustituir, de modo independiente, con 1-3 halo.

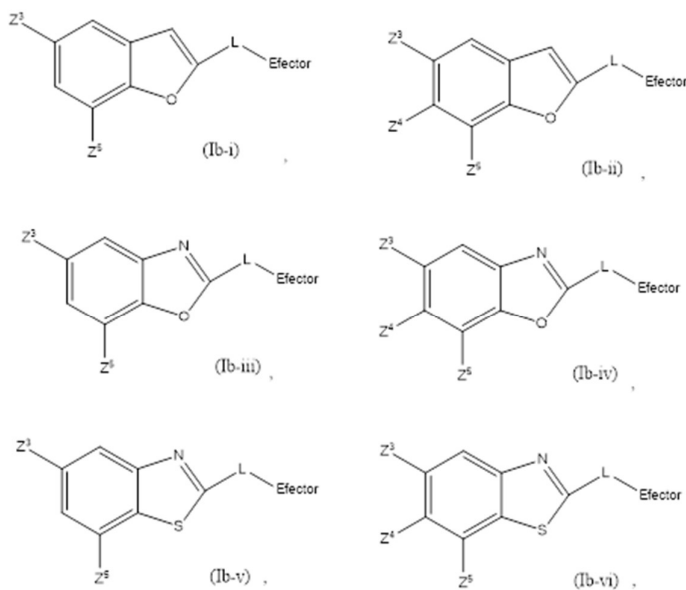
En otra realización de la fórmula (I) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 , Z^4 y Z^5 se seleccionan cada uno de bromo, cloro, fluoro, metilo opcionalmente sustituido con 1-3 halo, metilo deuterado, metoxi opcionalmente sustituido con 1-3 halo o metoxi deuterado.

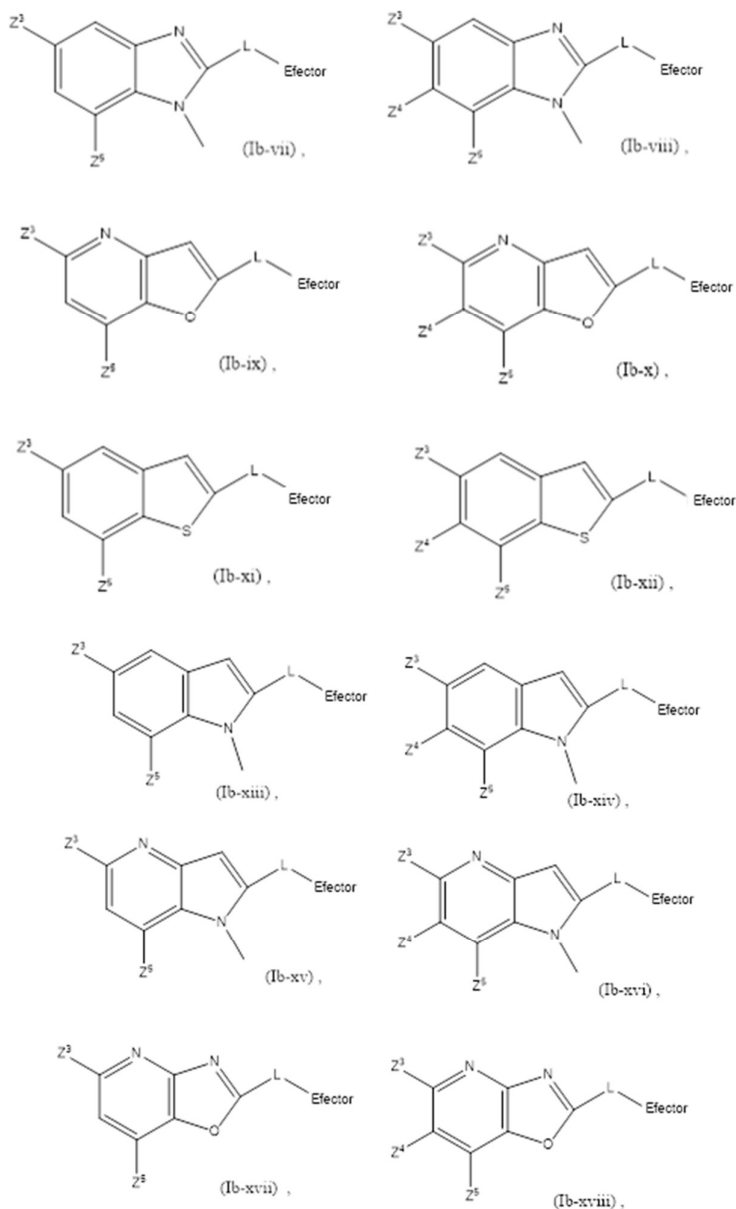
- 5 Otra realización de la fórmula (I) se refiere a un compuesto que tiene la fórmula (Ia):



- 10 o una de sus sales, ésteres, solvatos estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, en donde L, Y^1 , Y^2 , Y^5 , Z^3 , Z^4 , Z^5 , Z^6 son como se definen en cualquiera de las realizaciones de la fórmula (I).

- Otras realizaciones de la fórmula (I) y (Ia) se refieren a un compuesto que tiene una o más de las fórmulas (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii),
 15 (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi), (Ib-xvii) o (Ib-xviii):



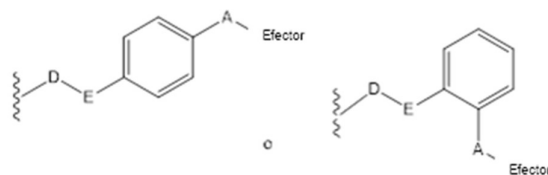


5 o una sal, éster, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde:

Z^3 y Z^5 son cada uno, de modo independiente, halo, metilo opcionalmente sustituido con 1–3 halo, metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado;

10 Z^4 , si está presente, es halo, metilo opcionalmente sustituido con 1–3 halo, metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado;

–L–Efector es: –alquilen (C_1 – C_3)–O–C(O)–Efector,



D es $\text{--alquilen (C}_1\text{--C}_3\text{)--}$;

E es --O-- , --O--C(O)N(H)-- , --O--C(S)N(H)-- , --S-- o --S--C(O)N(H)-- ;

5 A es $\text{--C(H)}_2\text{--O--C(O)--}$; y

Efector es parte de un (i) derivado de ácido fosfórico de gemcitabina o (ii) una forma salina de un derivado de ácido fosfórico de gemcitabina.

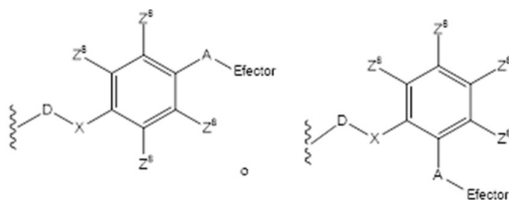
En otras realizaciones de los compuestos que tienen las fórmulas (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-
10 xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi), (Ib-xvii) o (Ib-xviii), o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, la región enlazadora (L) es $\text{--C(H)}_2\text{--O--C(O)--}$.

L representa la región enlazadora que se describe más abajo con mayor detalle. Cada una de las siguientes realizaciones de L (la región enlazadora) puede ser una
15 realización separada para cada una de las regiones disparadoras y efectoras, incluyendo cualquier combinación de las regiones disparadoras y efectoras, cuando sea químicamente viable. Varias realizaciones de la región enlazadora se describen ahora.

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi),
20 (Ib-xvii), o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es $\text{--alquilen (C}_1\text{--C}_5\text{)--O--C(O)--}$.

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi), (Ib-xvii) o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas
25 descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es $\text{--alquilen (C}_3\text{--C}_5\text{)--O--C(O)--}$.

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi), (Ib-xvii) o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es



en donde:

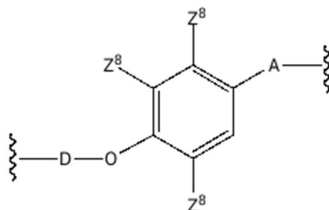
A es $\text{-alquilen (C}_1\text{--C}_5\text{)-O-C(O)-}$;

X es -O- ;

5 D es $\text{-alquilen (C}_1\text{--C}_5\text{)-}$ o $\text{-alquenilen (C}_3\text{--C}_5\text{)-}$;

y cada Z^8 es como se define en cualquiera de las realizaciones en esta memoria descriptiva.

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi),
 10 (Ib-xvii) o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es



en donde:

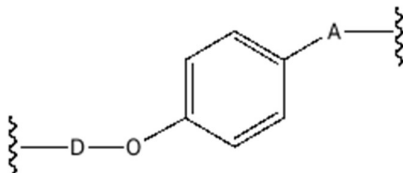
A es $\text{-alquilen (C}_1\text{--C}_2\text{)-O-C(O)-}$;

15 X es -O- ;

D es $\text{-alquilen (C}_1\text{--C}_2\text{)-}$ o $\text{-alquenileno (C}_3\text{--C}_4\text{)-}$;

y cada Z^8 es como se define en cualquiera de las realizaciones en esta memoria descriptiva.

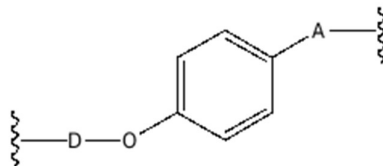
En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi),
 20 (Ib-xvii) o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es



en donde:

25 A es $\text{-alquilen (C}_1\text{--C}_2\text{)-O-C(O)-}$;

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi), (Ib-xvii) o (Ib-xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad, la región enlazadora (L) es



5

en donde

A es -alquilen (C_1-C_2)-O-C(O)-; y

D es $-CH_2-$ o $-CH_2-C(H)=C(H)-$.

En otras realizaciones de cualquiera de las fórmulas (Ic-i), (Ic-ii), (Ic-iii), (Ic-iv), (Ic-v), (Ic-vi), (Ic-vii), (Ic-viii), (Ic-ix), (Ic-x), (Ic-xi), (Ic-xii), (Ic-xiii), (Ic-xiv), (Ic-xv), (Ic-xvi), (Ic-xvii), (Ic-xviii), (Ic-xix) o (Ic-xx) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables:

R^b es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o alcoxiarilo;

15 R^z es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o arilo; y

M es $-O^- Na^+$, $-O^- Et_3NH^+$, $-O^- K^+$ u $-O^- NH_4^+$.

En otras realizaciones de cualquiera de las fórmulas (Ic-i), (Ic-ii), (Ic-iii), (Ic-iv), (Ic-v), (Ic-vi), (Ic-vii), (Ic-viii), (Ic-ix), (Ic-x), (Ic-xi), (Ic-xii), (Ic-xiii), (Ic-xiv), (Ic-xv), (Ic-xvi), (Ic-xvii), (Ic-xviii), (Ic-xix) o (Ic-xx) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables:

20 R^b es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o alcoxiarilo;

R^z es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o arilo; y

M es Et_3NH^+ .

25 En otras realizaciones de cualquiera de las fórmulas (Ic-i), (Ic-ii), (Ic-iii), (Ic-iv), (Ic-v), (Ic-vi), (Ic-vii), (Ic-viii), (Ic-ix), (Ic-x), (Ic-xi), (Ic-xii), (Ic-xiii), (Ic-xiv), (Ic-xv), (Ic-xvi), (Ic-xvii), (Ic-xviii), (Ic-xix) o (Ic-xx) o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables:

30 R^b es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o alcoxiarilo;

R^z es -alquilo (C_1-C_5) opcionalmente sustituido con heterocicloalquilo o arilo; y

M es $-O-$ alquil (C_1-C_5)-heterocicloalquilo.

En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib-i), (Ib-ii), (Ib-iii), (Ib-iv), (Ib-v), (Ib-vi), (Ib-vii), (Ib-viii), (Ib-ix), (Ib-x), (Ib-xi), (Ib-xii), (Ib-xiii), (Ib-xiv), (Ib-xv), (Ib-xvi),

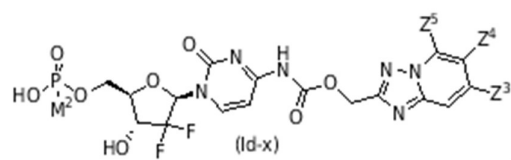
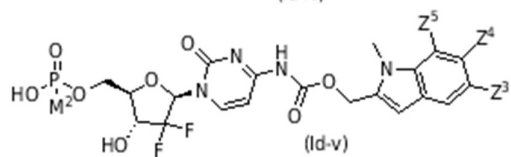
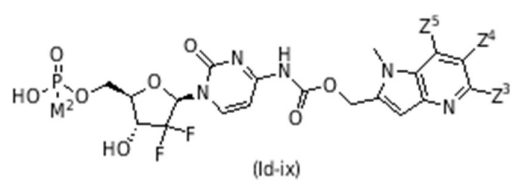
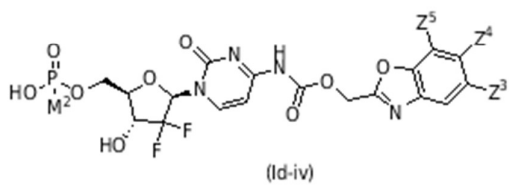
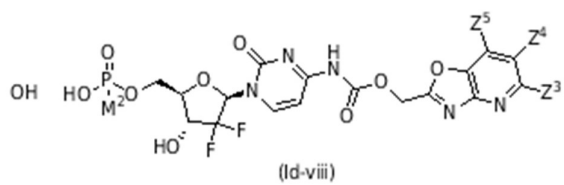
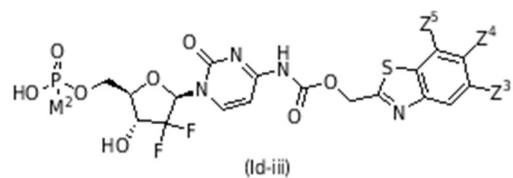
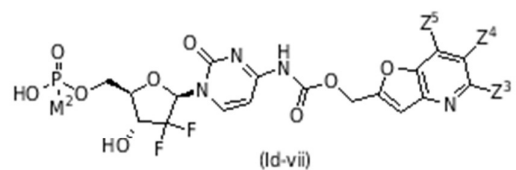
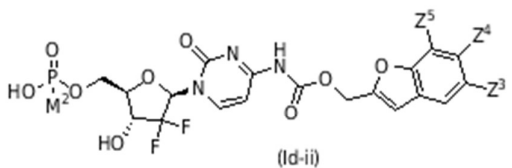
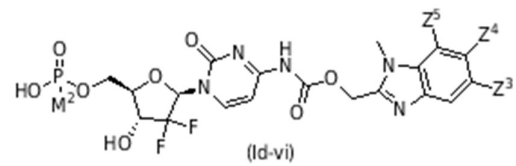
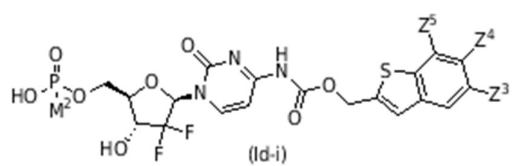
(Ib–xvii), (Ib–xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 , Z^5 y Z^4 , si están presentes, son cada uno metoxi o metoxi deuterado.

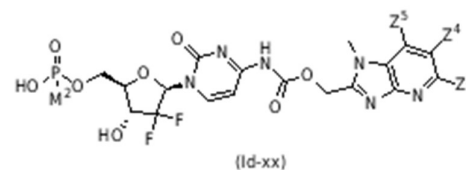
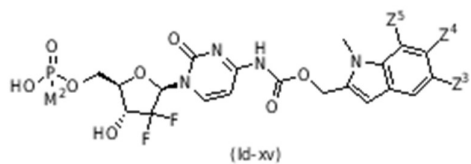
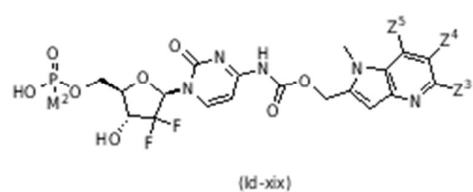
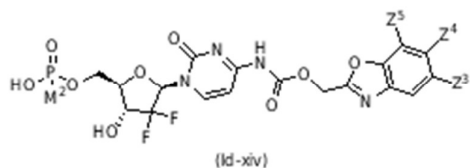
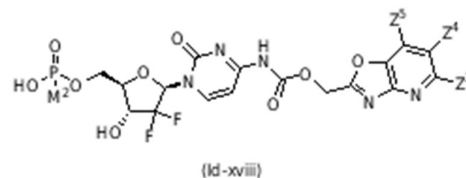
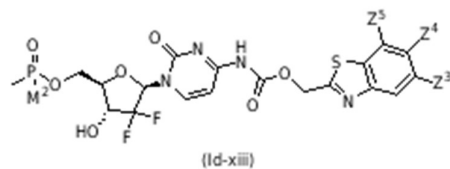
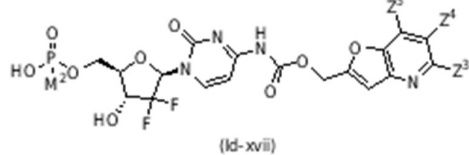
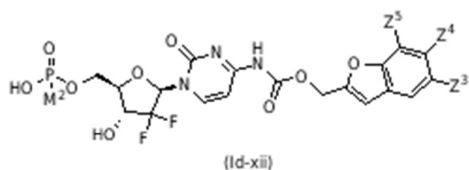
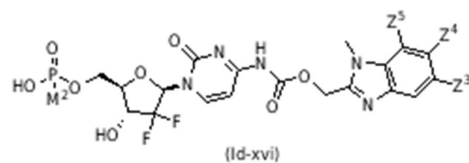
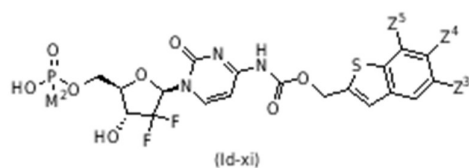
5 En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib–i), (Ib–ii), (Ib–iii), (Ib–iv), (Ib–v), (Ib–vi), (Ib–vii), (Ib–viii), (Ib–ix), (Ib–x), (Ib–xi), (Ib–xii), (Ib–xiii), (Ib–xiv), (Ib–xv), (Ib–xvi), (Ib–xvii) o (Ib–xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 , Z^5 y Z^4 , si están presentes, son
10 cada uno metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado y Efactor es como se define en cualquiera de las realizaciones descritas en la memoria descriptiva.

 En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib–i), (Ib–ii), (Ib–iii), (Ib–iv), (Ib–v), (Ib–vi), (Ib–vii), (Ib–viii), (Ib–ix), (Ib–x), (Ib–xi), (Ib–xii), (Ib–xiii), (Ib–xiv), (Ib–xv), (Ib–xvi), (Ib–xvii), (Ib–xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas
15 con anterioridad o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 y Z^5 son cada uno, de modo independiente, bromo o fluoro y Z^4 , si está presente, es metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado.

 En otras realizaciones de la fórmula (I), (Ia), (Ib–i), (Ib–ii), (Ib–iii), (Ib–iv), (Ib–v), (Ib–vi), (Ib–vii), (Ib–viii), (Ib–ix), (Ib–x), (Ib–xi), (Ib–xii), (Ib–xiii), (Ib–xiv), (Ib–xv), (Ib–xvi), (Ib–xvii), (Ib–xviii), incluyendo subrealizaciones de cada una de estas fórmulas descritas con anterioridad o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables, Z^3 y Z^5 son cada uno, de modo independiente, bromo o fluoro; Z^4 , si está presente, es metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi
20 deuterado; y Efactor es como se define en cualquiera de las realizaciones descritas en la memoria descriptiva.

 Otras realizaciones de los compuestos que tienen las fórmulas (I) relacionadas con una o más de las siguientes fórmulas (Id–i), (Id–ii), (Id–iii), (Id–iv), (Id–v), (Id–vi), (Id–vii), (Id–viii), (Id–ix), (Id–x), (Id–xi), (Id–xii), (Id–xiii), (Id–xiv), (Id–xv), (Id–xvi), (Id–xvii), (Id–xviii), (Id–xix) o (Id–xx):
30



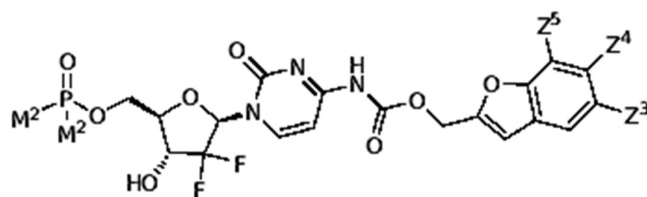


o una sal, éster, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de cualquiera de las fórmulas anteriores, en donde:

5 Z^3 , Z^4 y Z^5 son cada uno, de modo independiente, metilo opcionalmente sustituido con 1–3 halo, halo, metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado; y

M^2 es $-O^- Na^+$, $-O^- Et_3NH^+$, $-O^- K^+$, $-O^- NH_4^+$.

En algunas realizaciones, se proporciona en el presente documento un compuesto que tiene la fórmula (Id-ii-1)



10

o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables

en donde:

Z^3 , Z^4 y Z^5 son cada uno, de modo independiente, hidrógeno, metilo opcionalmente sustituido con 1–3 halo, halo, metoxi opcionalmente sustituido con 1–3 halo o metoxi deuterado; y

5 cada M^2 se selecciona, de modo independiente, del grupo que consiste en OH y O^- (M^1), en donde (M^1) en cada aparición es, de modo independiente, un catión metálico, amonio, un catión de alquilamonio o un catión de aminoácido.

En algunas realizaciones de (Id–ii–1), una aparición de M^2 es OH; y la otra aparición de M^2 es O^- (M^1).

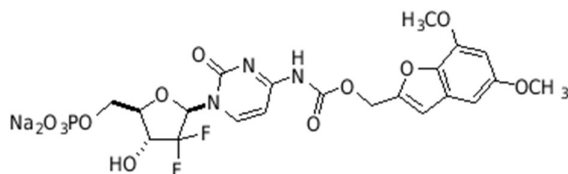
10 En algunas otras realizaciones, cada aparición de M^2 es un O^- seleccionado de modo independiente (M^1).

En algunas realizaciones de (Id–ii–1), (M^1) se selecciona del grupo que consiste en Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , NH_4^+ , $(HNEt_3)^+$, meglumina- H^+ , Trometamina- H^+ , Dietanolamina- H^+ , lisina- H^+ y arginina- H^+ . En determinadas realizaciones, (M^1) es Na^+ .

15 En algunas realizaciones de (Id–ii–1), cada uno de Z^5 y Z^3 es, de modo independiente, metoxi.

En algunas realizaciones de (Id–ii–1), Z^4 es hidrógeno.

En algunas realizaciones de (Id–ii–1), el compuesto es:



20 o una de sus sales, ésteres, amidas, solvatos o estereoisómeros farmacéuticamente aceptables.

Otra realización de compuestos de la fórmula (I) son uno o más de los compuestos descritos en los Ejemplos en el presente documento o una sal, éster, amida, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable de uno o más de los compuestos 1–5.

25 La parte de gemcitabina de los compuestos de la fórmula (I) es el resto que proporciona el efecto diana deseado en las células, típicamente aquellas en las que se expresa CYP1B1. En todas las realizaciones de la fórmula (I), la porción enlazadora de la fórmula (I) está unida directamente a la porción de base que contiene amino del componente efector de la fórmula (I). Cuando se libera, la molécula efectora tiene un
30 efecto farmacológico perceptible en las células en las que se libera.

La molécula efectora tiene un efecto citostático o citotóxico sobre la célula que sirve para provocar su liberación (por ejemplo, células que expresan CYP1B1). Como se sabe, una molécula citotóxica es una molécula que es tóxica para las células,

mientras que un agente citostático es uno que suprime el crecimiento y/o la replicación de las células.

Para su uso de acuerdo con la presente invención, los compuestos o una sal, solvato, éster o amida fisiológicamente aceptable de ellos descritos en este documento pueden presentarse como una formulación farmacéutica, que comprende el compuesto o sal, éster, amida u otro derivado fisiológicamente funcional del mismo compuesto, junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables para ellos y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. Cualquier portador es aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para su receptor.

Los ejemplos de sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la invención incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos carboxílicos orgánicos tales como ácidos acético, láctico, tartárico, maleico, cítrico, pirúvico, oxálico, fumárico, oxaloacético, isetiónico, lactobiónico y succínico; ácidos sulfónicos orgánicos tales como ácidos metanosulfónicos, etanosulfónicos, bencenosulfónicos y p-toluenosulfónicos y ácidos inorgánicos tales como ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico.

La determinación de ésteres o amidas fisiológicamente aceptables, particularmente ésteres, está dentro de las habilidades de los expertos en la técnica.

Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manejar un solvato correspondiente de los compuestos descritos en este documento, que puede usarse en cualquiera de los usos/métodos descritos. El término solvato se usa en el presente documento para referirse a un complejo de soluto, tal como un compuesto o sal del compuesto, y un disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato puede denominarse un hidrato, por ejemplo, un monohidrato, dihidrato, trihidrato, etc., dependiendo del número de moléculas de agua presentes por molécula de sustrato.

Se apreciará que los compuestos de la presente invención puedan existir en diversas formas estereoisoméricas y los compuestos de la presente invención tal como se definieron aquí con anterioridad incluyen todas las formas estereoisoméricas y sus mezclas, incluidos los enantiómeros y las mezclas racémicas. La presente invención incluye dentro de su alcance el uso de cualquier forma estereoisomérica o mezcla de estereoisómeros, incluidos los enantiómeros individuales de los compuestos de la fórmula (I), así como mezclas total o parcialmente racémicas de dichos enantiómeros.

Los expertos en la técnica también entenderán que los SMDC anticancerígenos, como los descritos en el presente documento, pueden dirigirse hacia tumores particulares mediante la unión de un resto dirigido al tumor, como el péptido dirigido al tumor, por ejemplo, pequeños péptidos identificados a través del desarrollo de

bibliotecas de péptidos exhibidos en fagos. Dichos péptidos u otros restos pueden ayudar a dirigir los conjugados que los comprenden a un cáncer particular, particularmente un tumor sólido. Por consiguiente, la provisión de tales conjugados, es decir, de un compuesto de la invención conjugado con un resto dirigido al tumor, forma un aspecto adicional de esta invención al igual que las composiciones, usos y métodos descritos en el presente documento que comprenden o implican el uso de tales conjugados.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse usando reactivos y técnicas fácilmente disponibles en el arte y/o métodos ejemplares como se describe a continuación. Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención exhiben citotoxicidad en células que expresan la enzima CYP1B1, pero son sustancialmente no tóxicos en células normales que no expresan CYP1B1. Los compuestos de la invención también pueden presentar citotoxicidad en células que expresan la enzima CYP1A1. En la práctica, por lo tanto, los compuestos de la invención son profármacos no tóxicos que se convierten (típicamente por CYP1B1) en agentes citotóxicos.

Adecuadamente, los compuestos de la invención tienen un valor de IC_{50} de citotoxicidad como se define a continuación o inferior a 10 μM , ventajosamente inferior a 5 μM , por ejemplo, inferior a 1,0 μM o 0,5 μM .

En algunas realizaciones, la citotoxicidad de un compuesto de la invención puede medirse incubando el compuesto a diferentes diluciones en serie con células diseñadas para expresar CYP1B1. Adecuadamente, dichas células pueden ser células de ovario de hámster chino (CHO), que pueden contener CYP1B1 recombinante y reductasa de citocromo P-450 (RCP). Los altos niveles de enzima funcional cuando se coexpresan con P-450 reductasa humana se pueden lograr usando la amplificación del gen de dihidrofolato reductasa (DHFR). Típicamente, las células modificadas pueden incubarse con el compuesto y, después de un período de tiempo adecuado (por ejemplo, 96 horas), pueden incubarse adicionalmente (por ejemplo, durante 1,5 horas) con un reactivo de ensayo adecuado para proporcionar una indicación del número de células vivas en cultivo. Un reactivo de ensayo adecuado es MTS (véase más adelante) que las células biorreducen en un producto de formazán que es soluble en medio de cultivo de tejidos. La absorbancia del producto de formazán se puede medir directamente a 510 nm, y el producto de formazán cuantitativo medido por la cantidad de absorbancia a 490 nm o 510 nm es directamente proporcional al número de células vivas en cultivo. Los métodos detallados para determinar el valor de IC_{50} de un compuesto de acuerdo con la invención se describen en el Ejemplo 3 a continuación.

A modo de comparación, los valores de IC_{50} de los compuestos de la invención también se pueden medir en células (por ejemplo, células de ovario de hámster chino)

que no contienen CYP1B1, por ejemplo, células CHO de tipo salvaje. Los compuestos de la invención pueden tener adecuadamente una selectividad de pliegue para células que expresan CYP1B1 de al menos 200, donde la “selectividad de pliegue” se define como el cociente del valor de IC₅₀ de un compuesto dado en células que no expresan CYP1 y el valor de IC₅₀ del mismo compuesto en las células que expresan CYP1B1.

En algunas realizaciones, la citotoxicidad de un compuesto de la invención también se puede medir incubando el compuesto a diferentes diluciones en serie con células tumorales primarias de cabeza y cuello derivadas de pacientes con carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello como se describe en el Ejemplo 5.

En algunas realizaciones, la eficacia in vivo de un compuesto de la invención puede medirse implantando células tumorales primarias de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello que expresan constitutivamente CYP1B1 subcutáneamente en el costado de un ratón desnudo para generar modelos de xenoinjerto de tumor humano primario y medir el efecto del tratamiento con SMDC sobre el crecimiento tumoral.

En algunas realizaciones, los parámetros farmacocinéticos in vivo (AUC, concentración, t_{max}, t_{1/2}) de un compuesto de esta invención pueden medirse en el plasma y tejidos de especies de roedores y no roedores, incluyendo ratones, ratas, perros y monos.

Como tal, la presente invención también abarca el uso de uno o más de los compuestos de la invención, incluidos los ésteres, amidas, sales, solvatos y SMDC farmacéuticamente aceptables mencionados con anterioridad, para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, particularmente el tratamiento o la profilaxis de afecciones proliferativas tales como, por ejemplo, trastornos o enfermedades proliferativas, en humanos y animales no humanos, incluidas afecciones proliferativas que en determinadas realizaciones de la invención se caracterizan por células que expresan CYP1B1. Más particularmente, la invención comprende el uso de uno o más de los compuestos de la invención para el tratamiento de cánceres caracterizados en determinadas realizaciones de la invención por expresión de CYP1B1.

Por “condición proliferativa” se entiende en el presente documento una enfermedad o trastorno que se caracteriza por una proliferación celular no deseada o no controlada de células excesivas o anormales que no se desea, como crecimiento neoplásico o hiperplásico, ya sea in vitro o in vivo. Ejemplos de afecciones proliferativas son la proliferación celular premaligna y maligna, que incluye neoplasmas y tumores malignos, cánceres, leucemias, psoriasis, enfermedades óseas, trastornos fibroproliferativos (por ejemplo, de tejidos conectivos) y aterosclerosis.

Dicha condición proliferativa puede caracterizarse en determinadas realizaciones de la invención por células que expresan CYP1B1.

Dicha condición proliferativa puede seleccionarse entre cáncer de vejiga, cerebro, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, ovario, próstata y piel.

5 En algunas realizaciones, dicha afección proliferativa puede comprender un tumor sólido.

Otra realización se refiere a un método de tratamiento o profilaxis de una afección proliferativa, donde dicho método comprende administrar a un sujeto una cantidad terapéutica o profilácticamente útil de un compuesto de acuerdo con la fórmula
10 (I), que incluye todas las realizaciones de la fórmula (I), o sal, éster, amida o solvato farmacéuticamente aceptable de ellos, en donde la afección proliferativa es cáncer de vejiga, cerebro, mama, colon, cabeza y cuello, riñón, pulmón, hígado, ovario, próstata y piel.

Por “tratamiento” en el presente documento se entiende el tratamiento por
15 terapia, ya sea de un animal humano o no humano (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se logra algún efecto terapéutico deseado sobre la condición proliferativa; por ejemplo, la inhibición del progreso del trastorno, que incluye una reducción en la tasa de progreso, un alto en la tasa de progreso, una mejoría del trastorno o la cura de la afección. También se incluye el tratamiento como medida
20 profiláctica. Las referencias en este documento a prevención o profilaxis en este documento no indican ni requieren la prevención completa de una afección; su manifestación, en cambio, puede reducirse o retrasarse mediante profilaxis o prevención según la presente invención. Por “cantidad terapéuticamente eficaz” se entiende aquí una cantidad de uno o más compuestos de la invención o una
25 formulación farmacéutica que comprende uno o más compuestos, que es eficaz para producir dicho efecto terapéutico, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención pueden usarse como agentes anticancerígenos. Por “agente anticancerígeno” se entiende aquí un
30 compuesto que trata un cáncer (es decir, un compuesto que es útil en el tratamiento de un cáncer). El efecto anticancerígeno de los compuestos de la invención puede surgir a través de uno o más mecanismos, que incluyen la regulación de la proliferación celular, la inhibición de la angiogénesis, la inhibición de la metástasis, la inhibición de la invasión o la promoción de la apoptosis.

35 Se apreciará que las dosis apropiadas de los compuestos de la invención puedan variar de un paciente a otro. La determinación de la dosis óptima generalmente implicará el equilibrio del nivel de beneficio terapéutico frente a cualquier riesgo o

efectos secundarios perjudiciales de los tratamientos de la presente invención. El nivel de dosificación seleccionado dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular, la vía de administración, el tiempo de administración, la velocidad de excreción del compuesto, la duración del tratamiento, otros medicamentos, compuestos o materiales utilizados en combinación y la edad, sexo, peso, estado, salud general e historial médico previo del paciente. La cantidad de compuesto y la vía de administración dependerán en última instancia del médico, aunque en general la dosis será alcanzar concentraciones locales en el sitio de acción para lograr el efecto deseado.

La administración in vivo se puede efectuar en una dosis, en forma continua o intermitente a lo largo del curso del tratamiento. Los métodos para determinar los medios y la dosis de administración más efectivos son bien conocidos por una persona experta en la técnica y variarán con la formulación utilizada para la terapia, el propósito de la terapia, la célula diana que se está tratando y el sujeto que se está tratando. Las administraciones únicas o múltiples se pueden llevar a cabo con el nivel de dosis y el patrón seleccionados por el médico tratante.

Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, tópica (incluyendo dérmica, bucal y sublingual), rectal o parenteral (incluida la administración subcutánea, intradérmica, intramuscular e intravenosa), nasal y pulmonar, por ejemplo, por inhalación. La formulación puede presentarse convenientemente, cuando sea apropiado, en unidades de dosificación discretas y puede prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Los métodos típicamente incluyen la etapa de asociar un compuesto activo con portadores líquidos o portadores sólidos finamente divididos o ambos y luego, si es necesario, moldear el producto en la formulación deseada.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración oral en las que el portador es un sólido se presentan más preferiblemente como formulaciones de dosis unitarias tales como bolos, cápsulas o tabletas que contienen cada una de ellas una cantidad predeterminada de compuesto activo. Se puede hacer una tableta por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Las tabletas comprimidas se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada un compuesto activo en forma de flujo libre, como un polvo o gránulos opcionalmente mezclados con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente lubricante, agente tensioactivo o agente dispersante. Las tabletas moldeadas se pueden hacer moldeando un compuesto activo con un diluyente líquido inerte. Las tabletas pueden revestirse opcionalmente y, si no están revestidas, pueden clasificarse opcionalmente. Las cápsulas se pueden preparar llenando un compuesto activo, ya sea solo o mezclado

con uno o más ingredientes accesorios, en las cubiertas de la cápsula y luego sellando de la manera habitual. Los sellos son análogos a las cápsulas en las que un compuesto activo junto con cualquier ingrediente accesorio se sella en un sobre de papel de arroz. Un compuesto activo también puede formularse como gránulos dispersables, que
5 pueden suspenderse, por ejemplo, en agua antes de la administración, o espolvorearse sobre los alimentos. Los gránulos pueden envasarse, por ejemplo, en una bolsita. Las formulaciones adecuadas para administración oral en las que el portador es un líquido pueden presentarse como una solución o una suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua.

10 Las formulaciones para administración oral incluyen formas de dosificación de liberación controlada, por ejemplo, tabletas en las que un compuesto activo se formula en una matriz de control de liberación apropiada, o se reviste con una película de control de liberación adecuada. Dichas formulaciones pueden ser particularmente convenientes para uso profiláctico.

15 Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración rectal en las que el portador es un sólido se presentan más preferiblemente como supositorios de dosis unitarias. Los portadores adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales comúnmente utilizados en la técnica. Los supositorios pueden formarse convenientemente mediante la mezcla de un compuesto activo con el o los portadores
20 ablandados o fundidos seguido de enfriamiento y conformación en moldes.

Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones o suspensiones estériles de un compuesto activo en portadores acuosos u oleaginosos.

25 Las preparaciones inyectables pueden adaptarse para inyección en bolo o infusión continua. Dichas preparaciones se presentan convenientemente en recipientes de dosis unitarias o multidosis, que se sellan después de la introducción de la formulación hasta que se requieren para su uso. Alternativamente, un compuesto activo puede estar en forma de polvo que se constituye con un portador adecuado, tal como agua estéril, libre de pirógenos, antes de su uso.

30 Un compuesto activo también puede formularse como preparaciones de depósito de acción prolongada, que pueden administrarse por inyección intramuscular o por implantación, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular. Las preparaciones de depósito pueden incluir, por ejemplo, materiales poliméricos o hidrófobos adecuados, o resinas de intercambio iónico. Tales formulaciones de acción prolongada
35 son particularmente convenientes para uso profiláctico.

Las formulaciones adecuadas para la administración pulmonar a través de la cavidad bucal se presentan de tal manera que las partículas que contienen un

compuesto activo y deseablemente que tienen un diámetro en el intervalo de 0,5 a 7 micrones se liberan en el árbol bronquial del receptor.

Como una posibilidad, tales formulaciones están en forma de polvos finamente triturados que pueden presentarse de modo conveniente en una cápsula perforable, en
5 apropiadamente, por ejemplo, de gelatina, para usar en un dispositivo de inhalación, o de manera alternativa como una formulación autopropelente que comprende un activo compuesto, un propelente gaseoso o líquido adecuado y, opcionalmente, otros ingredientes tales como un tensioactivo y/o un diluyente sólido. Los propelentes líquidos
10 adecuados incluyen propano y los clorofluorocarbonos, y los propelentes gaseosos adecuados incluyen dióxido de carbono. También se pueden emplear formulaciones autopropelentes en las que se dispensa un compuesto activo en forma de gotas de solución o suspensión.

Dichas formulaciones autopropelentes son análogas a las conocidas en la técnica y pueden prepararse mediante procedimientos establecidos. Adecuadamente,
15 se presentan en un recipiente provisto de una válvula de funcionamiento manual o automático que tiene las características de pulverización deseadas; ventajosamente, la válvula es de tipo dosificado que entrega un volumen fijo, por ejemplo, de 25 a 100 microlitros, en cada una de sus operaciones.

Como una posibilidad adicional, un compuesto activo puede estar en forma de
20 una solución o suspensión para usar en un atomizador o nebulizador mediante el cual se emplea una corriente de aire acelerada o agitación ultrasónica para producir una fina niebla de gotitas para inhalación.

Las formulaciones adecuadas para administración nasal incluyen preparaciones generalmente similares a las descritas con anterioridad para administración pulmonar.
25 Cuando se dispensan, tales formulaciones deberían tener deseablemente un diámetro de partícula en el intervalo de 10 a 200 micrones para permitir la retención en la cavidad nasal; esto puede lograrse, según corresponda, mediante el uso de un polvo de un tamaño de partícula adecuado o la elección de una válvula adecuada. Otras formulaciones adecuadas incluyen polvos gruesos que tienen un diámetro de partícula
30 en el intervalo de 20 a 500 micrones, para administración por inhalación rápida a través del paso nasal desde un recipiente que se mantiene cerca de la nariz, y gotas nasales que comprenden del 0,2 al 5% p/v de un compuesto activo en solución o suspensión acuosa u oleosa.

Debe entenderse que, además de los ingredientes de soporte mencionados con
35 anterioridad, las formulaciones farmacéuticas descritas con anterioridad pueden incluir uno o más ingredientes de soporte adicionales tales como diluyentes, tampones, agentes aromatizantes, aglutinantes, agentes tensioactivos, espesantes, lubricantes,

conservantes (incluidos antioxidantes) y similares, y sustancias incluidas con el fin de hacer que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto.

Los portadores farmacéuticamente aceptables son bien conocidos por los expertos en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, 0,1 M y preferiblemente 0,05 M de tampón fosfato o 0,8% de solución salina. Además, los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas. Ejemplos de disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales como el aceite de oliva y ésteres orgánicos inyectables como el oleato de etilo. Los portadores acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, que incluyen solución salina y medios tamponados. Los portadores parenterales incluyen solución de cloruro de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, lactato de Ringer o aceites fijos. También pueden estar presentes conservantes y otros aditivos, tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes, y similares.

Las formulaciones adecuadas para formulación tópica se pueden proporcionar, por ejemplo, como geles, cremas o ungüentos.

También se pueden proporcionar formulaciones líquidas o en polvo que se pueden rociar o pulverizar directamente sobre el sitio a tratar, por ejemplo, una herida o úlcera. Alternativamente, un portador como un vendaje, una gasa, una malla o similar se puede rociar o espolvorear con la formulación y luego aplicar en el sitio por tratar.

Las formulaciones terapéuticas para uso veterinario pueden estar convenientemente en forma de polvo o concentrado líquido. De acuerdo con la práctica estándar de formulación veterinaria, pueden incorporarse excipientes solubles en agua convencionales, tales como lactosa o sacarosa, en los polvos para mejorar sus propiedades físicas. Por lo tanto, los polvos particularmente adecuados de esta invención comprenden 50 a 100% p/p y preferiblemente 60 a 80% p/p del ingrediente o ingredientes activos y 0 a 50% p/p y preferiblemente 20 a 40% p/p de los excipientes veterinarios convencionales. Estos polvos pueden agregarse a los alimentos para animales, por ejemplo, mediante una premezcla intermedia, o diluirse en agua potable para animales.

Los concentrados líquidos de esta invención contienen adecuadamente el compuesto o un derivado o una de sus sales y pueden incluir opcionalmente un disolvente miscible en agua veterinariamente aceptable, por ejemplo polietilenglicol, propilenglicol, glicerol, glicerol formal o un disolvente tal mezclado con hasta el 30% v/v de etanol. Los concentrados líquidos pueden administrarse al agua de bebida de los animales.

En general, una dosis adecuada de uno o más compuestos de la invención puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 5000 µg/kg de peso corporal del sujeto por día, por ejemplo, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 1000, 2500 o 5000 µg/kg por día. Cuando el o los compuestos son una sal, solvato, SMDC o similares, la cantidad administrada puede calcularse sobre la base del compuesto original y, por lo tanto, el peso real por utilizar puede aumentarse proporcionalmente.

En algunas realizaciones, uno o más compuestos de la presente invención pueden usarse en terapias combinadas para el tratamiento de afecciones proliferativas del tipo descrito con anterioridad, es decir, en combinación con otros agentes terapéuticos. Los ejemplos de tales otros agentes terapéuticos incluyen, pero no se limitan a inhibidores de topoisomerasa, agentes alquilantes, antimetabolitos, aglutinantes de ADN e inhibidores de microtúbulos (agentes diana de tubulina), tales como cisplatino, ciclofosfamida, etopósido, irinotecán, fludarabina, 5FU, taxanos o mitomicina C. Otros agentes terapéuticos serán evidentes para los expertos en la técnica. Para el caso de compuestos activos combinados con otras terapias, los dos o más tratamientos pueden administrarse en programas de dosis individualmente variables y a través de diferentes rutas.

La combinación de los agentes enumerados con anterioridad con un compuesto de la presente invención quedaría a discreción del médico que seleccionaría las dosis usando su conocimiento general común y regímenes de dosificación conocidos por un profesional experto.

Cuando un compuesto de la invención se administra en terapia de combinación con uno, dos, tres, cuatro o más, preferiblemente uno o dos, preferiblemente otro agente terapéutico, los compuestos pueden administrarse simultánea o secuencialmente. Cuando se administran secuencialmente, se pueden administrar a intervalos muy cortos (por ejemplo, durante un período de 5–10 minutos) o en intervalos más largos (por ejemplo, 1, 2, 3, 4 o más horas de diferencia, o incluso un período más largo de diferencia cuando sea necesario), el régimen de dosificación preciso es acorde con las propiedades de los agentes terapéuticos.

Los compuestos de la invención también pueden administrarse junto con tratamientos no quimioterapéuticos tales como radioterapia, terapia fotodinámica, terapia génica, cirugía y dietas controladas.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método de diagnóstico de un paciente para la presencia de células tumorales que expresan la enzima CYP1B1 que comprende (a) administrar al paciente uno o más compuestos de la invención; (b) determinar la cantidad de metabolito hidroxilado correspondiente que se produce

posteriormente; y (c) correlacionar la cantidad con la presencia o ausencia de células tumorales en el paciente.

Otro aspecto de la invención se refiere a un método para (1) identificar la presencia de un tumor en un paciente; y (2) tratar al paciente, identificado como que necesita el tratamiento, mediante la administración de una cantidad terapéutica o profilácticamente útil de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1–15, o una de sus sales, ésteres, amidas o solvatos farmacéuticamente aceptable. En una realización, el tumor puede identificarse empleando un biomarcador tumoral. Los biomarcadores tumorales también pueden ser útiles para establecer un diagnóstico específico, como determinar si los tumores son de origen primario o metastásico. Para hacer esta distinción, las alteraciones cromosómicas que se encuentran en las células ubicadas en el sitio del tumor primario se pueden examinar contra las que se encuentran en el sitio secundario. Si las alteraciones coinciden, el tumor secundario puede identificarse como metastásico; mientras que si las alteraciones difieren, el tumor secundario puede identificarse como un tumor primario distinto.

En otra realización, el tumor puede identificarse mediante una biopsia. Ejemplos no limitantes de biopsias que pueden emplearse incluyen: biopsia por aspiración con aguja fina, biopsia con aguja gruesa, biopsia asistida por vacío, biopsia guiada por imagen, biopsia quirúrgica, biopsia por incisión, biopsia endoscópica, biopsia de médula ósea.

En otra realización, la identificación del tumor puede ser por resonancia magnética (MRI) es una prueba que utiliza campos magnéticos para producir imágenes detalladas del cuerpo.

En otra realización, la identificación del tumor puede realizarse mediante un escáner óseo. En otra realización, la identificación del tumor puede ser una tomografía computarizada (TC), escaneo de CAT.

En otra realización, la identificación del tumor puede realizarse mediante una exploración PET–CT integrada que combina imágenes de una exploración por tomografía por emisión de positrones (PET) y una exploración por tomografía computarizada (CT) que se han realizado al mismo tiempo usando la misma máquina.

En otra realización, la identificación del tumor puede realizarse mediante un ultrasonido, que es una prueba de imagen que utiliza ondas sonoras de alta frecuencia para localizar un tumor dentro del cuerpo.

En realizaciones más específicas, los diagnósticos complementarios que se pueden usar para ayudar a tratar a los pacientes, como una forma de medicina

personalizada, se pueden obtener de Ventana Medical Systems, Inc., un miembro del Grupo Roche, ubicado en 1910 Innovation Park Drive, Tuscon, AZ 85755.

Los ejemplos y el esquema a continuación representan el procedimiento de síntesis general para los compuestos descritos en el presente documento. La síntesis de los compuestos descritos en este documento no está limitada por estos ejemplos y esquemas. Un experto en la técnica sabrá que se pueden usar otros procedimientos para sintetizar los compuestos descritos en este documento, y que los procedimientos descritos en los ejemplos y esquemas son solo uno de tales procedimientos. En las descripciones a continuación, un experto en la técnica reconocerá que las condiciones de reacción específicas, los reactivos añadidos, los disolventes y las temperaturas de reacción pueden modificarse para la síntesis de compuestos específicos que están dentro del alcance de esta descripción.

Preparación de compuestos

General

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H , ^{13}C y ^{31}P se registraron en el disolvente indicado en un espectrómetro Bruker Avance DPX 400 MHz. Los desplazamientos químicos se expresan en ppm. Los patrones de división de señal se describen como singlete (s), singlete ancho (bs), doblete (d), triplete (t), cuartete (q), multiplete (m) o combinación de ellos. Los espectros de masas de electronebulización (ES) de baja resolución se registraron en un espectrómetro de masas Bruker MicroTof, ejecutado en un modo de iones positivos, utilizando metanol/agua (95:5) o acetonitrilo acuoso (1:1) + ácido fórmico al 0,1% como fase móvil. Las mediciones de alta resolución de electronebulización se realizaron en un espectrómetro de masas Bruker Microtof. El análisis de LC-MS se realizó con una HPLC 1100 de Agilent (columna Phenomenex Gemini $5\mu\text{ C}_{18}$ 110Å $50 \times 3,0$ mm, eluida con (0 al 20% de MeOH/ H_2O) y un detector de matriz de diodos en serie con un espectrómetro de masas Bruker Microtof. La cromatografía en columna se realizó con gel de sílice (malla 230–400) o RediSep[®].4, columnas preempaquetadas de sílice de 12, 40 u 80 g. Todos los materiales de partida están disponibles comercialmente y se usaron sin purificación adicional. Todas las reacciones se llevaron a cabo en seco e inerte condiciones a menos que se indique lo contrario.

Los métodos para la preparación y/o separación y aislamiento de estereoisómeros simples a partir de mezclas racémicas o mezclas no racémicas de estereoisómeros son bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los isómeros (R) y (S) ópticamente activos pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales. Los enantiómeros (isómeros R y S) pueden

resolverse mediante métodos conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo: mediante la formación de sales o complejos diastereoisoméricos que pueden separarse, por ejemplo, por cristalización; mediante la formación de derivados diastereoisoméricos que pueden separarse, por ejemplo, por cristalización, reacción selectiva de un enantiómero con un reactivo específico de enantiómero, por ejemplo oxidación o reducción enzimática, seguido de separación de los enantiómeros modificados y no modificados; o cromatografía de gas líquido o líquido en un entorno quiral, por ejemplo, sobre un soporte quiral, tal como sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. Se apreciará que cuando un enantiómero deseado se convierte en otra entidad química mediante uno de los procedimientos de separación descritos con anterioridad, se puede requerir un paso adicional para liberar la forma enantiomérica deseada. Alternativamente, se puede sintetizar un enantiómero específico por síntesis asimétrica usando reactivos, sustratos, catalizadores o disolventes ópticamente activos o convirtiendo un enantiómero en el otro por transformación asimétrica. Para una mezcla de enantiómeros, enriquecida en un enantiómero particular, el enantiómero componente principal puede enriquecerse adicionalmente (con pérdida concomitante de rendimiento) por recristalización.

Los ejemplos a continuación representan el procedimiento sintético general para los compuestos descritos aquí. La síntesis de los compuestos descritos en este documento no está limitada por estos ejemplos y esquemas. Un experto en la técnica sabrá que se pueden usar otros procedimientos para sintetizar los compuestos descritos aquí, y que los procedimientos descritos en los ejemplos y esquemas son solo uno de tales procedimientos. En las descripciones a continuación, un experto en la técnica reconocería que las condiciones de reacción específicas, los reactivos añadidos, los disolventes y las temperaturas de reacción pueden modificarse para la síntesis de compuestos específicos que entran dentro del alcance de esta descripción. A menos que se especifique lo contrario, los compuestos intermedios en los ejemplos a continuación, que no contienen una descripción de cómo se hacen, están disponibles comercialmente para un experto en la técnica, o pueden ser sintetizados por el experto en la técnica utilizando moléculas precursoras disponibles comercialmente y métodos de síntesis conocidos en la técnica.

A menos que se especifique lo contrario, los compuestos intermedios en los ejemplos a continuación, que no contienen una descripción de cómo se hacen, están disponibles comercialmente para un experto en la técnica, o pueden ser sintetizados por el experto en la técnica.

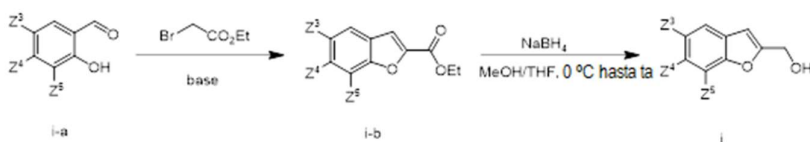
EJEMPLOS GENERALES DE PREPARACIÓN PARA PRECURSORES DISPARADORES

Las moléculas precursoras disparadoras para los compuestos de la invención pueden prepararse mediante los siguientes esquemas de síntesis y haciendo cualquier modificación necesaria a los materiales de partida, reactivos y/o condiciones de reacción conocidos por la química médica experta para llegar a los compuestos de la invención. Las moléculas precursoras sintéticas para estos esquemas están disponibles comercialmente o su preparación es conocida en la técnica.

Ejemplo de preparación 1

Precursores disparadores de benzofurano

Los precursores disparadores de benzofurano (i), en donde Z^3 , Z^4 y Z^5 son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando el siguiente esquema:



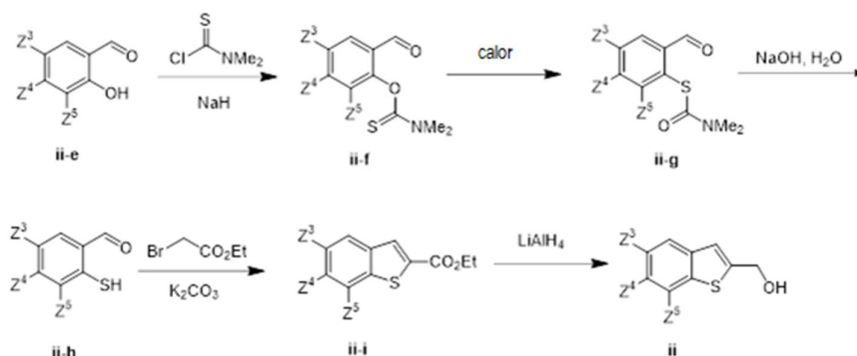
La síntesis de benzofuran-2-carboxilatos es ampliamente conocida y muchos métodos existen para la síntesis de intermedios como (i-b). Como tales, los materiales de partida de salicilaldehído apropiadamente sustituidos (i-a) se pueden hacer reaccionar con un haloacetato tal como 2-bromoacetato de etilo seguido de ciclación de los intermedios derivados de ácido formilfenoxiacético [véase: H. Dumont y S. Kostanecki, "Zur Kenntnis der Cumaron-Gruppe", Chemische Berichte, vol. 42, no. 1, pp. 911-915, 1909]. Las ciclaciones se pueden llevar a cabo en una solución alcohólica en presencia de un catalizador básico tal como etanolato de sodio, 1,8-diazobicyclo-[5,4,0]-7-undecano o carbonato de potasio. Los ésteres resultantes luego se pueden funcionalizar o convertir en el precursor disparador deseado usando un método conocido para la reducción de un éster carboxilato a un alcohol primario tal como un agente reductor de hidruro metálico (LiAlH_4 , LiEt_3H o NaBH_4).

Ejemplo de preparación 2

Los precursores disparadores de benzo[b]tiofeno

Los precursores disparadores de benzo[b]tiofeno, (iii) en donde Z^3 , Z^4 y Z^5 son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando uno de los siguientes esquemas.

Esquema (ii)



De modo alternativo, los alcoholes de benzotiofen-2-ilo de la fórmula (ii) se pueden preparar convenientemente a partir de los derivados sustituidos de salicilaldehído de la fórmula (ii-e) (véase el esquema anterior). La alquilación con cloruro de dimetiltiocarbamilo y por posterior reordenamiento de Newman-Kwart proporciona los intermedios de la fórmula (ii-g). La elaboración alcalina puede dar como resultado el tiofenol libre de la fórmula (ii-h) que se puede someter a una reacción de alquilación/ciclación usando procedimientos estándar. El intermedio de éster (ii-i) se puede reducir luego a alcoholes (ii) usando métodos comúnmente empleados para la reducción de ésteres de carboxilato a alcoholes primarios tal como LAH en tetrahidrofurano.

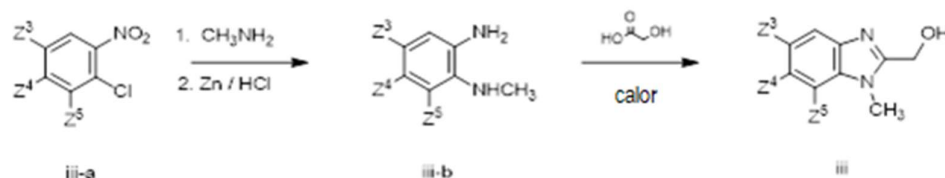
Ejemplo de preparación 3

15 Precursores disparadores de ¹H-benzo[d]imidazol

Los precursores disparadores de ¹H-benzo[d]imidazol, en donde Z³, Z⁴ y Z⁵ son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando el siguiente esquema similar al descrito por Borchardt et. al. "Preparation of tetrahydropyranones as hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase inhibitors", documento WO 2004/074270.

20

Esquema (iii)



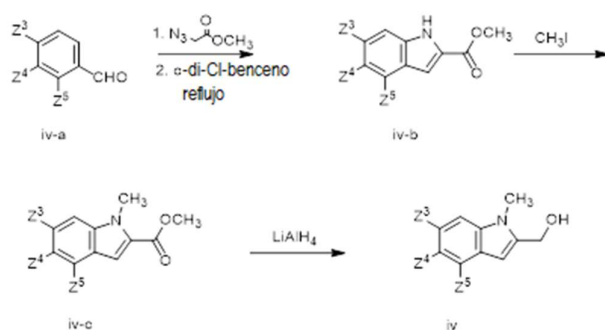
Un 2-halo-nitrobenceno apropiadamente sustituido (iii) se puede hacer reaccionar con metilamina para formar un intermedio de amino nitro que se puede reducir luego usando métodos conocidos para la conversión de nitro arenos en anilinas tal como zinc y una fuente de ácido tal como HCl para dar el compuesto (iii-b). El compuesto (iii-b) se puede convertir luego en alcohol diana (vi) por calentamiento con un reactivo tal como ácido hidroxiacético.

Ejemplo de preparación 4

Precursores disparadores de ¹H-indol

Los precusores disparadores de ¹H-indol, en donde Z³, Z⁴ y Z⁵ son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando el siguiente esquema similar al descrito por Condie et. al. en *Tetrahedron*, (2005), 61(21), 4989–5004.

Esquema (iv)

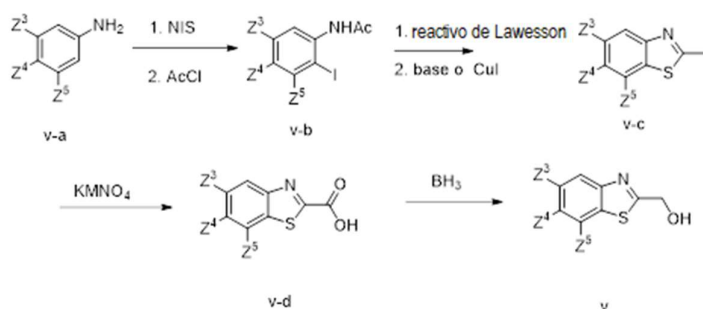


Un material de partida de benzaldehído apropiadamente sustituido (iv-a) se puede hacer reaccionar con un reactivo de 2-azidoacetato, luego se calienta a temperaturas elevadas en un disolvente inerte tal como orto-diclorobenceno para proporcionar el intermedio de éster de indol (iv-b). El indol (iv-b) luego se puede alquilar con un haluro de alquilo, tal como yoduro de metilo y una base apropiada, tal como NaH, para proporcionar el penúltimo disparador (iv-c) que se puede reducir luego a dianas de alcohol primario (vii) usando métodos comúnmente empleados para la reducción de ésteres carboxílicos a alcoholes primarios tal como hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano.

Ejemplo de preparación 5

Precursores disparadores de benzotiazol

Los precusores disparadores de benzotiazol, en donde Z³, Z⁴ y Z⁵ son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando cualquiera de los siguientes esquemas.

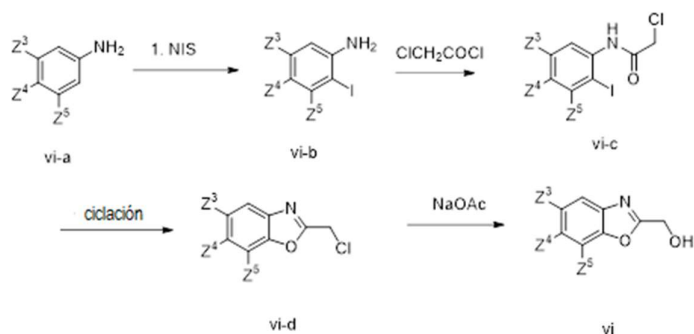


- Las anilinas apropiadamente sustituidas se pueden yodar, se pueden acilar luego en intermedios (v-b) usando métodos estándar conocidos para efectuar estas transformaciones tal como N-yodosuccinimida seguido de reacción con cloruro de acetilo. Las acetamidas (v-b) se pueden convertir en las correspondientes tioacetamidas usando un reactivo tal como reactivo de Lawesson, luego se ciclan usando ya sea una base o yoduro de cobre (I) para proporcionar tiazoles (v-c).
- El grupo 2-metilo se puede oxidar luego en el correspondiente ácido carboxílico (v-d) usando un oxidante tal como permanganato de potasio. La posterior conversión en los alcoholes primarios (ix) se puede llevar a cabo usando las condiciones descritas con anterioridad.

Ejemplo de preparación 6

15 Precursores disparadores de benzoxazol

Los precursores disparadores de benzoxazol, en donde Z³, Z⁴ y Z⁵ son como se definen en la memoria descriptiva, se pueden preparar usando cualquiera de los siguientes esquemas.



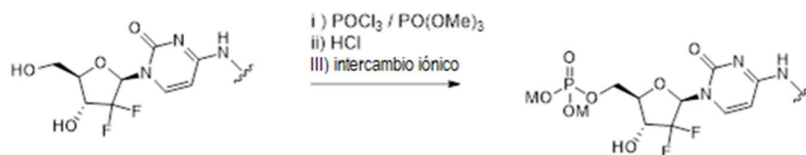
- Las anilinas apropiadamente sustituidas se pueden yodar, se pueden acilar luego en intermedios (vi-b) usando métodos estándar conocidos para efectuar estas transformaciones tal como N-yodosuccinimida seguido de reacción con cloruro de acetilo. Las acetamidas (vi-c) se pueden ciclar para proporcionar oxazoles (vi-d). La

posterior conversión en los alcoholes primarios (vi) se puede llevar a cabo usando las condiciones descritas con anterioridad.

Ejemplos sintéticos para compuestos de la invención

- 5 Los compuestos de la invención se pueden preparar de acuerdo con los esquemas de síntesis I y II de abajo y haciendo cualquier modificación necesaria a los materiales de partida, reactivos y/o condiciones de reacción conocidos por el químico médico en la técnica para llegar a los compuestos de la invención. Las moléculas precursoras de síntesis en estos esquemas son asequibles en comercios o su
10 preparación se conoce en la técnica.

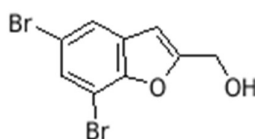
Esquema de síntesis I



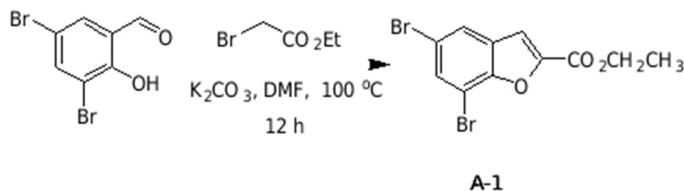
- Los análogos de fosfato de SMDC se pueden preparar a partir de intermedios
15 avanzados descritos en el presente documento usando métodos de la bibliografía bien conocidos y establecidos para la síntesis de análogos de fosfato y fosfonato de nucleósidos (véase: Pradere et. al. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 9154–9218).

Síntesis de compuestos intermedios

- 20 **Compuesto A:** (5,7–dibromobenzofuran–2–il)metanol



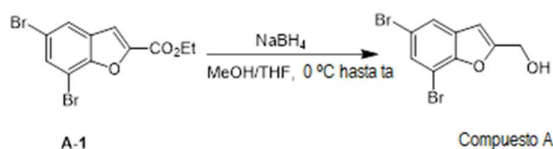
Etapa A: Síntesis del Int A–1



- 25 A una solución de 3,5–dibromo–2–hidroxibenzaldehído (400 g, 1,44 mol) y 2–bromoacetato de etilo (360 g, 2,16 mol) en DMF (1800 mL) se añadió carbonato de potasio anhidro (590 g, 4,29 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a $100\text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó magnéticamente a esta temperatura durante la noche. La

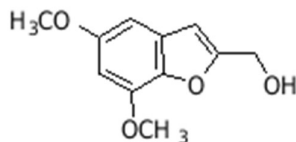
mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y los sólidos se removieron por filtración. La torta filtrante se calentó con EtOAc (500 mL × 3) y el filtrado se concentró a presión reducida con evaporador rotativo para remover EtOAc. El residuo se vertió en agua helada (p/p = 1/1, 4 L), con lo cual se formó un sólido amarillo. El sólido se recolectó por filtración y se lavó con MeOH (200 mL) tres veces. El sólido se secó a presión reducida para dar 240 g de compuesto Int A-1 que se usó directamente en la siguiente etapa. R_f = 0,5 (éter de petróleo : EtOAc = 20: 1)

Etapas B: Síntesis del Compuesto A

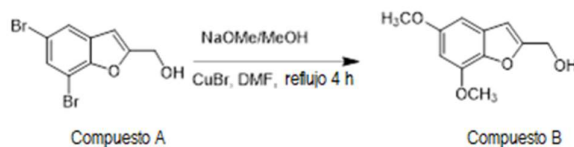


A una solución enfriada de Int A-1 (120 g, 0,35 mol) en MeOH (1000 mL) y THF (1000 mL) se añadió NaBH₄ (52,8 g, 1,39 mol), en porciones (5 g cada uno) a fin de mantener la temperatura de reacción entre 5~10 °C. La mezcla resultante se agitó durante 3 horas antes de retirar el baño de hielo y se dejó que la reacción llegara hasta temperatura ambiente durante un período de 16 h. La mezcla se vertió en hielo/agua (p/p = 1/1, 3 L) y se concentró para remover la mayor parte de los disolventes orgánicos. La mezcla se extrajo con EtOAc (800 mL × 3) y los lavados orgánicos combinados se extrajeron con salmuera saturada (400 mL) tres veces. La fase orgánica se separó y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Este proceso se repitió y los dos productos de reacción se combinaron y se concentraron para obtener 120 g de compuesto crudo A que se usó directamente a la siguiente etapa. R_f = 0,4 (éter de petróleo: EtOAc = 5: 1) RMN de ¹H: 400 MHz CDCl₃ δ 7,62 (d, J = 1,8 Hz, ¹H), 7,58 (d, J = 1,5 Hz, ¹H), 6,69 (s, ¹H), 4,81 (d, J = 3,3 Hz, 2H), 2,12 (br.s, ¹H).

Compuesto B: (5,7-dimetoxibenzofuran-2-yl)metanol



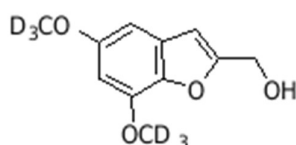
Síntesis del Compuesto B



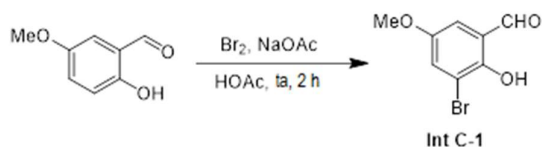
A una mezcla de compuesto A (60 g, 0,20 mol), NaOMe (600 mL, 30% p/p, adquirido de Alfa) y DMF (6 g, 0,08 mol) se añadió CuBr (8 g, 0,056 mol) a temperatura ambiente

bajo nitrógeno. A continuación, la mezcla se agitó a 80 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y luego H₂O (500 mL) se añadió a la mezcla a 0 °C. La mezcla se filtró a través de un taco de Celite y el filtrado se extrajo con DCM (500 mL) tres veces. Los extractos de DCM combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró para dar un sólido marrón. Este proceso se repitió y los dos productos de reacción se combinaron y se concentraron para obtener un aceite que se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo: EtOAc = 5:1 a 0:1) para dar 60 g de compuesto B en forma de un sólido amarillo. R_f (éter de petróleo : EtOAc = 5: 1) = 0,4 RMN de ¹H (400 MHz) CDCl₃ δ 6,62 (d, J = 6,3 Hz, ¹H), 6,46 (s, ¹H), 4,77 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 3,99 (s, 3H), 3,86 (s, 3H).

Compuesto C: (5,7-bis(metoxi-d₃)benzofuran-2-il)metanol

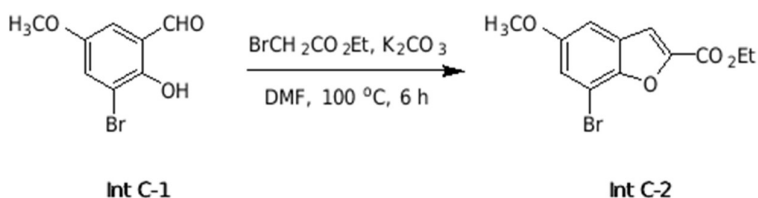


Etapas A: Síntesis del Int C-1



A una mezcla de 5-metoxisalicilaldehído (200 g, 1,31 mol) y NaOAc anhidro (172 g, 2,10 mol) en AcOH (1,5 L) se añadió Br₂ (270 g, 1,71 mol) gota a gota con embudo de goteo durante 1 hora entre 0~5 °C (baño de agua helada) bajo nitrógeno. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se vertió en agua helada (p/p = 1/1, 2 L) y se agitó durante 15 min. A continuación, la mezcla se filtró. El filtrado se calentó con agua (400 mL × 3) y luego se secó al vacío (bomba de aceite) a 45 °C durante 2 días para obtener el Int C-1 (200 g) en forma de un sólido amarillo. **LCMS:** 230,9 [M+H]⁺. **RMN de ¹H:** (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10,09 (s, ¹H), 7,54 (d, J = 2,8 Hz, ¹H), 7,32 (d, J = 2,8 Hz, ¹H), 3,78 (s, 3H).

Etapas B: Síntesis del Int C-2



A una mezcla de Int C-1 (200 g, 0,87 mol) y K₂CO₃ anhidro (360 g, 2,61 mol) en 1000 mL de DMF seca se añadió 217 g (1,30 mol) de 2-bromoacetato de etilo en una porción a temperatura ambiente bajo nitrógeno y se agitó a temperatura ambiente durante 10

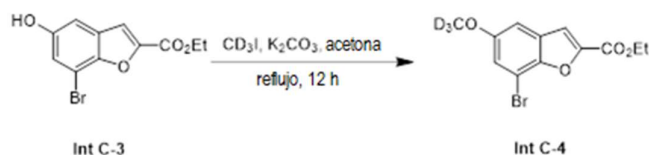
min antes de calentar hasta 100 °C y se agitó durante 6 horas. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. El residuo se vertió en agua (1 L) y se agitó durante 20 min. La mezcla se filtró y el filtrado se calentó con agua (500 mL × 3) y se secó al vacío (bomba de aceite) para obtener el Int C-2 (105,4 g) en forma de sólido marrón. **LCMS:** 299,0 [M+H]⁺. **RMN de ¹H** (DMSO-d⁶, 400 MHz): δ 7,76 (s, ¹H), 7,40 (s, ¹H), 7,30 (s, ¹H), 4,38 (q, J = 7 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,09 (s, ¹H), 1,35 (t, J = 7 Hz, 3H).

Etapas C: Síntesis del Int C-3



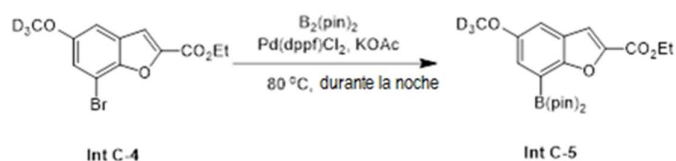
A una solución de Int C-2 (120 g, 0,40 mol) en DCM (700 mL) se añadió una solución de BBr₃ (350 g, 1,4 mol) en DCM (500 mL) gota a gota a -70 °C durante un período de 30 min bajo nitrógeno durante lo cual la temperatura se mantuvo a menos de -60 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C y se agitó a 0 °C durante 3 h. La reacción se vertió en agua helada (p/p = 1/1, 1 L) lentamente y luego se extrajo con DCM (800 mL × 2). La fase orgánica combinada se calentó con salmuera saturada (800 mL × 2), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 150 mm, diámetro: 50 mm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/EtOAc=20/1, 10/1, 5/1) para obtener el Int C-3 (42 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS:** 283,0 [M-H]⁺. **RMN de ¹H** (DMSO-d⁶, 400 MHz): δ 9,86 (s, ¹H), 7,72 (s, ¹H), 7,20 (s, ¹H), 7,09 (s, ¹H), 4,38 (q, J = 7 Hz, 2H), 1,34 (t, J = 7 Hz, 3H).

Etapas D: Síntesis del Int C-4



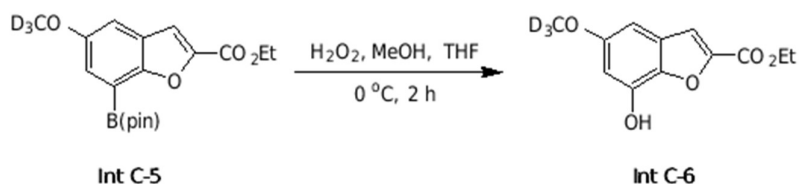
A una solución de Int C-3 (95 g, 0,33 mol) en acetona seca (2 L) se añadió K₂CO₃ (115 g, 0,83 mol) y CD₃I (97 g, 0,67 mol) en una porción y se calentó a reflujo durante 12 horas. La mezcla se enfrió y se filtró y el sólido se calentó con acetona (300 mL×3). Las capas orgánicas combinadas se evaporaron para obtener el Int C-4 (81 g) en forma de un sólido amarillo. **LCMS:** 302,0 [M+H]⁺. **RMN de ¹H** (DMSO-d⁶, 400 MHz): δ 7,77 (s, ¹H), 7,41 (s, ¹H), 7,31 (s, ¹H), 4,38 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,35 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Etapas E: Síntesis del Int C-5



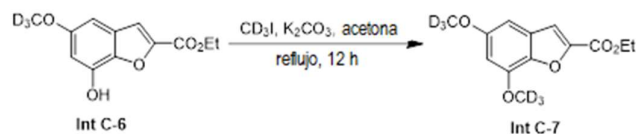
Una mezcla de Int C-4 (70 g, 0,071 mol), bis(pinacolato)diboro (89 g, 0,35 mol), KOAc (68,6 g, 0,70 mol) y Pd(dppf)Cl₂ (16,8 g, 0,023 mol) en DMSO (800 mL) se desgasificó durante 15 min con nitrógeno y luego se calentó hasta 80 °C durante la noche bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se vertió en agua (1,5 L) y se extrajo con EtOAc (600 mL ×3). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera saturada (800 mL ×2), se secaron sobre MgSO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (altura de columna: 80 mm, diámetro: 28 mm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 20/1, 10/1, 5/1) para obtener el Int C-5 (53 g) en forma de un sólido pálido. **RMN de ¹H** (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 7,62 (s, ¹H), 7,38 (d, *J* = 2,4 Hz, ¹H), 7,26 (d, *J* = 2,4 Hz, ¹H), 4,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,28–1,32 (m, 15H).

Etapas F: Síntesis del Int C-6



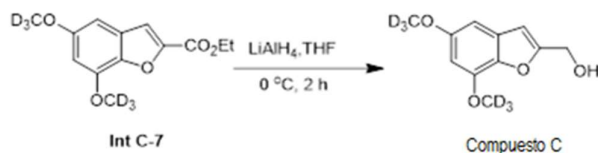
A una solución de Int C-5 (58 g, 0,17 mol) en 600 mL de THF/MeOH (v/v = 1/2) se añadió 30% de H₂O₂ (200 mL) a 0 °C en una porción. La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. Na₂S₂O₃ acuoso saturado (500 mL) se añadió y la mezcla se agitó durante 1 hora más. La reacción se controló por medio de papel de prueba de yoduro de potasio–almidón para ver si se había destruido H₂O₂. La mezcla se extrajo con EtOAc (500 mL ×3) y los extractos combinados se lavaron con salmuera (500 mL), se secaron sobre MgSO₄ anhidro y luego se filtraron. La filtración se concentró para obtener el Int C-6 (25,4 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 240,1 [M+H]⁺. **RMN de ¹H**: (DMSO, 400 MHz): δ 10,40 (s, ¹H), 7,57 (s, ¹H), 6,64 (d, *J* = 2,4 Hz, ¹H), 6,48(d, *J* = 2,4 Hz, ¹H), 4,31 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,30 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Etapas G: Síntesis del Int C-7



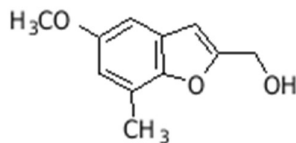
A una solución de Compuesto **Int C-6** (27 g, 0,113 mol) en acetona (800 mL) se añadió K_2CO_3 anhidro (38,8 g, 0,282 mol) y CD_3I (32,8 g, 0,226 mol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 12 h, luego se enfrió y se filtró. El sólido se calentó con acetona (400 mL $\times 3$) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron al vacío para obtener 22 g de Compuesto **Int C-7** en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 257,1 $[M+H]^+$. **RMN de ^1H** : (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ 7,60 (s, ^1H), 6,76 (d, $J = 2,4$ Hz, ^1H), 6,67 (d, $J = 2,4$ Hz, ^1H), 4,31 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,30 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Etapas H: Síntesis del Compuesto C

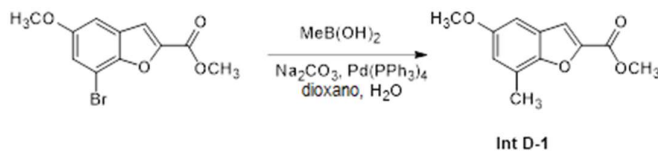


A una solución de Int C-7 (16 g, 0,062 mol) en THF anhidro (400 mL) se añadió $LiAlH_4$ (4,8 g, 0,125 mol) a 0 °C durante 10 min bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 horas. La reacción se neutralizó con agua (100 ml) y la suspensión resultante se filtró. El filtrado se concentró para dar el Compuesto C (8,5 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 197,2 $[M-OH]^+$, 215,2 $[M+H]^+$, 237,1 $[M+23]^+$. **RMN de ^1H** : (DMSO, 400 MHz): δ 6,65 (s, 2H), 6,49 (s, ^1H), 5,46 (t, $J = 6$ Hz, ^1H), 4,51 (d, $J = 6$ Hz, 2H).

Compuesto D: 5-metoxi-7-metilbenzofuran-2-il)metanol



Etapas A: Síntesis del Int D-1



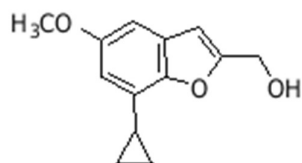
A una solución de 2,0 g (7,0 mmol) de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (preparada de una manera similar a la descrita para el éster etílico Int C-2), $CH_3B(OH)_2$ (0,42 g, 7,0 mmol) y Na_2CO_3 (2,2 g, 20,7 mmol) en dioxano (80 mL)/ H_2O (10 mL) se añadió $Pd(PPh_3)_4$ (0,8 g, 0,7 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, luego se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en H_2O , se extrajo con EtOAc y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secaron sobre $MgSO_4$. La solución se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto 320 mg de Int D-1.

Etapla B: Síntesis del Compuesto D

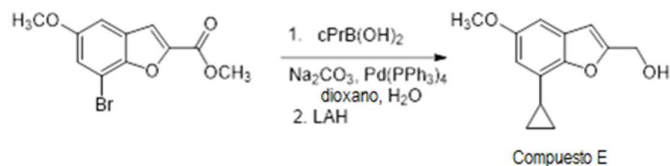


A una suspensión de LiAlH_4 (0,22 g, 5,79 mmol) en THF (15 mL) se añadió gota a gota una solución de Int D-1 (0,32 g, 1,45 mmol) en THF (15 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó durante 30 min a 0 °C, luego se vertió en H_2O , se extrajo con EtOAc, la fase orgánica se calentó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se concentró para dar un residuo, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 260 mg de compuesto **D**. **LCMS**: (EI): 175,1 $[\text{M}-\text{OH}]^+$, 193,1 $[\text{MH}]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 6,92 (1H, s), 6,70 (1H, s), 6,69 (1H, s), 5,45 (1H, t, $J = 11,6\text{Hz}$), 5,54 (2H, dd, $J = 0,8\text{Hz}, 6\text{Hz}$), 3,76 (3H, s), 2,41 (3H, s).

Compuesto E: (7-ciclopropil-5-metoxibenzofuran-2-il)metanol



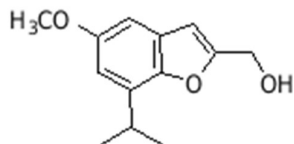
Etapla A: Síntesis del Compuesto E



A una solución de 2,0 g (7,0 mmol) de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (preparada de una manera similar a la descrita para el éster etílico Int C-2), ácido ciclopropilborónico (0,6 g, 8,0 mmol) y Na_2CO_3 (2,2 g, 20,7 mmol) en dioxano (80 mL)/ H_2O (10 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,8 g, 0,7 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, luego se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en H_2O y se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 200 mg del éster deseado. A una suspensión de LiAlH_4 (0,12 g, 3,25 mmol) en THF (5 mL) se añadió gota a gota una solución del éster (0,20 g, 0,813 mmol) en THF (5 mL) a 0 °C y se agitó durante 30 min a 0 °C. La mezcla de reacción se vertió en H_2O , se extrajo con EtOAc y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se concentraron para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto **E** (0,15 g). **LCMS**: MS (EI) para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_3$, 201,0 $[\text{M}-\text{OH}]^+$, 219,1 $[\text{MH}]^+$.

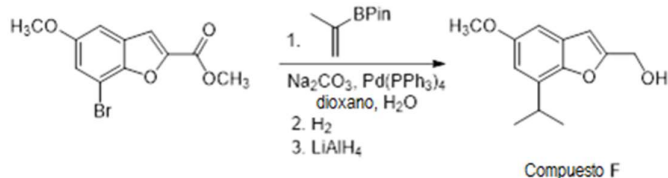
RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ . 6,84 (s, ^1H), 6,62 (s, ^1H), 6,37 (s, ^1H), 5,40 (m, ^1H), 4,54 (d, $J = 6\text{Hz}$, 2H), 3,70 (s, 3H), 2,20–2,17 (m, ^1H), 0,99–0,95 (m, 2H), 0,84–0,82 (m, 2H).

Compuesto F: (7-isopropil-5-metoxibenzofuran-2-il)metanol



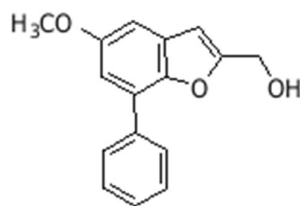
5

Síntesis del Compuesto F

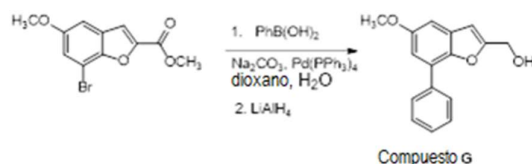


A una solución de 2,0 g (7,0 mmol) de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (preparada de una manera similar a la descrita para el éster etílico Int C-2), ácido ciclopropilborónico (0,6 g, 8,0 mmol) y Na_2CO_3 (2,2 g, 20,7 mmol) en dioxano (80 mL)/ H_2O (10 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,8 g, 0,7 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche, luego se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en H_2O y se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 500 mg del éster deseado. Una mezcla del éster olefínico (0,5 g, 2,29 mmol) y Pd/C (0,1 g) en etanol (20 mL) se hidrogenó bajo 50 psi de presión de hidrógeno durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se evaporó para proporcionar 400 mg del compuesto deseado. A una suspensión de LiAlH_4 (0,305 g, 8,04 mmol) en THF (15 mL) se añadió gota a gota una solución del éster intermedio (0,50 g, 2,01 mmol) en THF (15 mL) a 0°C y se agitó durante 30 min a 0°C . La mezcla de reacción se vertió en agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 350 mg de compuesto **F**. **LCMS:** MS (EI) para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_3$, 203,1 $[\text{M}-\text{OH}]^+$, 221 $[\text{MH}]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ 6,86 (^1H , d, $J = 2,4\text{Hz}$), 6,69 (^1H , d, $J = 2,4\text{Hz}$), 4,64 (2H, s), 3,78 (3H, s), 3,39–3,30 (^1H , m), 1,34 (6H, d, $J = 6,8\text{Hz}$).

Compuesto G: (5-metoxi-7-fenilbenzofuran-2-il)metanol

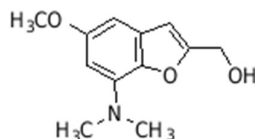


Síntesis del Compuesto G

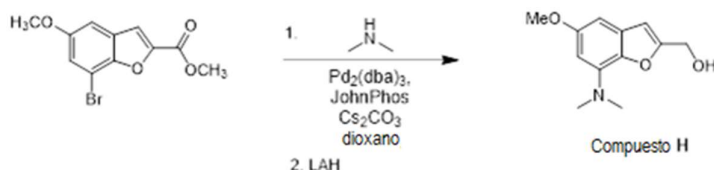


- 5 A una solución de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (1,5 mmol), ácido fenilborónico (0,18 g, 1,5 mmol) y Na_2CO_3 (0,48 g, 4,5 mmol) en dioxano (20 mL)/ H_2O (5 mL) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,17 g, 0,15 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1 hora a N_2 . La mezcla de reacción se vertió en H_2O , se extrajo con EtOAc y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se
- 10 concentraron para obtener 200 mg del producto de acoplamiento crudo que se redisolvió en 15 mL de THF y se añadió gota a gota a una suspensión de LiAlH_4 (0,23 g, 5,96 mmol) en THF (15 mL) a 0 °C. La reacción se agitó durante 30 min a 0 °C, luego se vertió en agua y se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 , luego se concentraron para dar un
- 15 residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para obtener 300 mg de compuesto **G**. **LCMS**: MS (EI) para $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$, 237,1 $[\text{M}-\text{OH}]^+$, 255,1 $[\text{MH}]^+$, 277,1 $[\text{M}+\text{Na}]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ . 7,88–7,85 (m, 2H), 7,54–7,50 (m, 2H), 7,13 (d, $J = 2,8\text{Hz}$, 1H), 7,04 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, 1H), 6,76 (s, 1H), 5,47 (t, $J = 12\text{Hz}$, 1H), 4,57 (d, $J = 6,0\text{ Hz}$, 2H), 3,83 (s, 3H).

- 20 **Compuesto H**: (7-(dimetilamino)-5-metoxibenzofuran-2-il)metanol



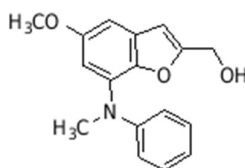
Síntesis del Compuesto H



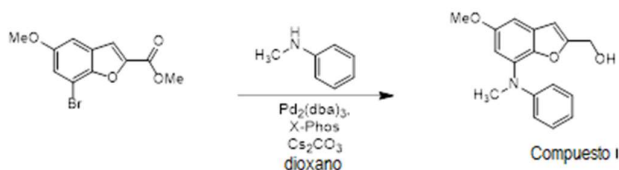
- A una solución de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (3,0 g, 10 mmol), dimetilamina (0,57 g, 13 mmol) y Cs_2CO_3 (12,3 g, 37 mmol) en dioxano (80 mL)

se añadió $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,75 g, 0,82 mmol) y 450 mg (1,50 mmol) de (2-bifenil)di-ter-butilfosfina (JohnPhos). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche bajo N_2 , luego se enfrió. La mezcla de reacción se vertió en H_2O , luego se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se concentraron al vacío para dar 700 mg del aminoéster deseado. A una suspensión de LiAlH_4 (0,32 g, 8,43 mmol) en THF (30 mL) se añadió gota a gota una solución del aminoéster antes mencionado (0,70 g, 2,81 mmol) en THF (30 mL) a 0 °C y se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se concentraron al vacío para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar el compuesto **H** (0,39 g). **LCMS:** MS (EI) para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}_3$, 222,1 $[\text{MH}]^+$, RMN de ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ . 6,57 (d, $J = 0,4\text{Hz}$, ^1H), 6,54 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, ^1H), 6,24 (s, ^1H), 4,63 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 6,76 (s, ^1H), 2,97 (s, 6H).

Compuesto I: (5-metoxi-7-(metil(fenil)amino)benzofuran-2-il)metanol



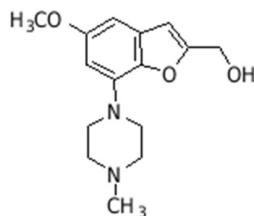
Síntesis del Compuesto I



A una solución de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (3,0 g, 10 mmol), N-metilanilina (1,36 g, 12 mmol) y Cs_2CO_3 (12,3 g, 37 mmol) en dioxano (80 mL) se añadió $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,75 g, 0,82 mmol) y X-Phos (0,43, 1,44 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante la noche bajo N_2 . La mezcla de reacción se enfrió, luego se vertió en agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para dar 1,1 g del producto de acoplamiento de C-N deseado que se usó directamente en la siguiente etapa. A una suspensión de LiAlH_4 (0,20 g, 5,77 mmol) en THF (20 mL) se añadió gota a gota una solución del éster antes descrito (0,60 g, 1,92 mmol) en THF (20 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C, luego se vertió en H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para

dar el compuesto **I** (0,35 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: MS (EI) para $C_{17}H_{17}NO_3$, 284,2 $[M+H]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, CD_3OD): δ . 7,20–7,17 (m, 2H), 6,89–6,85 (m, ^1H), 6,84–6,79 (m, 3H), 6,67–6,64 (m, ^1H), 6,64–6,63 (m, ^1H), 4,58 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,30 (s, 3H).

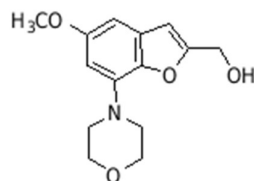
5 **Compuesto J**: (5–metoxi–7–(4–metilpiperazin–1–il)benzofuran–2–il)metanol



Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto **I** usando N–metilpiperazina como la amina. **LCMS**: (EI) para $C_{15}H_{20}N_2O_3$, 277,2 $[MH]^+$.

RMN de ^1H (400 MHz, MeOD): δ 6,67 (^1H , s), 6,63 (^1H , s), 6,37 (^1H , s), 4,65 (2H, s),
10 3,80 (3H, s), 3,36–3,30 (4H, m), 2,70–2,68 (3H, m).

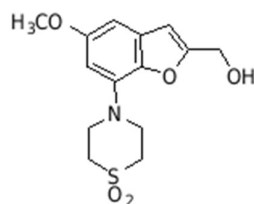
Compuesto K: (5–metoxi–7–morfolinobenzofuran–2–il)metanol



Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto **I** usando morfolina como la amina. **LCMS**: (EI) para $C_{14}H_{17}N_4O$, 264,1 $[MH]^+$. **RMN de ^1H**

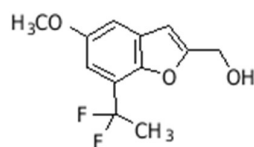
15 (400 MHz, MeOD): δ 6,65 (s, ^1H), 6,60 (s, ^1H), 6,34 (s, ^1H), 4,62 (s, 2H), 3,88–3,86 (m, 4H), 3,77 (s, 3H), 3,30–3,26 (m, 4H).

Compuesto L: 1,1–dióxido de 4–(2–(hidroximetil)–5–metoxibenzofuran–7–il)tiomorfolina

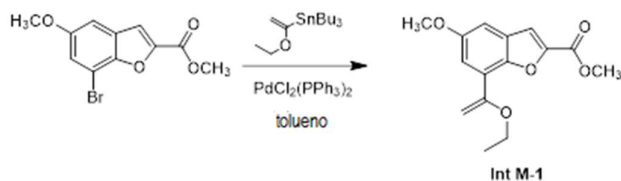


20 Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto **I** usando 1,1–dióxido de tiomorfolina como la amina. **LCMS**: (EI) para $C_{14}H_{17}NO_5S$, 312,0 $[MH]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO): δ 6,70 (s, ^1H), 6,66 (s, ^1H), 6,41 (s, ^1H), 5,49–5,44 (m, ^1H), 4,54–4,52 (m, 2H), 3,82–0,80 (m, 4H), 3,75 (s, 3H), 3,27–3,24 (m, 4H).

Compuesto M: (7–(1,1–difluoroetil)–5–metoxibenzofuran–2–il)metanol

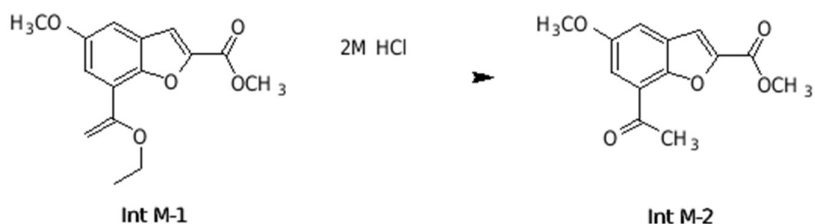


Etapa A: Preparación de Int M-1



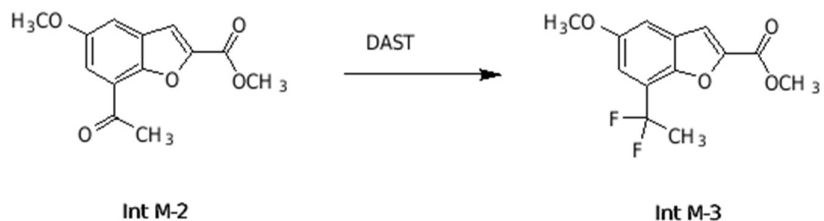
A una solución de 7-bromo-5-metoxibenzofuran-2-carboxilato de metilo (2,85 g, 10 mmol) en (100 mL) se añadió (1-etoxi)-tributilestannano (6,31 g, 17,5 mmol) y PdCl₂(PPh)₃ (0,7 g, 1,0 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a 50 °C bajo N₂. La mezcla de reacción se vertió en H₂O, se extrajo con EtOAc y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se concentraron al vacío para dar 2,0 g de un residuo que se usó directamente en la siguiente etapa sin ulterior purificación.

Etapa B: Preparación de Int M-2



A una solución de Int M-1 (2,0 g, 7,25 mmol) en dioxano (100 mL) se añadió 2M HCl (9 mL, 18 mmol). La mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente, luego se diluyó con EtOAc. La fase orgánica se calentó dos veces con NaHCO₃ saturado, luego agua, luego salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para obtener 1,2 g de Int M-2 que se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación.

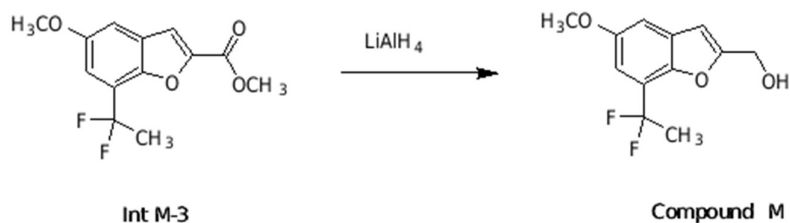
Etapa C: Preparación de Int M-3



Una solución de Int M-2 (0,9 g, 0,88 mmol) en DAST (6 mL) se agitó durante la noche a 60 °C. La mezcla de reacción se enfrió y se trató con 1 mL de agua muy lentamente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y los extractos orgánicos se lavaron

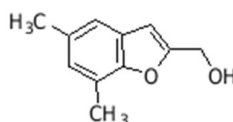
con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . La evaporación del disolvente proporcionó 450 mg de Int M-3 en forma de un sólido blanquecino.

Etapas D: Preparación de Compuesto M

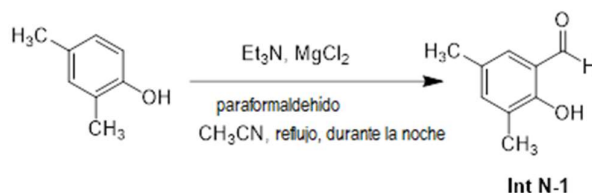


- 5 A una suspensión de LiAlH_4 (0,18 g, 4,93 mmol) en THF (20 mL) se añadió gota a gota una solución de Int M-3 (0,45 g, 1,67 mmol) en THF (20 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a 0 °C, luego se vertió en H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para
- 10 dar el compuesto **M** (0,27 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS:** MS (EI) para $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}_3$, 223,0 $[\text{M}-\text{OH}]^+$. **RMN de ^1H** (400 MHz, MeOD): δ 7,16 (s, ^1H), 6,97 (s, ^1H), 6,70 (s, ^1H), 4,66 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 2,10 (t, $J = 18,8\text{Hz}$, 3H).

Compuesto N: (5,7-dimetilbenzofuran-2-il)metanol



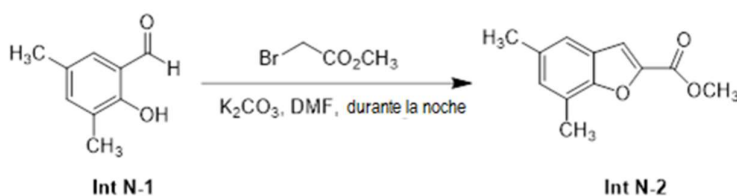
- 15 *Etapas A: Preparación de Int N-1*



- A una solución de 2,4-dimetilfenol (80 g, 0,66 mol) en CH_3CN (2000 mL) se añadió Et_3N (248 g, 2,46 mol) y MgCl_2 (93 g, 0,99 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h y luego $(\text{CH}_2\text{O})_n$ se añadió. La
- 20 mezcla resultante se calentó a reflujo y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y luego se vertió en una solución agitada al 5% de HCl (500 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (3 × 400 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (300 mL) y se separaron. La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se
- 25 purificó por cromatografía en columna (altura de columna: 50 cm, diámetro: 20 cm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/EtOAc = 10/1) para dar el Int N-1 (58 g) en

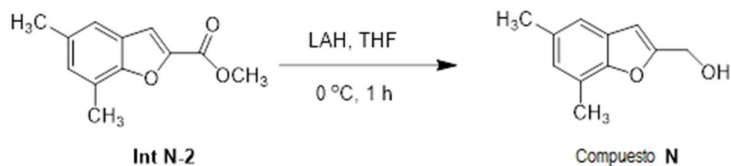
forma de un sólido amarillo. **RMN de ^1H** : (CDCl_3 , 400 MHz): δ 10,87 (s, ^1H), 9,82 (s, ^1H), 6,81 (s, ^1H), 2,29 (s, 6H).

Etapas B: Preparación de Int N-2



- 5 A una mezcla de Int N-1 (58 g, 0,386 mol) y K_2CO_3 (160 g, 1,16 mol) en DMF (1,2 L) se
añadió 2-bromoacetato de metilo (88,2 g, 0,58 mol) en una porción a temperatura
ambiente bajo N_2 . La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 min luego se
calentó hasta 100 °C y se agitó durante la noche. La suspensión se enfrió hasta
temperatura ambiente y se filtró. La torta filtrante se calentó con EtOAc (500 mL $\times$ 3) y
10 el filtrado se concentró para remover la mayor parte de EtOAc. La solución resultante
de DMF se vertió en agua helada (p/p = 1/1) (1 L) y se agitó durante 20 min a
temperatura ambiente. Un sólido marrón se recolectó por filtración. La torta filtrante se
calentó con agua (200 mL) y luego se secó a alto vacío (secadora al vacío con P_2O_5 ,
bomba de aceite dio presión <10 Pa) para obtener el Int N-2 crudo que se calentó con
15 PE/EA (v/v = 5/1, 600 mL). El disolvente residual se removió con evaporador rotativo
para obtener el Int N-2 puro (40 g) en forma de sólido marrón. **RMN de ^1H** : (CDCl_3 , 400
MHz): δ 7,38 (s, ^1H), 7,36 (s, ^1H), 7,30 (s, ^1H), 3,93 (s, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,28 (s, 3H).
LCMS: MS cal.: 204,1; MS experimental: 205,1

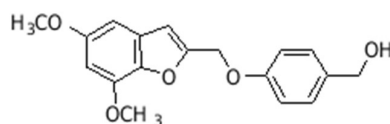
Etapas C: Preparación de Compuesto N



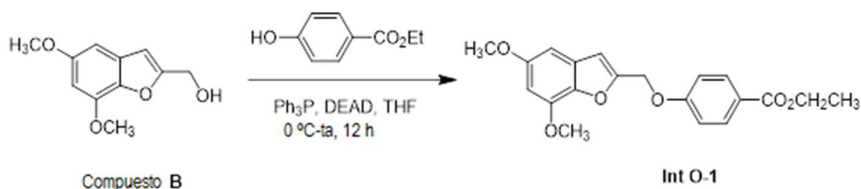
- 20 A una suspensión agitada de LAH (4,5 g, 118 mmol) en THF anhidro (100 mL) se
añadió gota a gota Int N-2 (12 g, 60 mmol) a 4 °C (baño de agua helada) bajo N_2 . La
mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h antes de neutralizar la mezcla por adición gota a
gota de agua (50 mL) teniendo cuidado al controlar la temperatura interna a menos de
25 10 °C. La suspensión se filtró y la torta filtrante se calentó con THF (100 mL). El filtrado
se concentró y el residuo se calentó con éter de petróleo/EtOAc = 8/1 para obtener el
Compuesto N (8 g) en forma de un sólido blanco. **RMN de ^1H** : (CDCl_3 , 400 MHz):
 δ 7,30 (s, ^1H), 7,25 (s, ^1H), 6,56 (s, ^1H), 4,74 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 2,37 (t, J = 13,0 Hz,
6H), 1,92 (t, J = 6,2 Hz, ^1H). **RMN de ^{13}C** : (CDCl_3 , 100 MHz): δ 155,3, 153,7, 133,1,

130,9, 125,6, 120,8, 111,3, 103,4, 57,8, 20,1, 19,5. **LCMS:** pureza: 98,4%; MS cal.: 176,1; MS experimental: 159,1 [M-OH]. **Punto de fusión:** 96,4 °C – 97,1 °C.

Compuesto O: (4-((5,7-dimetoxibenzofuran-2-il)metoxi)fenil)metanol

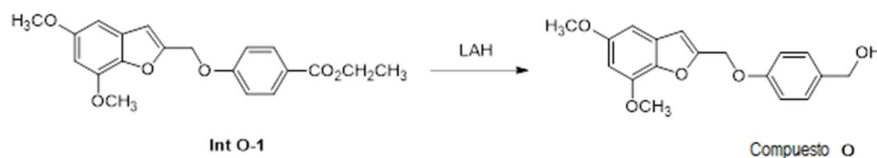


5 Etapa A: Síntesis del Int O-1



A una suspensión de Compuesto B (30,0 g, 0,144 mol), 4-hidroxibenzoato de etilo (28,7 g, 0,173 mol) y PPh_3 (18,8 g, 0,187 mol) en THF anhidro (300 mL) se añadió DEAD (32,2 g, 0,187 mol) gota a gota a 4 °C (lote de agua helada) durante 30 min. Una vez completa la adición, la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla se vertió en agua y se extrajo con DCM (200 mL $\times$ 3). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na_2SO_4 . El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna (altura de columna: 20 cm, diámetro: 5 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 5/1) para obtener el Int O-1 crudo (20 g, 85% RMN de ^1H pureza) en forma de un sólido blanquecino. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 8,01 (d, J = 9,26 Hz, 2 H), 7,01 (d, J = 8,82 Hz, 2 H), 6,74 (s, ^1H), 6,60 (d, J = 2,21 Hz, 1 H), 6,47 (d, J = 2,21 Hz, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 4,36 (q, J = 7,06 Hz, 2 H), 3,92 – 4,06 (m, 3 H), 3,77 – 3,89 (m, 3 H), 1,39 (t, J = 7,28 Hz, 3 H).

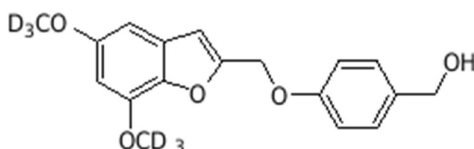
20 Etapa B: Síntesis del Compuesto O



A una suspensión de LAH (2,87 g, 0,075 mol) en THF anhidro (200 mL) se añadió Int O-1 (18 g, 0,050 mol) en porciones a 4 °C (baño de agua helada) durante 30 min bajo nitrógeno. Una vez completa la adición la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 12 h. Agua (3 ml) se añadió gota a gota a 0 °C, luego se añadieron 15% de NaOH acuoso (3 ml) y H_2O (15 ml). Después de agitar 30 min, se añadió MgSO_4 (40 g) y la mezcla se agitó durante otros 30 min. A continuación, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por

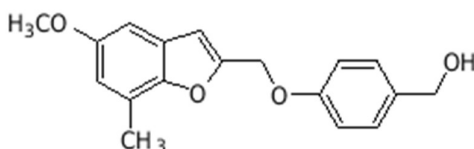
cromatografía en columna (altura de columna: 20 cm, diámetro: 5 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 5:1) para obtener el Compuesto O (11 g) en forma de un sólido blanquecino. **LCMS**: 315,1 [M+H] **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO): δ 7,24 (d, J = 8,03 Hz, 2 H), 7,00 (d, J = 8,03 Hz, 2 H), 6,93 (s, 1 H), 6,93 (s, 1 H), 6,70 (s, 1 H), 6,54 (s, 1 H), 5,19 (s, 2 H), 5,05 (t, J = 5,52 Hz, 1 H), 4,41 (d, J = 5,52 Hz, 2 H), 3,89 (s, 3 H), 3,76 (s, 3 H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, DMSO- d_6): δ 157,14, 156,98, 145,56, 139,40, 135,67, 1129,40, 128,38, 114,91, 107,67, 97,78, 96,33, 63,00, 62,56, 56,214, 56,00, 40,61, 40,41, 40,26, 39,99, 39,78, 39,57, 39,37. **MP**: 128,5 °C – 129,5 °C.

10 **Compuesto P**: (4-((5,7-bis(metoxi- d_3)benzofuran-2-il)metoxi)fenil)metanol



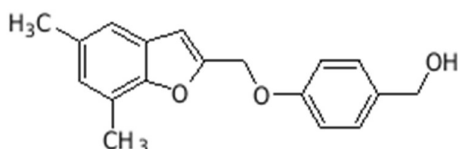
Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto O usando el Compuesto C como el material de partida. **LCMS**: MS cal.: 320,2, MS experimental: 321,1 [M+H]⁺. **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,25 (d, J = 8,8 Hz, 2 H), 7,02 (d, J = 8,8 Hz, 2 H), 6,94 (s, 1H), 6,70 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 6,54 (d, J = 2,4 Hz, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 5,07 (t, J = 6 Hz, 1 H), 4,42 (d, J = 5,6 Hz, 2 H). **MP**: 130,6 °C– 131,2 °C.

Compuesto Q: (4-((5-metoxi-7-metilbenzofuran-2-il)metoxi)fenil)metanol



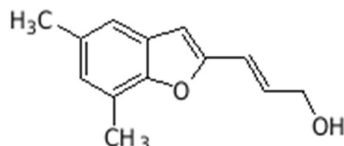
20 Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto O usando el Compuesto D como el material de partida. **LCMS**: MS cal.: 298,12; MS experimental: 321,0 [M+Na]. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl₃): δ 7,29 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 6,99 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 6,82 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 6,71–6,68 (m, 2 H), 5,13 (s, 2 H), 4,61 (s, 2 H), 3,80 (s, 3 H), 2,47 (s, 3 H), 1,63 (br, 1 H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl₃): δ 157,9, 155,9, 153,2, 149,5, 133,9, 128,6, 127,8, 122,3, 115,0, 114,4, 106,6, 100,8, 64,9, 63,3, 55,8, 15,2. **Punto de fusión**: 101,6 °C – 102,3 °C.

Compuesto R: (4-((5,7-dimetilbenzofuran-2-il)metoxi)fenil)metanol

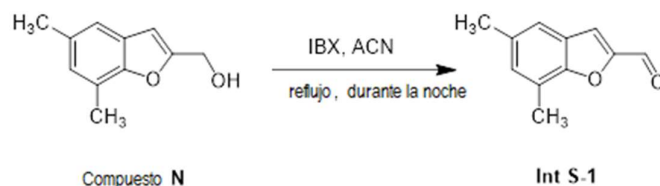


Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto N usando el Compuesto N como el material de partida. **LCMS:** MS cal.: 282,13; MS experimental: 305,0 [M+Na]. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,31 (d, J = 9,2 Hz, 4 H), 7,02 (d, J = 8,4 Hz, 2 H), 6,70 (s, 1 H), 4,64 (d, J = 3,6 Hz, 2 H), 2,37 (d, J = 12,0 Hz, 6 H), 1,75 (s, 1 H). **RMN de ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3): δ 157,9, 154,2, 151,9, 133,8, 131,4, 128,6, 125,8, 121,2, 115,1, 111,8, 105,9, 64,9, 63,2, 20,5, 19,9. **Punto de fusión:** 133,8 °C – 135,6 °C

Compuesto S: (E)-3-(5,7-dimetilbenzofuran-2-yl)prop-2-en-1-ol

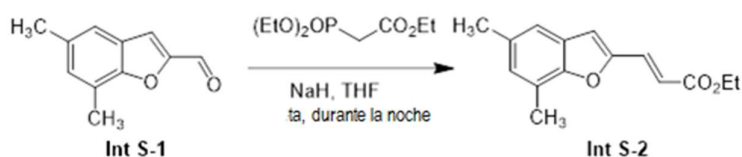


10 **EtapA: Preparación de Int S-1**



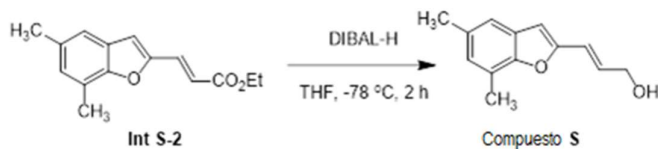
A una solución de Compuesto N (30 g, 0,170 mol) en acetonitrilo (300 mL) se añadió IBX (104,3 g, 0,340 mol) y la mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró. La torta filtrante se calentó con EtOAc (100 mL) y el disolvente se concentró para dar el Int S-1 (27 g) en forma de un aceite incoloro. **RMN de ^1H** : (CDCl_3 , 400 MHz): δ 9,81(s, ^1H), 7,48 (d, J = 4,0 Hz, 2H), 7,38 (s, ^1H), 2,39 (d, J = 18,0 Hz, 6H).

EtapA: Preparación de Int S-2



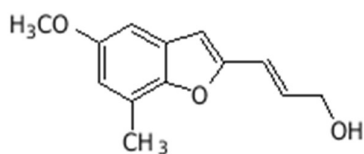
A una mezcla de NaH (3,3 g, 0,139 mol) en THF (50 mL) se añadió fosfonoacetato de trietilo (31,2 g, 0,139 mol) a 0 °C (baño de agua helada). Después de la adición, la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Una solución de Int S-1 (22 g, 0,126 mol) en THF (150 mL) luego se añadió gota a gota a 0 °C y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se vertió en agua helada y se extrajo con EtOAc (200 mL). El extracto orgánico se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró para dar 16,5 g de Int S-2 en forma de un sólido blanco. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,49 (d, J = 16,0 Hz, 1 H), 7,29 (s, 1 H), 7,23 (s, 1 H), 6,80 (s, 1 H), 6,49 (d, J = 16,0 Hz, 1 H), 4,28 (m, 2 H), 2,32 (d, J = 18,0 Hz, 6 H), 1,32 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

Etapas C: Preparación de Compuesto S



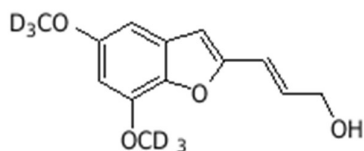
A una solución agitada de Int S-2 (21 g, 0,086 mol) en THF anhidro (200 mL) a 4 °C (baño de agua helada) se añadió DIBAL-H (206 mL, 0,206 mol) gota a gota para mantener la temperatura de reacción entre -78 °C y -65 °C bajo nitrógeno. A continuación, la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. La reacción se neutralizó con agua (20 mL) y se añadió MgSO₄ anhidro (200 g), luego se agitó durante 1 h. La mezcla se filtró y la torta filtrante se calentó con EtOAc (200 mL x 2). El disolvente se concentró para dar 10,4 g de Compuesto S. **RMN de ¹H** (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7,31 (s, 2 H), 6,69 (s, 1 H), 6,57 (d, *J*=16,0 Hz, 1 H), 6,44 (d, *J*=16,0 Hz, 1 H), 4,98 (t, *J*=5,6 Hz, 1 H), 4,17 (t, *J*=4,4 Hz, 2 H), 2,28(d, *J*=14,8 Hz, 6 H). **RMN de ¹³C** (100 MHz, CDCl₃): δ 153,8, 153,6, 133,7, 131,3, 129,7, 126,7, 121,0, 119,3, 111,4, 104,4, 63,1, 20,5, 19,9. **LCMS**: MS cal.: 202,1; MS experimental: 185 [M-OH]. **Punto de fusión**: 104,6 °C – 106,3 °C

Compuesto T: (E)-3-(5-metoxi-7-metilbenzofuran-2-il)prop-2-en-1-ol



Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto S usando el Compuesto D como el material de partida. **RMN de ¹H**: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 6,85 (s, ¹H), 6,67 (d, *J*=10,4 Hz, 2H), 6,56–6,43 (m, 2H), 4,96 (t, *J*=5,2 Hz, ¹H), 4,14 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 2,38 (s, 3H). **RMN de ¹³C**: (DMSO-d₆, 100 MHz): δ 156,0, 155,3, 148,4, 133,4, 129,1, 121,5, 117,5, 114,1, 104,8, 101,3, 61,8, 55,8, 15,2. **LCMS**: MS cal.: 218,09; MS experimental: 201,1 [M-OH + 1].

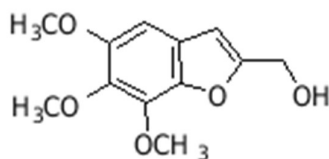
Compuesto U: (E)-3-(5,7-bis(metoxi-d₃)benzofuran-2-il)prop-2-en-1-ol



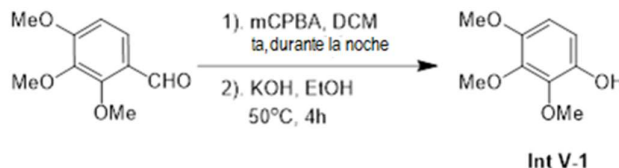
Procedimiento en dos etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto S usando el Compuesto C como el material de partida. **RMN de ¹H**: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 6,74 (s, ¹H), 6,65 (s, ¹H), 6,64–6,55 (m, ¹H), 6,55–6,48 (m, 2H), 5,00 (s, ¹H), 4,15 (d, *J*=4 Hz, 2H). **RMN de ¹³C**: (DMSO-d₆, 100 MHz): δ 156,9, 155,3, 145,2, 138,7,

133,6, 130,4, 117,3, 104,8, 97,6, 95,1, 61,2. **LCMS:** MS cal.: 240,13; MS experimental: 223,1 [M- OH], 241,1 [M + 1], 263,0 [M + Na]. **Punto de fusión:** 86,5 °C – 87,0 °C

Compuesto V: (5,6,7-trimetoxibenzofuran-2-il)metanol

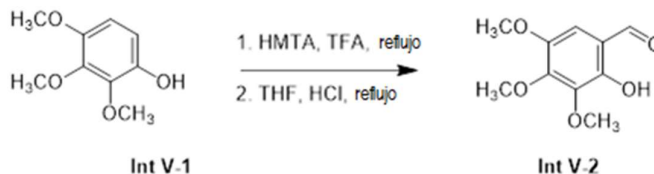


5 Etapa A: Síntesis del Int V-1



A una solución que contenía 150,0 g (0,77 mol) de 2,3,4-trimetoxibenzaldehído en 1000 mL de DCM se añadió 300,0 g (1,74 mol) de *m*-CPBA en cinco porciones (30 g cada uno) a 0 °C – 10 °C (baño de agua helada). Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se filtró para remover el sólido y el filtrado se calentó con NaHCO₃ acuoso (400 mL × 3), agua (300 mL) y salmuera (300 mL). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y la mezcla se filtró. El filtrado se concentró para proporcionar un aceite de color amarillo oscuro que se disolvió en EtOH (600 mL) y se trató con una solución acuosa al 10% de KOH (500 mL) en una porción. La mezcla se agitó a 50 °C durante 4 h. La mezcla luego se enfrió y se acidificó hasta pH = 1 con HCl 1 M y se extrajo con DCM (500 mL × 3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (500 mL) y salmuera (500 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y luego se filtraron. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 50 cm, diámetro: 20 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 30/1, 20/1, 15/1, 10/1) para dar el Int V-1 (79,0 g) en forma de aceite amarillo. **RMN de ¹H:** (CDCl₃, 400 MHz): δ 6,63 (d, *J* = 8 Hz, ¹H), 6,55 (d, *J* = 8 Hz, ¹H), 5,38 (brs, ¹H), 3,96 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,81 (s, 3H).

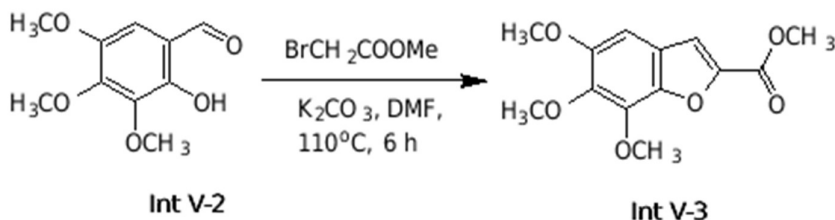
Etapa B: Síntesis del Int V-2



Una mezcla de Int V-1 (74 g, 400 mmol), HMTA (67,6 g, 480 mmol) y TFA (500 mL) se calentó a reflujo bajo N₂ durante 20 h. La solución se enfrió hasta temperatura ambiente

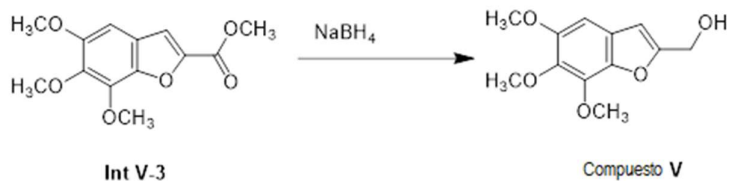
y se concentró al vacío. Tolueno (200 mL) se añadió al residuo y la solución luego se concentró para remover cantidad de trazas de TFA. El aceite residual se trató con THF (300 mL) y HCl 2 M (300 mL) y luego se calentó a reflujo durante 2 h. La solución se enfrió hasta temperatura ambiente y se extrajo con DCM (300 mL × 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (300 mL) y salmuera (300 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y luego se filtraron. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 50 cm, diámetro: 20 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 30/1, 20/1, 15/1, 10/1) para dar el Int V–2 (36,0 g) en forma de un sólido amarillo. **RMN de ¹H:** (CDCl₃, 400 MHz): δ 10,96 (s, ¹H), 9,75 (s, ¹H), 6,75 (s, ¹H), 4,03 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 3,84 (s, 3H).

Etapas C: Síntesis del Int V–3



A una solución de Int V–2 (36 g, 0,17 mol) en DMF anhidra (200 mL) se añadió K₂CO₃ (46,9 g, 0,34 mol) y bromoacetato de metilo (28,4 g, 0,19 mol) a temperatura ambiente. La solución resultante se calentó hasta 110 °C y se agitó durante 6 horas. La suspensión se enfrió y se filtró a través de un taco de celite. La torta filtrante se calentó con EtOAc (500 mL) y el filtrado se concentró. El aceite residual se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 30 cm, diámetro: 10 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 15/1, 10/1, 5/1) para dar el Int V–3 (14 g) en forma de un sólido blanco. **RMN de ¹H:** (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,41 (s, ¹H), 6,76 (s, ¹H), 4,20 (s, 3H), 3,93 (s, 3H), 3,90 (s, 3H), 3,87 (s, 3H).

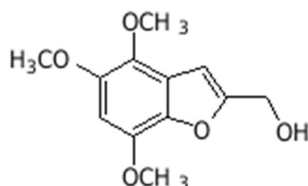
Etapas D : Síntesis del Compuesto V



A una solución de compuesto Int V–3 (14 g, 52,63 mmol) en MeOH anhidro (100 mL) se añadió NaBH₄ (10 g, 263,16 mmol) en diez porciones (1 g para cada porción) a 0 – 10 °C (baño de agua helada) y la mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 3 horas. La suspensión se filtró y el filtrado se concentró para dar 10,6 g de **Compuesto V** en forma de un sólido blanco. **MP:** 68,2 °C – 68,7°C. **LCMS:** MS cal.: 238,08, [M+H]⁺ = 239,1.

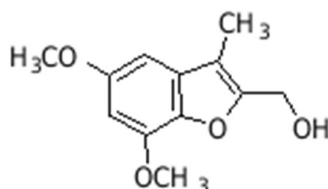
RMN de ^1H : (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,74 (s, ^1H), 6,60 (s, ^1H), 4,77 (d, $J = 6,3$ Hz, 2H), 4,21 (s, 3H), 3,91(d, $J = 5,3$ Hz, 6H), 1,95(t, $J = 6,4$ Hz, ^1H).

Compuesto W: (4,5,7-trimetoxibenzofuran-2-il)metanol

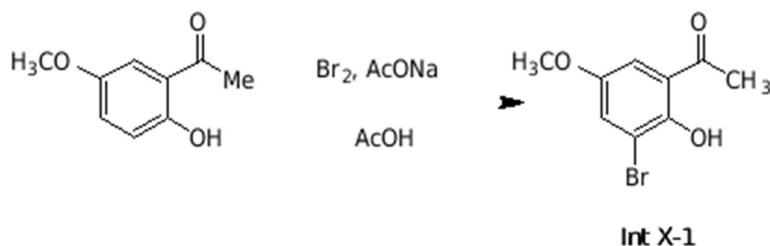


- 5 Procedimiento en tres etapas similar como se describe para la síntesis de Compuesto V usando 2,4,5-trimetoxibenzaldehído como el material de partida. **LCMS:** MS cal.: 238,08, $[\text{M}+\text{H}]^+ = 239,1$. **RMN de ^1H :** (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,77 (s, ^1H), 6,55 (s, ^1H), 4,76 (d, $J = 5,6$ Hz, 2H), 4,01 (s, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,92 (s, 3H), 2,13 (t, $J = 6$ Hz, ^1H). **RMN de ^{13}C :** (CDCl_3 , 100 MHz): δ 157,2, 146,8, 140,6, 139,7, 135,5, 123,2, 101,8, 96,7, 60,9, 57,9, 57,7, 56,8.

Compuesto X: (5,7-dimetoxi-3-metilbenzofuran-2-il)metanol

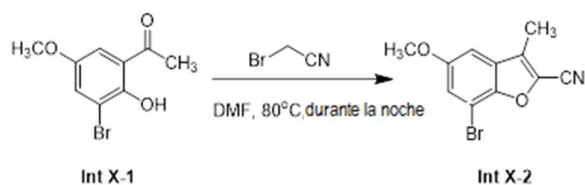


Etapas A: Síntesis del Int X-1



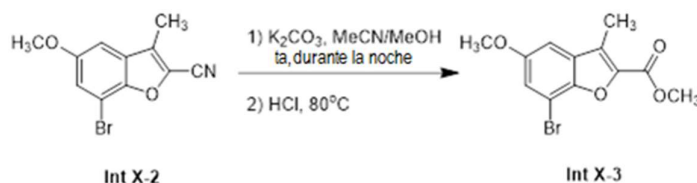
- 15 2-Hidroxi-5-metoxiacetofenona (200 g, 1200 mmol) y NaOAc anhidro (104 g, 1264 mmol) se añadieron a 2000 mL de AcOH en una porción a temperatura ambiente. Bromo (199 g, 1,264 mol) en 300 mL de AcOH luego se añadió a temperatura ambiente gota a gota con un embudo de goteo durante 2 h manteniendo la temperatura de reacción interna entre 15 – 25 °C (baño de agua). Una vez completa la adición, la
- 20 mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, luego se vertió en agua helada (p/p = 1/1, 8 L) y se agitó durante 1 h. A continuación, la mezcla se filtró y la torta filtrante se calentó con agua (3 × 1 L), luego se secó al aire durante 2 días para obtener el Int X-1 (210 g) en forma de un sólido amarillo. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 12,45 (s, ^1H), 7,39 (d, $J = 2,8$ Hz, ^1H), 7,20 (d, $J = 2,4$ Hz, ^1H), 3,80 (s, 3H), 2,64 (s, 3H).

25 *Etapas B: Síntesis del Int X-2*



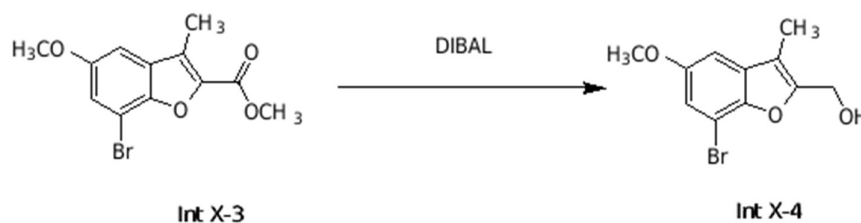
A una mezcla de Int X-1 (100 g, 0,408 mol) y 2-bromoacetonitrilo (73 g, 0,612 mol) en DMF (1 L) se añadió K_2CO_3 (169 g, 1,224 mol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla luego se calentó hasta 80 °C bajo N_2 y se agitó durante la noche. La suspensión se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en 2000 mL de hielo/agua/salmuera ($v/v/v = 1/1/2$) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3×1000 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (3×1000 mL), luego salmuera (3×1000 mL) y se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (altura de columna: 60 cm, diámetro: 20 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc = 5/1 a 3/1) para obtener el Int X-2 (38 g) en forma de un sólido amarillo. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,22 (d, $J = 2,0$ Hz, ^1H), 6,85 (d, $J = 2,0$ Hz, ^1H), 3,79 (s, 3H), 2,35 (s, 3H).

Etapas C: Síntesis del Int X-3



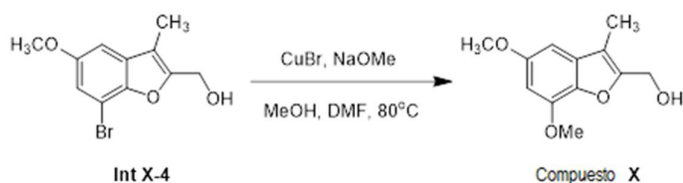
A una solución de Int X-2 (50 g, 188 mmol) en MeOH/MeCN (600 mL, $v/v=1/1$) se añadió K_2CO_3 (182 g, 1316 mmol) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtró y el filtrado se vertió en agua (800 mL) y se extrajo con EtOAc (3×400 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (3×500 mL) y se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se redisolvió en HCl 1 M (500 mL) y MeOH (100 mL). La mezcla se calentó hasta 80 °C durante 2 h antes de enfriar y filtrar la reacción. Los sólidos se lavaron con agua (800 mL $\times$ 3) y luego se secaron para obtener el Int X-3 (34,3 g) en forma de un sólido blanco. **RMN de ^1H** (400 MHz, CDCl_3): δ 7,26 (d, $J = 2,0$ Hz, ^1H), 6,95 (d, $J = 2,4$ Hz, ^1H), 3,98 (s, 3H), 3,86 (s, 3H), 2,55 (s, 3H).

Etapas D: Síntesis del Int X-4



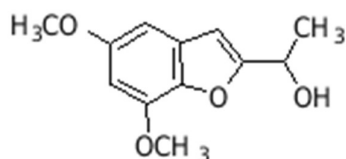
A una mezcla de Int X-3 (35 g, 117 mmol) en DCM anhidra (500 mL) se añadió una solución de DIBAL-H (257 mL, 1 M en tolueno, 257 mmol) gota a gota durante 1 h a -70 °C bajo N₂ (baño de hielo seco-acetona). La temperatura del sistema se elevó hasta -65 °C durante la adición y la mezcla se agitó durante 2 h a -70 °C. La mezcla se calentó hasta 0 °C y se neutralizó con agua (100 mL) y la mezcla se filtró. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con DCM (2 × 100 mL). La fase orgánica combinada se calentó con salmuera saturada (2 × 100 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y luego se filtró. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 30 cm, diámetro: 15 cm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/EtOAc = 10/1 a 3/1) para obtener el Int X-4 (9,8 g) en forma de un sólido amarillo. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 7,08 (d, *J* = 2,4 Hz, ¹H), 6,88 (d, *J* = 2,0 Hz, ¹H), 4,76 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 2,23 (s, 3H).

Etapas E: Síntesis del Compuesto X

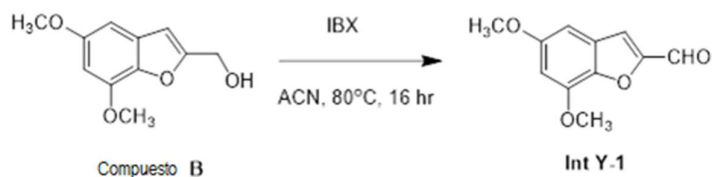


A una mezcla de Int X-4 (19,5 g, 71,9 mmol), NaOMe (212 mL, 25% p/v en MeOH) y DMF anhidra (2,2 g, 29,6 mmol) se añadió CuBr (3,0 g, 21,2 mmol) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó hasta 80 °C-90 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C antes de añadir H₂O (500 mL). La mezcla se extrajo con DCM (2 × 300 mL) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtraron. El filtrado se concentró al vacío con evaporador rotativo y el residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (altura de columna: 30 cm, diámetro: 10 cm, gel de sílice de malla 100-200, éter de petróleo/EtOAc = 10/1 a 3/1) para obtener el Compuesto X (8,4 g) en forma de un sólido amarillo. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 6,52 (s, ¹H), 6,47 (s, ¹H), 4,75 (s, 2H), 3,98 (s, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 1,91 (s, ¹H). **RMN de ¹³C**: (CDCl₃, 100 MHz): δ 156,5, 152,1, 145,3, 138,5, 113,4, 97,1, 93,1, 55,9, 55,8, 55,7, 8,0. **LCMS**: MS cal.: 222,24; MS experimental: 205,1 [M-OH]⁺. **Punto de fusión**: 71,9 °C - 73,8 °C.

Compuesto Y: 1-(5,7-dimetoxibenzofuran-2-il)etan-1-ol

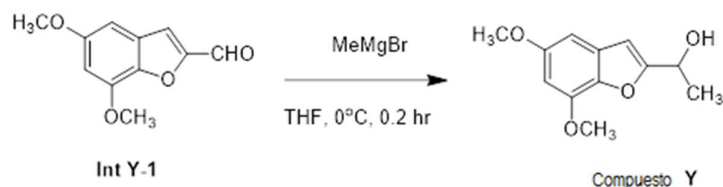


Etapa A: Síntesis del Int Y-1



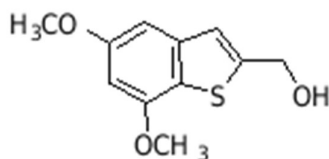
Una solución de Compuesto B (10,0 g, 48,03 mmol) e IBX (26,9 g, 96,06 mmol) se disolvió en 150 mL de acetonitrilo y se agitó a 80 °C bajo una manta de nitrógeno durante 4 h. La suspensión se enfrió y se filtró y la torta filtrante se calentó con 100 mL de EtOAc. El filtrado se concentró para dar 9,8 g de Int Y-1 en forma de un sólido amarillo.

Etapa B: Síntesis del Compuesto Y

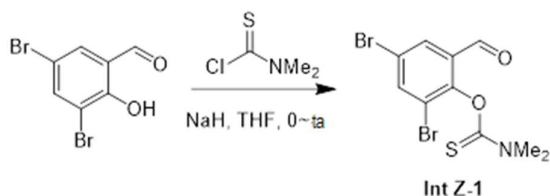


Una solución que contenía 3,0 g (14,5 mmol) en 50 mL de THF a 0 °C se añadió MeMgBr (7,3 mL, 21,9 mmol, 3M en éter) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos antes de neutralizarla con una solución saturada de NH₄Cl (20 mL). La capa orgánica resultante se extrajo con EtOAc (100 mL x 2) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar 3,2 g de Compuesto Y en forma de un aceite marrón. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,50 (s, 1H), 6,47 (s, 1H), 6,35 (s, 1H), 4,93 (dd, J = 6,0, 12,8 Hz, 1H), 3,89 (s, 3H), 3,75 (s, 3H), 1,55 (d, J = 6,0, 12,8 Hz, 3H).

Compuesto Z: (5,7-dimetoxibenzo[b]tiofen-2-il)metanol

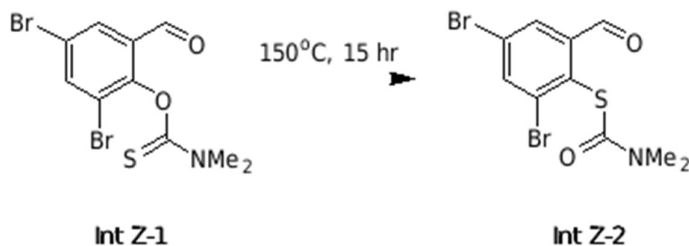


Etapa A: Síntesis del Int Z-1



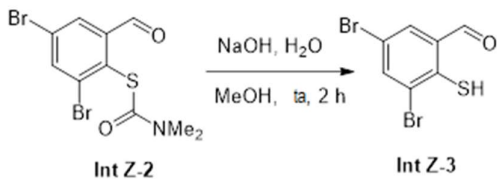
A una solución a 0 °C que contenía 3,5-dibromo-2-hidroxibenzaldehído (12 g, 42,8 mmol) en THF (100 mL) se añadió NaH (1,9 g, 47,6 mmol) en cinco porciones. La reacción se agitó durante 1 h de 0 °C a 20 °C, luego se reenfrió y se trató con una solución de cloruro de dimetiltiocarbamoilo (6,52 g, 52,7 mmol) en THF (20 mL). Una vez completa la reacción, una solución de NH₄Cl acuoso saturado (100 mL) se añadió y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (100 mL × 2). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo : EtOAc = 50:1 ~ 20:1) para obtener 9,0 g de **Int Z-1** en forma de un sólido amarillo. **RMN de ¹H:** (400 MHz, CDCl₃) δ 9,87 (s, ¹H), 7,91 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,40 (s, 6H).

Etapa B: Síntesis del Int Z-2



El Compuesto Int Z-1 (5,0 g, 13,6 mmol) en un recipiente de base redonda de 100 mL se agitó a 150 °C durante 3 hr, luego se enfrió y se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo: EtOAc = 5:1) para obtener 3 g de Int Z-2 en forma de un sólido amarillo. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 10,18 (s, ¹H), 8,00 (t, *J* = 10,0 Hz, 2H), 3,14 (s, 3H), 2,97 (s, 3H).

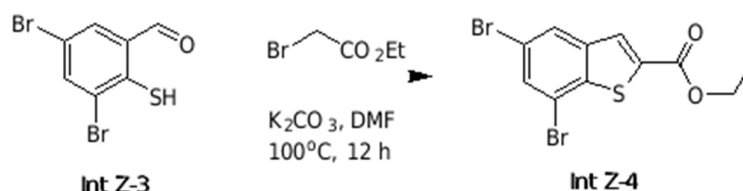
Etapa C: Síntesis del Int Z-3



Una solución que contenía 3 g (8,17 mmol) de Int Z-2 en MeOH (50 mL) se añadió NaOH (1,8 g, 45 mmol) en H₂O (50 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se neutralizó por adición de 10% de ácido cítrico (50 mL) y se extrajo con EtOAc (50 mL × 2). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄

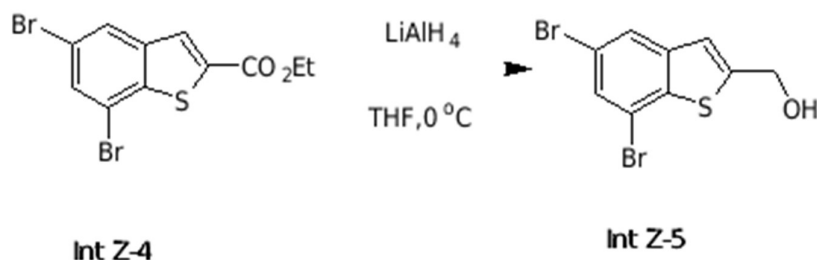
anhidro, se filtró y se concentró para proporcionar el Int Z-3 (2 g, crudo) en forma de aceite amarillo que se usó en la siguiente etapa sin ulterior purificación.

Etapa D : Síntesis del Int Z-4



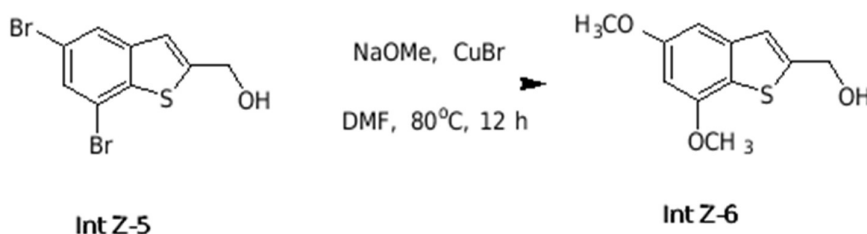
- 5 Una solución que contenía 2 g (6,76 mmol) de Int Z-3 en DMF (80 mL) se añadió bromoacetato de etilo (1,13 g, 6,76 mmol) y K_2CO_3 (2,8 g, 20,3 mmol). La mezcla resultante se calentó hasta 100 °C y se agitó durante 12 h. La reacción luego se enfrió y se trató con 100 mL de agua, luego se extrajo con 2 x 100 mL de EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron y se concentraron para obtener un residuo que se purificó por
- 10 cromatografía en columna (éter de petróleo: EtOAc = 100:1) para proporcionar el Int Z-4 (2,0 g) en forma de un sólido blanco. **RMN de ^1H** (400 MHz $CDCl_3$) δ 7,98 (s, ^1H), 7,90 (d, $J = 2,0$ Hz, ^1H), 7,66 (d, $J = 2,0$ Hz, ^1H), 4,36–4,34 (m, 2H), 1,37–1,33 (m, 3H).

Etapa E: Síntesis del Int Z-5



- 15 A una suspensión que contenía $LiAlH_4$ (0,42 g, 11 mmol) en THF (80 mL) en un recipiente de base redonda de 250 mL a 0 °C se añadió una solución de Int Z-4 (2 g, 5,5 mmol) en THF (20 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h, luego se neutralizó lentamente con H_2O (0,45 mL), luego NaOH (15%, 0,45 mL) y H_2O (1,3 mL). El $MgSO_4$ sólido se añadió y la mezcla se filtró. El filtrado se
- 20 concentró para obtener el Int Z-5 (1,4 g) en forma de un sólido blanco.

Etapa F: Síntesis del Int Z-6



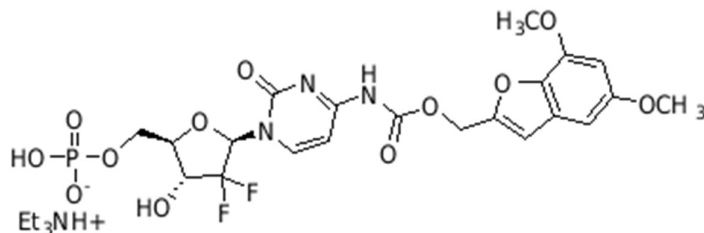
Una solución que contenía Int Z-5 (1,4 g, 4,35 mmol) en NaOMe/MeOH (40 mL) se añadió DMF (0,13 g, 1,74 mmol) y CuBr (0,19 g, 1,31 mmol). La mezcla resultante se

agitó durante 12 h a 100 °C luego se enfrió y se trató con 50 mL de agua. La mezcla se extrajo con 50 mL de DCM, luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La mezcla se filtró y se concentró para dar un residuo que se purificó por cromatografía en columna (éter de petróleo/EtOAc = 20:1) para proporcionar 1,1 g de Compuesto Z en forma de un sólido blanco. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃) δ 7,11 (s, ¹H), 6,73 (d, *J* = 2,0 Hz, ¹H), 6,36 (d, *J* = 2,0 Hz, ¹H), 4,83 (t, *J* = 4,8 Hz, ¹H), 3,87 (s, 3H), 3,79 (s, 3H).

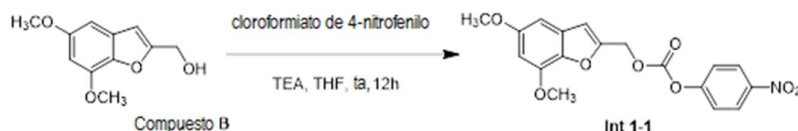
EJEMPLOS

Ejemplo 1:

- 10 Preparación de sal de ((2R,3R,5R)-5-(4-(((5,7-dimetoxibenzofuran-2-il)metoxi)carbonil)-amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxitetrahydrofuran-2-il)metil hidrógeno fosfato trietilamonio (**Compuesto 1**)

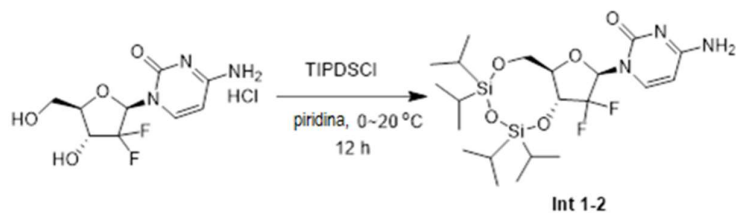


- 15 *Etapa A: Síntesis del Int 1-1*



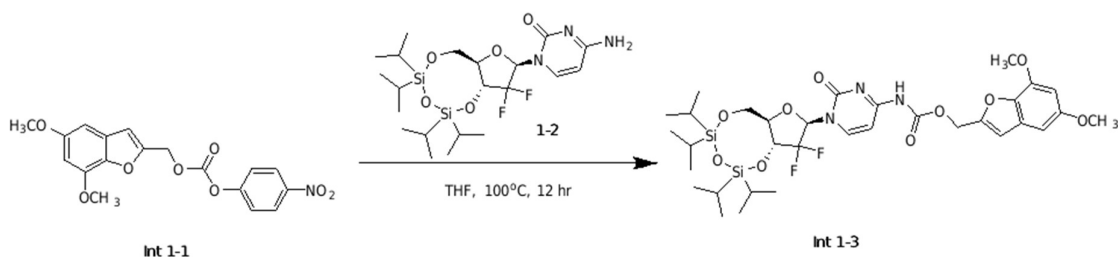
- A una solución agitada de compuesto B (60 g, 0,29 mol) y TEA (31 g, 0,30 mol) en THF anhidro (500 mL) (baño de agua helada) se añadió cloroformato de 4-nitrofenilo (60 g, 0,30 mol) en THF anhidro (300 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla de reacción luego se agitó a 20 °C durante 12 h antes de evaporar el disolvente. El residuo crudo se calentó con MTBE (150 mL × 3) y luego se filtró. El filtrado se descartó y la torta filtrante se disolvió en EtOAc (2000 mL) y agua (1000 mL). La fase orgánica se separó y se lavó con agua (1000 mL × 2), luego salmuera (500 mL), luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. El filtrado se concentró para obtener 85 g de Int 1-1. *R_f* (PE: EtOAc = 3: 1) = 0,5. **RMN de ¹H** (400 MHz) CDCl₃ δ 8,30 (d, *J* = 9,2 Hz, 2 H), 7,40 (d, *J* = 9,2 Hz, 2 H), 6,84 (s, ¹H), 6,62 (s, 1 H), 6,51 (s, 1 H), 5,38 (s, 2 H), 4,00 (s, 3 H), 3,84 (s, 3 H).

Etapa B: Síntesis del Int 1-2



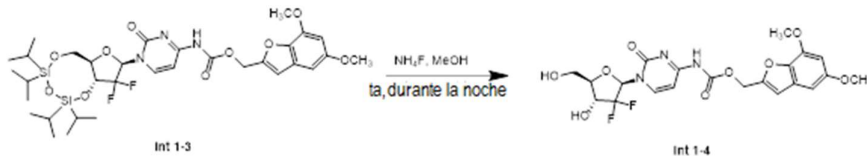
A una solución de clorhidrato de gemcitabina (140 g, 460 mmol) en piridina (2000 mL) (baño de agua helada) se añadió TIPDSCI (176 g, 560 mmol) gota a gota a 0 °C bajo N₂. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 12 h. La piridina se retiró al vacío y el residuo se disolvió con EtOAc (1500 mL) y se lavó con agua (800 mL × 3). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró para dar 250 g de compuesto 1-2 en forma de un sólido blanco, que se usó directamente a la siguiente etapa. **RMN de ¹H** (400 MHz) DMSO-d₆ δ 7,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,41–7,44 (m, 2 H), 6,11 (s, 1H), 5,78–5,80 (m, 1 H), 4,37 (s, 1 H), 4,12–4,20 (d, *J* = 10,4 Hz, 1 H), 4,00–3,89 (m, 2 H), 1,05–0,73 (m, 28 H).

Etapa C: Síntesis del Int i-3



A una suspensión agitada de compuesto **Int 1-1** (85 g, 0,224 mol) en THF (800 mL) se añadió compuesto **1-2** (116 g, 0,23 mol) en una porción bajo nitrógeno. La solución resultante se calentó a reflujo a 100 °C durante 12 h. La mezcla se enfrió y el disolvente se evaporó para dar un residuo que se disolvió en EtOAc (500 mL) y se lavó con agua (200 mL × 3). La fase orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el producto crudo que se purificó por cromatografía flash para dar 90 g de compuesto **Int 1-3** en forma de espuma. R_f (éter de petróleo : EtOAc = 1: 1) = 0,4.

Etapa D: Síntesis del Int 1-4



El Compuesto **Int 1-3** (90 g, 0,12 mol) se disolvió en MeOH (1000 mL) y se trató con NH₄F (22,5 g, 2,46 mol) en una única porción. La solución resultante se agitó a 20 °C durante 12 h antes de evaporar el disolvente para dar un residuo. El residuo se disolvió

en EtOAc (1000 mL) y se lavó con agua (500 mL × 3), luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró para dar un residuo. El residuo se cubrió con MeOH de grado HPLC (1000 mL), luego se filtró. La torta filtrante se calentó con MeOH de grado HPLC (200 mL × 2). La torta filtrante luego se cubrió con MeOH de grado HPLC (1500 mL) y se calentó a 80 °C para producir una solución. La solución se enfrió hasta temperatura ambiente durante 12 h para efectuar la precipitación. El precipitado se filtró y se lavó con MeOH de grado HPLC (150 mL × 3) y los sólidos se secaron a 45 °C durante 6 días para dar 35 g de Int 1–4 en forma de un sólido blanco. R_f (DCM/MeOH = 15/1) = 0,3. **HPLC**: *t* = 2,40 min; pureza: 99,71%. **RMN de ¹H** (400 MHz) DMSO–d₆ δ 11,03 (s, 1 H), 8,24 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H), 7,10 (d, *J* = 7,2 Hz, 1 H), 6,95 (s, 1 H), 6,72 (s, 1 H), 6,56 (s, 1 H), 6,31 (d, *J* = 2,0 Hz, 1 H), 6,18–6,14 (m, 1 H), 5,30 (s, 3 H), 4,21–3,90 (m, 1 H), 3,82 (s, 4 H), 3,77 (m, 4 H), 3,69–3,64 (m, 1 H). **MS cal.**: 497,1, [M–44]⁺ = 454,2.

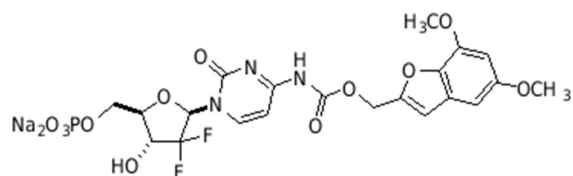
Etapas E: Síntesis del Compuesto 1



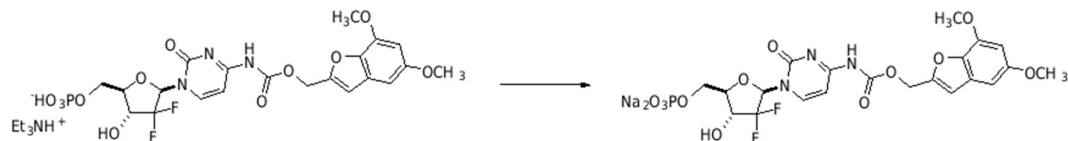
A un recipiente de base redonda de 100 mL seco que contenía el Int 1–4 (2,0 g, 4,0 mmol) se añadió trimetilfosfato (10 ml). La suspensión se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente hasta formar una solución homogénea. La mezcla de reacción resultante luego se enfrió hasta –10 °C en un baño de agua helada–sal y se agitó durante 10 minutos. Oxidocloruro de fósforo (2,8 g, 18 mmol) se añadió gota a gota durante un período de 10 minutos. Tras completar la adición, la mezcla de reacción se agitó a –10 °C durante 3 horas más. La mezcla de reacción luego se trató con agua desionizada (200 mL) gota a gota a 0 °C. Durante la adición, se formó un sólido amarillo que luego se filtró y se lavó con agua (10 mL×3). El sólido amarillo se disolvió en acetonitrilo/agua (20 mL, 1/1) y se ajustó a pH = 8 con EtOAc. La mezcla se purificó por HPLC preparativa para dar 1,0 g de **Compuesto 1** en forma de un sólido blanco. HPLC pureza: 99,83 %. **RMN de ¹H** (400 MHz) DMSO–d₆ δ 11,03 (br. s., 1H), 8,32 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,56 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 6,16 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,31 – 4,22 (m, 1H), 4,08 (s., 1H), 3,99 (d, *J* = 6,3 Hz, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,77 (s, 3H), 2,97 (d, *J* = 6,5 Hz, 6H), 1,16 (t, *J* = 7,2 Hz, 9H). **RMN de ³¹P**: (160 MHz) DMSO–d₆ δ 0,27.

Ejemplo 2

Preparación de ((2R,3R,5R)–5–(4–(((5,7–dimetoxibenzofuran–2–il)metoxi)–carbonil)amino)–2–oxopirimidin–1(2H)–il)–4,4–difluoro–3–hidroxitetrahidrofuran–2–il)–metilfosfato disódico (**Compuesto 2**)



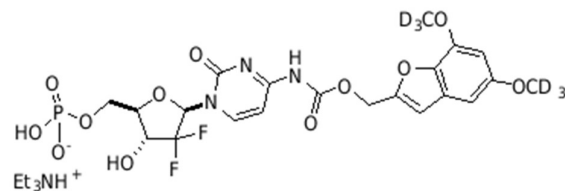
Etapa A: Preparación de Compuesto 2



- 5 Compuesto 1 (0,100 g, 0,1 mmoles, 1,0 equivalente) se disolvió en agua desionizada (10 mL) y se añadió a resina de intercambio iónica en forma de sodio Bio-Rex 70 (5,0 g) que previamente se hinchó con agua desionizada (10 mL). La mezcla se diluyó con agua desionizada (20 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. HPLC y LC_MS indicaron un tiempo de retención completamente diferente del material de partida. El material se filtró a través de una fritta sinterizada. La solución transparente
- 10 resultante se liofilizó hasta sequedad para obtener el Compuesto 2 en forma de un polvo blanco. **RMN de ^1H** (300 MHz, D_2O): δ 8,16 (d, $J = 7,5$ Hz, ^1H), 7,02 (d, $J = 7,8$ Hz, ^1H), 6,72 (s, ^1H), 6,56 (d, $J = 1,8$ Hz, ^1H), 6,35 (d, $J = 2,1$ Hz, ^1H), 6,06 (t, $J = 6,8$ Hz, ^1H), 5,17 – 5,08 (m, 2H), 4,40 – 4,28 (m, ^1H), 4,06 – 4,00 (m, 2H), 3,95 – 3,86 (m, ^1H),
- 15 3,78 (s, 3H), 3,65 (s, 3H). **RMN de ^{31}P** (120 MHz, D_2O): δ 4,90

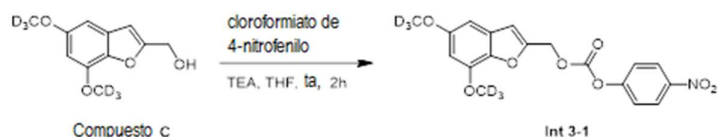
Ejemplo 3

Preparación de ((2R,3R,5R)-5-(4-(((5,7-bis(metoxi-d3)benzofuran-2-il)-metoxi)carbonil)amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxi-tetrahydrofuran-2-il)metil hidrógeno-fosfato de trietilamonio (**Compuesto 3**)



20

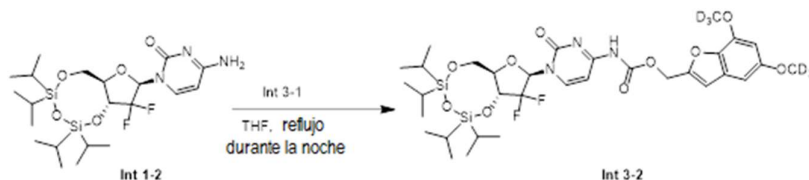
Etapa A: Síntesis del Int 3-1



- A una solución agitada de Compuesto C (17 g, 79 mmol) en THF (100 mL) se añadió EtOAc (8,2 g, 83 mmol) gota a gota a 0 °C (baño de agua helada) durante 5 min
- 25 después la solución de cloroformiato de 4-nitrofenilo (17,1 g, 85 mmol) en porciones en

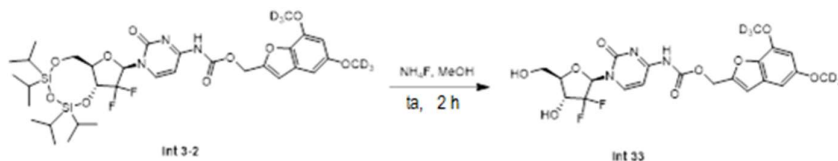
THF (50 mL). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente luego se evaporó y el residuo crudo se agitó con MTBE (100 mL × 3), luego se filtró. La torta filtrante se disolvió en EtOAc (150 mL) y se lavó con agua (50 mL × 2). La capa orgánica se separó, se secó sobre anhidro Na₂SO₄ y se filtró. El filtrado se concentró para dar el Int 3–9 (19 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 380,2 [M+H]⁺. **RMN de ¹H**: (CDCl₃, 400 MHz): δ 8,27 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,38 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,83 (s, 1H), 6,60 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,49 (s, *J* = 2,0 Hz, 1H), 5,37 (s, 2H).

Etapas B: Síntesis del Int 3–2



A una solución agitada de Int 1–2 (14 g, 28 mmol) en THF (50 mL) se añadió Int 3–9 (11 g, 28 mmol) y la solución resultante se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y el disolvente se removió para dar un residuo. El residuo se purificó por cromatografía flash (altura de columna: 30 cm, diámetro: 10 cm, gel de sílice de malla 100–200, éter de petróleo/EtOAc=10/1, 5/1, 4/1) para dar el Int 3–10 (13 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 702,4 [M–C₃H₈]⁺. **RMN de ¹H** (400 MHz, CDCl₃): δ 8,02 (d, *J* = 8,0, 1 H), 7,32 (d, *J* = 8,4, 1 H), 6,81 (s, 1 H), 6,63 (d, *J* = 2,0 Hz, 1 H), 6,47 (d, *J* = 2,0 Hz, 1 H), 6,17–6,14 (t, *J* = 12,4 Hz, 1H), 5,33–5,25 (m, 2 H), 4,43–4,37 (m, 2 H), 4,25–4,21 (m, 1 H), 4,10–3,91 (m, 2 H), 1,11–1,03 (m, 28 H).

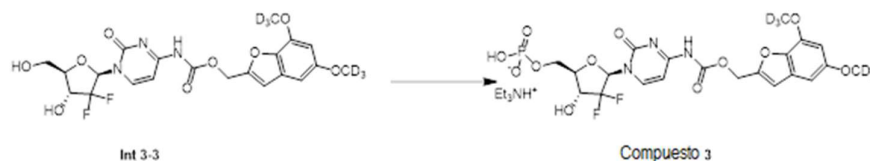
Etapas C: Síntesis del Int 3–3



El compuesto **Int 3–2** (13 g, 17,4 mmol) se disolvió en MeOH (50 mL). A esta solución, se añadió NH₄F (2,9 g, 78,4 mmol) en una porción y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó para dar un residuo que se disolvió en EtOAc (100 mL), luego se lavó con agua (50 mL × 3). Los extractos orgánicos se combinaron y se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, luego se concentraron para dar un residuo. El residuo se agitó con MeOH de grado HPLC (200 mL), luego se filtró. La torta filtrante se calentó dos veces con 500 mL de MeOH de grado HPLC (la HPLC mostró que la pureza de la torta filtrante era de ~99%). La torta filtrante se disolvió en MeOH de grado HPLC (200 mL) y se calentó hasta 80 °C. El calor se removió y la solución resultante se dejó reposar a temperatura ambiente durante la

noche. El sólido resultante se filtró y se lavó con MeOH de grado HPLC (50 mL × 3). El producto sólido se calentó a 45 °C al vacío durante 6 días, para dar el Int **3-3** (5,7 g) en forma de un sólido blanco. **LCMS**: 460 [M-CO₂]⁺. **RMN de ¹H**: (DMSO-d₆, 400 MHz): δ = 10,01 (s, ¹H), 8,24 (d, J = 8,0 Hz, ¹H), 7,10 (d, J = 7,6 Hz, ¹H), 6,94 (s, ¹H), 6,71 (s, ¹H), 6,55 (d, J = 2,0 Hz, ¹H), 6,32–6,30 (m, ¹H), 6,18–6,14 (m, ¹H), 5,29 (s, 3H), 4,22–4,16 (m, ¹H), 3,89–3,87 (m, ¹H), 3,78–3,65 (m, 2H). **RMN de ¹³C**: (DMSO-d₆, 100 MHz): δ: 163,7, 157,0, 154,4, 153,1, 152,5, 145,5, 144,9, 139,4, 129,2, 125,9, 123,4, 120,8, 108,5, 98,0, 95,3, 81,4, 69,0, 68,8, 68,6, 59,7, 59,2. **MP**: 137,8 °C – 142,4 °C.

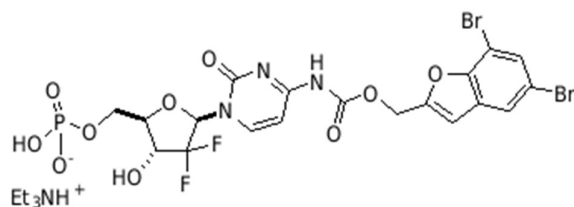
Etapa D: Síntesis del Compuesto 3



Un recipiente de base redonda de 100 mL seco se cargó con el Int 3-3 (0,223 g, 0,4 mmol, 1,0 equivalente) y trimetilfosfato (0,918 ml). Esta mezcla se sonicó para dar una solución homogénea que luego se enfrió en un baño de agua helada y se agitó durante 10 minutos. Oxidocloruro de fósforo (49 ul, 0,5 mmoles, 1,2 equivalentes) se añadió gota a gota durante un período de 3 min. La mezcla de reacción agitada se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. Oxidocloruro de fósforo adicional (13 ul) se añadió y se agitó durante una hora. La reacción se neutralizó con tampón 2 M de TEAHC (hidrógeno-carbonato de trietilamonio) hasta pH = 8 y se guardó en la heladera durante la heladera. La mezcla luego se extrajo con diclorometano (50 ml). La capa acuosa se purificó por fase inversa preparativa-HPLC (Gemini-NX, 10u C₁₈ 110A AXD 100 x 21,20 mm; 0 – 50% de CH₃CN/50 mM de TEAHC acuoso durante 9 min, se mantuvo al 50% de CH₃CN/50 mM de TEAHC acuoso durante 10 min, había aproximadamente 6 mL del producto crudo, la cantidad de inyección era de 0,4 mL, el producto se eluyó a ~5,5 min). Las fracciones recolectadas se liofilizaron para dar 140 mg de compuesto 3 en forma de un sólido blanco. **RMN de ¹H** (D₂O, 300MHz): δ 8,2 ppm (d, ¹H, J = 7,5 Hz), 7,05 (d, ¹H, J = 7,5 Hz), 6,79 (s, ¹H), 6,65 (d, ¹H, 2,4 Hz), 6,455 (d, ¹H, J = 2,4 Hz), 6,131 (m, ¹H), 5,195 (s, 2H), 4,5–4,3 (m, ¹H), 4,15–4,0 (m, 2H), 4,0–3,9 (m, ¹H), 3,0 (q, 12H, J = 7,2 Hz, Et₃NH⁺), 1,141 (t, 18H, J = 7,2 Hz, Et₃NH⁺). **RMN de ³¹P** (D₂O, 121 MHz): δ 4,975. **LC-MS**: 606,0 [M+Na]⁺, 581,6 [M-1]⁻.

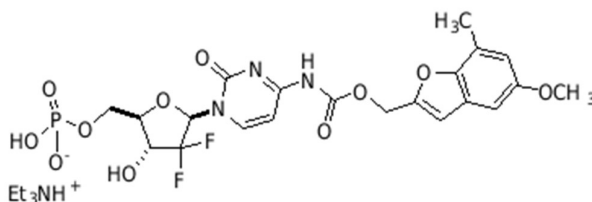
Los siguientes compuestos 4–6 se pueden preparar usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 3:

Compuesto 4: ((2R,3R,5R)-5-(4-(((5,7-dibromobenzofuran-2-il)metoxi)carbonil)-amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxitetra-hidrofuran-2-il)metilhidrógeno-fosfato de trietilamonio



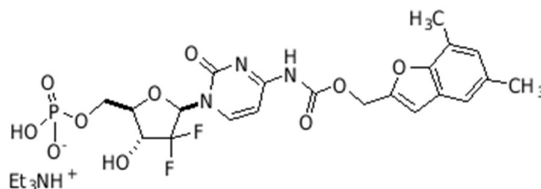
- RMN de ^1H** (300 MHz, D_2O): δ 7,94 (d, $J = 7,2$ Hz, ^1H), 7,09 (s, ^1H), 6,98 (s, ^1H), 6,94 (d, $J = 7,2$ Hz, ^1H), 6,54 (s, ^1H), 6,01 (t, $J = 7,2$ Hz, ^1H), 5,11 – 5,00 (m, 2H), 4,30 – 4,19 (m, ^1H), 4,09 – 4,02 (m, 3H), 3,00 (q, $J = 7,2$ Hz, 6H), 1,08 (t, $J = 7,2$ Hz, 9H). **RMN de ^{31}P** (121 MHz, D_2O): δ 1,92. **LC-MS:** 1350,4 [2M+1] $^+$, 675,7, 677,6, 678,7 [M+1] $^+$

Compuesto 5: ((2R,3R,5R)-4,4-difluoro-3-hidroxi-5-(4-(((5-metoxi-7-metilbenzofuran-2-il)metoxi)carbonil)amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)tetrahidrofuran-2-il)metilhidrógeno-fosfato de trietilamonio



- RMN de ^1H** (300 MHz, D_2O): δ 7,94 (d, $J = 7,5$ Hz, ^1H), 6,77 (d, $J = 7,5$ Hz, ^1H), 6,60 (d, $J = 2,1$ Hz, ^1H), 6,56 (s, ^1H), 6,40 (s, ^1H), 5,96 (t, $J = 7,0$ Hz, ^1H), 5,02 – 4,91 (m, 2H), 4,33 – 4,21 (m, ^1H), 4,01 – 3,97 (m, 2H), 3,92 – 3,86 (m, ^1H), 3,54 (s, 3H), 2,87 (q, $J = 7,3$ Hz, 12H), 2,12 (s, 3H), 1,02 (t, $J = 7,3$ Hz, 18H). **RMN de ^{31}P** (121 MHz, D_2O): δ 4,88.

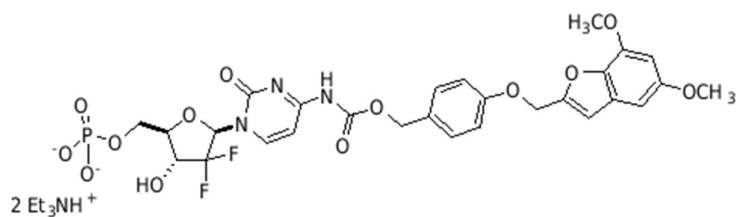
- Compuesto 6:** ((2R,3R,5R)-5-(4-(((5,7-dimetilbenzofuran-2-il)metoxi)carbonil)amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metilhidrógeno-fosfato de trietilamonio



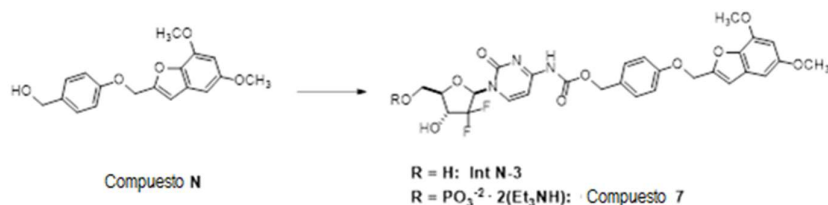
- RMN de ^1H** (300 MHz, D_2O): δ 8,04 (d, $J = 7,5$ Hz, ^1H), 6,99 – 6,89 (m, 3H), 6,56 (s, ^1H), 6,00 (t, $J = 6,9$ Hz, ^1H), 5,11 – 5,00 (m, 2H), 4,35 – 4,24 (m, ^1H), 4,04 – 3,88 (m, 3H), 2,95 (q, $J = 7,2$ Hz, 12H), 1,98 (s, 3H), 1,96 (s, 3H), 1,07 (t, $J = 7,2$ Hz, 18H). **RMN de ^{31}P** (121 MHz, D_2O): δ 4,90. **LC-MS:** 543,6 [M-H] $^+$.

Ejemplo 4

- Preparación de ((2R,3R,5R)-5-(4-(((4-((5,7-dimetoxibenzofuran-2-il)metoxi)benzil)oxi)carbonil)amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metilfosfato de di(trietilamonio) (**Compuesto 7**)



Etapa A: Preparación del Compuesto 7



El Int N se convirtió en el Int N-3 usando el procedimiento en 3 etapas descrito en el

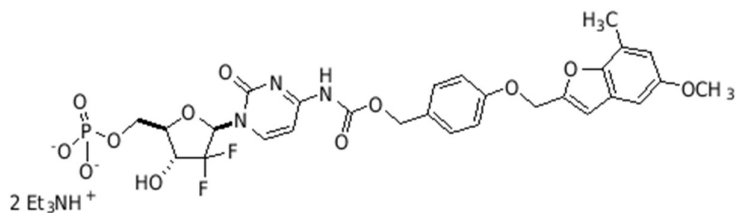
5 Ejemplo 1. Un recipiente de base redonda de 100 mL seco se cargó con el Int N-3 (0,220 g, 0,4 mmol) y trimetilfosfato (0,906 ml). Esta mezcla se sonicó para dar una solución homogénea tras lo cual se enfrió en un baño de agua helada y se agitó durante 10 minutos. Oxidocloruro de fósforo (40 uL, 0,4 mmol) se añadió gota a gota durante 3 minutos. Tras completar la adición la mezcla de reacción, se dejó calentar hasta

10 temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Oxidocloruro de fósforo adicional (13 uL) se añadió y la mezcla de reacción se agitó durante una hora. La reacción se neutralizó con tampón 2 M de TEAHC hasta pH = 8 y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla luego se extrajo con diclorometano. La capa acuosa (inicialmente una emulsión, que se clarificó después de reposar durante la noche) se purificó en

15 HPLC preparativa de fase inversa (Gemini-NX, 10u C₁₈ 110A AXD 100 x 21,20 mm; 0 – 45% de CH₃CN/50 mM de TEAHC acuoso durante 16 minutos, se mantuvo a 45% de CH₃CN/50 mM de TEAHC acuoso durante 2 minutos, el producto se eluyó a 12 minutos). Se recolectaron fracciones apropiadas, se combinaron y se liofilizaron para obtener el Compuesto 7 en forma de un polvo blanco (87 mg). **RMN de ¹H** (300 MHz, D₂O): δ 7,83 (d, J = 7,8 Hz, ¹H), 7,08 (d, J = 7,5 Hz, ¹H), 6,69 – 6,63 (m, 3H), 6,10 (s, ¹H), 5,97 (t, J = 7,3 Hz, ¹H), 5,85 (s, ¹H), 5,50 (s, ¹H), 4,82 (s, 2H), 4,75 (s, 2H), 4,31 – 4,20 (m, ¹H), 4,04 – 3,89 (m, 3H), 3,51 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 2,85 (q, J = 7,3 Hz, 12H), 1,04 (t, J = 7,3 Hz, 18H). **RMN de ³¹P** (121 MHz, D₂O): δ 4,95. **LCMS**: 639,9 [M – 44 + H]⁺

25 El siguiente compuesto se pudo preparar usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 4:

Compuesto 8: ((2R,3R,5R)-5-(4-(((4-((5-metoxi-7-metilbenzofuran-2-il)metoxi)bencil)oxi)carbonil)amino)-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4,4-difluoro-3-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metilfosfato de di(trietilamonio)



Rendimiento: 55%. **RMN de ^1H** (300 MHz, D_2O): δ 7,86 (d, $J = 7,8$ Hz, ^1H), 6,92 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 6,79 (d, $J = 7,8$ Hz, ^1H), 6,48 (d, $J = 7,8$ Hz, 2H), 6,20 – 6,11 (m, 3H), 5,99 (t, $J = 7,3$ Hz, ^1H), 4,71 (s, 2H), 4,48 (s, 2H), 4,29 – 4,18 (m, ^1H), 4,02 – 3,88 (m, 3H), 3,31 (s, 3H), 2,80 (q, $J = 7,3$ Hz, 12H), 1,00 (t, $J = 7,3$ Hz, 18H). **RMN de ^{31}P** (121 MHz, D_2O): δ 4,91. **LC-MS**: 624,0 $[\text{M}-\text{CO}_2+\text{H}]^+$; 690,0 $[\text{M} + \text{Na}]^+$

Ejemplo 5

Citotoxicidad comparativa IC_{50} del Compuesto 1 con su SMDC Int 1–4 no fosforilado y gemcitabina en líneas celulares primarias de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello humanos

Se usó un ensayo de proliferación de células tumorales para determinar los valores de IC_{50} de citotoxicidad para los compuestos profarmacológicos de fosfato 1–9, los compuestos principales de SMDC no fosforilados y el efector (gemcitabina) en ocho líneas celulares primarias de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello humanos de paso temprano que incluyen UT-SCC-5, UT-SCC-8, UT-SCC-9, UT-SCC-10, UT-SCC-14, UT-SCC-16A, UT-SCC-16B y UT-SCC-24A.

Métodos

Las células UTSCC se sembraron a 4000 células/100 μl /pocillo en una placa de cultivo de tejido de fondo transparente negro de 96 pocillos. Las células se incubaron a 37°C y 5% de CO_2 durante la noche para permitirles recuperarse y volver a unirse. Al día siguiente, las células se trataron con el compuesto de prueba (0 – 100 μM) durante 72 horas. Después del tratamiento, se midió la proliferación celular mediante cuantificación fluorescente del reactivo alamarBlue. El ensayo alamarBlue incorpora un indicador de crecimiento fluorométrico/colorimétrico basado en la detección de actividad metabólica. Específicamente, la resazurina, el ingrediente activo del reactivo alamarBlue, es de color azul y prácticamente no fluorescente. Al ingresar en las células, la resazurina se reduce a resorufina, un compuesto de color rojo y altamente fluorescente. El crecimiento celular continuo mantiene un entorno reducido, por lo tanto, aumenta la fluorescencia general y el color de los medios que rodean las células. La intensidad de fluorescencia del reactivo alamarBlue fue directamente proporcional al número de células. Para realizar el ensayo alamarBlue, se añadieron 10 μl de reactivo

alamarBlue a cada pocillo y la placa se incubó a 37 °C durante 2 horas adicionales. La intensidad de fluorescencia se midió a una excitación de 530 nm y una emisión de 590 nm usando un lector de microplacas BioTek Synergy™ 2.

Se realizaron ensayos de proliferación celular por triplicado en cada concentración. Los datos de intensidad fluorescente se analizaron utilizando el software informático Graphpad Prism. En ausencia del compuesto, la intensidad fluorescente (F_t) en cada conjunto de datos se definió como el 100%. En ausencia de células, la intensidad fluorescente (F_b) en cada conjunto de datos se definió como el 0%. El porcentaje de células en presencia de cada compuesto se calculó de acuerdo con la siguiente ecuación: % de células = $(F - F_b) / (F_t - F_b)$, donde F = la intensidad fluorescente en presencia del compuesto, F_b = la intensidad fluorescente en ausencia de células, y F_t = la intensidad fluorescente en ausencia del compuesto. Los valores de % de células versus una serie de concentraciones de compuestos se representaron mediante un

Líneas celulares tumores *	Citotoxicidad $IC_{50}/\mu M$
----------------------------------	-------------------------------

análisis de regresión no lineal de la curva dosis–respuesta sigmoidal generada con la ecuación $Y = B + (T - B) / 1 + 10^{((\log EC_{50} - X) \times \text{pendiente de Hill})}$, donde Y = celda de porcentaje, B = celda de porcentaje mínimo, T = celda de porcentaje máximo, X = logaritmo del compuesto y pendiente de Hill = factor de pendiente o coeficiente de Hill. El valor de IC_{50} se determinó por la concentración que causaba un porcentaje de actividad medio máximo.

Los valores de citotoxicidad IC_{50} para el Compuesto 1, el SMDC original no fosforilado (Int 1–4) y gemcitabina se muestran en la Tabla 1. La relación promedio de los valores de citotoxicidad IC_{50} para el Compuesto 1/Int 1–4 ~1 es consistente con el Compuesto 1 actuando como un profármaco de Int 1–4. La relación promedio de los valores de citotoxicidad IC_{50} para el Compuesto 1/gemcitabina ~1,6 indica que el Compuesto 1 exhibe una citotoxicidad comparable en las líneas celulares primarias de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

	Comp 1	Int 1–4	gemcitabina	Compuesto 1/ Int 1–4	Compuesto 1/gemcitabina
UT–SCC–5	0,024	0,016	0,009	1,5	2,7
UT–SCC–8	0,023	0,032	0,022	0,7	1,0
UT–SCC–9	0,053	0,039	0,035	1,4	1,5
UT–SCC– 10	0,014	0,009	0,009	1,6	1,6
UT–SCC– 14	0,013	0,013	0,006	1,0	2,2
UT–SCC– 16A	0,073	0,138	0,061	0,5	1,2
UT–SCC– 16B	0,130	0,162	0,099	0,8	1,3
UT–SCC– 24A	0,018	0,020	0,014	0,9	1,3

Tabla 1. Citotoxicidad del Compuesto 1 (profármaco de fosfato) en comparación con el Intermedio 1–4 (SMDC original) y gemcitabina (efector) en una serie de líneas celulares primarias de carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello.

* Fuente: Hospital de la Universidad de Turku y Universidad de Turku, Turku, Finlandia

5

Ejemplo 6

Estudios farmacocinéticos

El SMDC no fosforilado correspondiente al compuesto 1 (Int 1–4) exhibe una solubilidad baja a moderada pero se formuló a 50 mg/ml. Int 1–4 fue mejorado en estudios PK de estabilidad y plasma/tejido normal.

10

Se encontró que el compuesto 1 era soluble en agua (> 300 mg/ml) y se formuló convenientemente para administración iv/sq.

a) Estudios farmacocinéticos comparativos (PK) de SMDC no fosforilado del compuesto 1 (Int 1–4) versus gemcitabina en plasma de ratón

15

Antecedentes: se sabe que la gemcitabina se desamina en la dFdU inactiva. Sin desear estar limitado por la teoría, Int 1–4 está diseñado para ser estable sistémicamente y activado en forma intratumoral para liberar gemcitabina “libre”.

Objetivos: Comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int 1–4 versus gemcitabina “libre” en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 10 mg/kg y gemcitabina a 5 mg/kg en ratones CD–1.

- 5 Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, V_{dss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para Int 1–4 y gemcitabina

Compuesto	Especie	# Animal es	Dosis	Formula ción	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Int 1–4	ratón CD–1	3	9,4 mg/kg	50% de PEG400 (super– refinado) 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabin a dFdU
Gemcitabin a	ratón CD–1	3	5,29 mg/kg	PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Gemcitabin a dFdU

- 10 Farmacocinética de gemcitabina en ratones CD–1

Parámetros PK	Gemcitabina (5,29 mg/kg)	dFdU
C_0 (ng/mL)	6433	—
C_{max} (ng/mL)	—	1600
T_{max} (h)	—	0,667
$T_{1/2}$ (h)	0,868	2,23
Vd_{ss} (L/kg)	1,84	—
CI (mL/min/kg)	59,0	—

AUC_{0-last} (ng.h/mL)	1383	6827
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	1393	8187
MRT_{0-last} (h)	0,503	2,56
MRT_{0-inf} (h)	0,541	3,49
AUC_{0-inf}/AUC_{0-last} (%)	101	111

Nota: — = sin muestra

La tabla anterior y la Figura 2a muestran que la gemcitabina se convierte en dFdU inactivo, que tiene una vida media en circulación larga y AUC y un tiempo de exposición prolongado. Según las proporciones de AUC_{0-last} (ng.h/mL), los niveles plasmáticos de dFdU son ~500% más altos que la gemcitabina. Los datos son consistentes con la literatura publicada.

10 Int 1–4 farmacocinética en ratones CD–1

Parámetros PK	Int 1–4 (9,4 mg/kg)	Gemcitabina	dFdU
C_0 (ng/mL)	78000	—	—
C_{max} (ng/mL)	—	81,9	253
T_{max} (h)	—	0,139	1,00
$T_{1/2}$ (h)	1,06	0,968	3,08
Vd_{ss} (L/kg)	0,566	—	—
Cl (mL/min/kg)	27,1	—	—
AUC_{0-last} (ng.h/mL)	4983	64,9	1039
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	5000	74,1	1440
MRT_{0-last} (h)	0,328	0,875	2,73
MRT_{0-inf} (h)	0,346	1,27	4,65
AUC_{0-inf}/AUC_{0-last} (%)	100	116	120

Nota: – = sin muestra

Según las proporciones de AUC_{0-last} (ng.h/mL), los niveles plasmáticos de gemcitabina constituyen ~1,3% de Int 1–4 administrado (ver datos tabulares arriba y Figura 2b). Sobre la base de las proporciones de C_0 y C_{max} (ng/ml), los niveles plasmáticos de gemcitabina constituyen el 0,01% de Int 1–4 administrado. Int 1–4 limpia rápidamente el plasma y se absorbe en el tejido como lo demuestran los estudios de PK de tejido normal.

b) Estudios farmacocinéticos comparativos (PK) de SMDC no fosforilado del compuesto 1 (Int 1–4) versus el compuesto 1 en ratones macho CD–1

Objetivos: comparar la farmacocinética y la estabilidad plasmática del Compuesto 1 con su análogo SMDC no fosforilado (Int 1–4) y en plasma después de una administración de infusión intravenosa única del Compuesto 1 a 11,6 mg/kg y 23,2 mg/kg con Int 1–4 (formulación F1 y F2) a 10,0 mg/kg en ratones macho CD–1

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, V_{dss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para el Compuesto 1 e Int 1–4

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Compuesto 1	ratón CD–1 macho	2	11,6 mg/kg & 23,2 mg/kg	PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Compuesto 1 Int 1–4 Gemcitabina, dFdU Gemcitabina mono–fosfato
Int 1–4	ratón CD–1 macho	2	10,0 mg/kg	(F1) 50% de PEG400 (super–refinado), 50% de D5W &	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4	Como arriba

				(F2) 5% de NMP, 30% de PEG 400, 15% de Solutol HS15, 50% de Lutrol F68 (5%) en agua		hr, 8 hr	
--	--	--	--	---	--	----------	--

Comparación del Compuesto 1 versus Int 1–4 en plasma de ratón (IV1)

Parámetros PK	Compuesto 1	Int 1–4 (del Compuesto 1)	Gemcitabina (del Compuesto 1)	dFdU (del Compuesto 1)	Gemcitabina mono–fosfato (del Compuesto 1)
	11,6 mg/kg				
C ₀ (ng/mL)	21943	—	—	—	—
C _{max} (ng/mL)	—	20000	152	220	33,6
T _{max} (h)	—	0,0250	0,0250	3,25	0,0250
t _{1/2} (h)	0,0147	0,974	1,04	2,38	ND
Vdss(L/kg)	1,41	—	—	—	—
Cl (mL/min/kg)	1972	—	—	—	—
AUC _{0–last} (ng.h/mL)	202	2570	97,9	967	0,840
AUC _{0–inf} (ng.h/mL)	202	2610	112	786	ND

MRT _{0-last} (h)	0,0108	0,553	1,01	3,70	0,0298
MRT _{0-inf} (h)	0,0109	0,673	1,41	3,81	ND

Comparación del Compuesto 1 versus Int 1–4 en plasma de ratón (IV2)

Parámetros PK	Compuesto 1	Int 1–4 (del Compuesto 1)	Gemcitabina (del Compuesto 1)	dFdU (del Compuesto 1)	Gemcitabina mono–fosfato (del Compuesto 1)
	23,2 mg/kg				
C ₀ (ng/mL)	2334	—	—	—	—
C _{max} (ng/mL)	—	29933	222	378	30,4
T _{max} (h)	—	0,0250	0,0333	4,00	0,0250
t _{1/2} (h)	0,0363	0,930	1,03	2,86	0,0273
Vdss(L/kg)	12,0	—	—	—	—
Cl (mL/min/kg)	5193	—	—	—	—
AUC _{0-last} (ng.h/mL)	103	6370	202	1960	1,18
AUC _{0-inf} (ng.h/mL)	105	6383	218	1830	1,44
MRT _{0-last} (h)	0,0426	0,778	1,11	3,65	0,0397
MRT _{0-inf} (h)	0,0455	0,793	1,40	4,48	0,0550

Comparación del Compuesto 1 versus Int 1–4 en plasma de ratón (IV3)

5

Parámetros PK	Compuesto 1	Int 1–4 Formulación	Gemcitabina (del Int 1–4)	dFdU (del Int	Gemcitabina mono–fosfato
------------------	----------------	------------------------	------------------------------	------------------	-----------------------------

	(del Int 1–4)	1		1–4)	(del Int 1–4)
		10,0 mg/kg			
C ₀ (ng/mL)	—	33800	—	—	—
C _{max} (ng/mL)	ND	—	107	213	ND
T _{max} (h)	ND	—	0,0611	4,00	ND
t _{1/2} (h)	ND	1,18	1,62	3,06	ND
Vdss(L/kg)	—	2,01	—	—	—
Cl (mL/min/kg)	—	48,3	—	—	—
AUC _{0–last} (ng.h/mL)	ND	3623	98,6	983	ND
AUC _{0–inf} (ng.h/mL)	ND	3633	120	1124	ND
MRT _{0–last} (h)	ND	0,723	1,15	3,59	ND
MRT _{0–inf} (h)	ND	0,756	1,98	4,67	ND

ND = no detectado

Parámetros PK	Compuesto 1 (del Int 1–4)	Int 1–4 Formulación 2	Gemcitabina (del Int 1–4)	dFdU (del Int 1–4)	Gemcitabina mono– fosfato (del Int 1–4)
		100 mg/kg			
C ₀ (ng/mL)	—	43000	—	—	—
C _{max} (ng/mL)	ND	—	93,6	236	ND
T _{max} (h)	ND	—	0,0333	4,00	ND

$t_{1/2}$ (h)	ND	1,82	1,66	4,15	ND
Vdss(L/kg)	—	2,30	—	—	—
Cl (mL/min/kg)	—	38,9	—	—	—
AUC _{0–last} (ng.h/mL)	ND	4213	85,1	1106	ND
AUC _{0–inf} (ng.h/mL)	ND	4293	102	1625	ND
MRT _{0–last} (h)	ND	0,797	1,25	3,95	ND
MRT _{0–inf} (h)	ND	0,984	2,10	5,89	ND

c) *Farmacocinética de Int 3–3 (un análogo deuterado de Int 1–4), el SMDC no fosforilado del Compuesto 3 (un análogo deuterado del Compuesto 1).*

Objetivos: determinar la farmacocinética plasmática de Int 3–3 después de una infusión intravenosa única de Int 3–3 a 8,83 mg/kg en ratones CD–1

Mediciones de PK: comparar los parámetros PK C₀, CL, Vdss, C_{max}, t_{max}, t_{1/2}, AUC_(0–t), AUC_(0–inf), MRT_(0–t), MRT_(0–inf) para Int 3–3.

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Int 3–3	ratón CD–1	3	8,83 mg/kg	50% de PEG400 (super– refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 3–3 Gemcitabina dFdU

10

Int 3–3 Farmacocinética en ratones CD–1

Parámetros PK	Int 3–3 (8,8 mg/kg)	Gemcitabina	dFdU
C_0 (ng/mL)	45933	—	—
C_{max} (ng/mL)	—	73,4	168
T_{max} (h)	—	0,0611	4,00
$T_{1/2}$ (h)	1,24	1,38	5,22
Vd_{ss} (L/kg)	1,83	—	—
Cl (mL/min/kg)	43,3	—	—
AUC_{0-last} (ng.h/mL)	3483	63,5	942
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	3510	71,9	1403
MRT_{0-last} (h)	0,704	1,13	3,67
MRT_{0-inf} (h)	0,766	1,69	7,48
AUC_{0-inf}/AUC_{0-last} (%)	101	113	146

d) Int 1–4 PK de tejido y plasma normal en ratones CD–1

Objetivos: comparar la farmacocinética, distribución y estabilidad normales del tejido de Int 1–4 en órganos excretores después de una única administración de infusión intravenosa de Int 1–4 a 20 mg/kg en ratones macho CD–1.

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, Vd_{ss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para Int 1–4

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Int 1–4	ratón CD–1 macho	3	18,4 mg/kg	50% de PEG400 (super- refinado), 50% de	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1	Int 1–4 Gemcitabina dFdU

				D5W		hr, 4 hr, 8 hr	
	órganos hígado riñón bazo plasma						

Como se muestra en la Figura 5, Int 1–4 es estable en el plasma y en los principales órganos excretores, como el hígado y el riñón. La gemcitabina parece desaminarse en dFdU. El 90% de la gemcitabina es desintoxicada por la citidina desaminasa que se previene en forma de SMDC.

e) Tejido normal de gemcitabina y PK plasmática en ratones CD–1

Objetivos: determinar la farmacocinética, distribución y estabilidad normal de los tejidos de gemcitabina en órganos y plasma excretores seleccionados luego de una administración de infusión intravenosa única de gemcitabina a 10,5 mg/kg en ratones CD–1 macho.

Mediciones de PK: determinar los parámetros PK C_0 , CL, V_{dss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para gemcitabina

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Gemcitabina	ratón CD–1 macho	3	10,5 mg/kg	10 mM de PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Gemcitabina dFdU
	órganos hígado riñón						

	bazo						
	plasma						

Como se muestra en la Figura 6, la gemcitabina se desamina a dFdU en plasma y tejido normal. En la clínica, el 90% de la dosis inyectada se recupera en la orina, ya sea como gemcitabina original (1%) o dFdU (99%).

5

f) Int 1–4 PK de plasma en el mono cynomolgus macho

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int 1–4 en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 5 mg/kg y 10 mg/kg en el mono cynomolgus macho

- 10 Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, V_{dss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para Int 1–4

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Int 1–4	mono Cynomolgus macho	1	5 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU
Int 1–4	mono Cynomolgus macho	1	10 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU

15 **Int 1–4 parámetros en mono cynomolgus macho**

Parámetros PK	Int 1–4		Gemcitabina		dFdU	
	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg
C ₀ (ng/mL)	81000	166000	20,5	53,4	296	747
t _{1/2} (h)	0,73	0,93	0,047	0,08	0,67	0,75
Vd _{ss} (L/kg)	0,301	0,253	0,11	0,19	21,11	44,16
Cl (mL/min/kg)	15,4	9,65	3,71	15,5	3947	8710
AUC _{0–last} (ng,h/mL)	5460	17367	6,41	16,7	7630	28100
AUC _{0–inf} (ng,h/mL)	5473	17400	0,13	0,24	10,18	10,40
MRT _{0–last} (h)	0,31	0,43	0,19	0,30	30,60	63,00
MRT _{0–inf} (h)	0,33	0,44	20,5	53,4	296	747

g) Int 1–4 y PK comparativa de gemcitabina en mono cynomolgus macho

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int 1–4 versus gemcitabina en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 5 mg/kg y 10 mg/kg con gemcitabina equimolar a 2,65 mg/kg y 5,29 mg/kg en monos cynomologus machos

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C₀, CL, Vd_{ss}, C_{max}, t_{max}, t_{1/2}, AUC_(0–t), AUC_(0–inf), MRT_(0–t), MRT_(0–inf) para Int 1–4 con gemcitabina

Compuesto	Especie	# Animales	Dosis	Formulación	Vía	Puntos de tiempo	Analitos
Int 1–4	mono Cynomolgus macho	1	5 mg/kg & 10 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU

Gemcitabina	mono Cynomolgus machos	1	2,65 mg/kg & 5.29 mg/kg	PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Gemcitabina dFdU
-------------	------------------------------	---	----------------------------------	-----	----	--	---------------------

Int 1–4 parámetros PK en el mono cynomolgus macho

Parámetros PK	Int 1–4		Gemcitabina		dFdU	
	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg
C ₀ (ng/mL)	99700	145733				
C _{max} (ng/mL)			27,3	60,3	302	595
t _{max} (h)			0,08	0,08	1,69	0,67
t _{1/2} (h)	0,75	0,99	0,15	0,18	16,86	12,87
Vd _{ss} (L/kg)	0,287	0,349	0,349			
Cl (mL/min/kg)	14,6	15,0				
AUC _{0–last} (ng·h/mL)	5947	11897	5,37	16,2	4117	5120
AUC _{0–inf} (ng·h/mL)	5963	11900	8,13	17,5	5555	7903
MRT _{0–last} (h)	0,32	0,38	0,15	0,21	10,31	8,30
MRT _{0–inf} (h)	0,33	0,39	0,24	0,26	24,01	18,02

PK de gemcitabina en mono cynomolgus macho

Parámetros PK	Gemcitabina (2,65 mg/kg)	dFdU
C ₀ (ng/mL)	16950	

Cmax (ng/mL)		1973
Tmax (h)		0,09
t _{1/2} (h)	0,02	5,89
Vd _{ss} (L/kg)	0,221	
Cl (mL/min/kg)	323	
AUC _{0-last} (ng,h/mL)	154	7703
AUC _{0-inf} (ng,h/mL)	154	8837
MRT _{0-last} (h)	0,01	6,41
MRT _{0-inf} (h)	0,01	9,35

Basado en la relación de valores Cmax de gemcitabina/Int 1–4, gemcitabina libre al 0,09% en plasma que indica una baja exposición sistémica, la gemcitabina tiene una vida media de 0,02 h en el mono y se inactiva a dFdU mientras que Int 1–4 tiene una vida media ~50 veces más larga y mayor estabilidad. El volumen de distribución de gemcitabina VD_{ss} = 0,221 L/kg es comparable a Int 1–4. VD_{ss} = 0,287 L/kg en dosis equimolares de 2,65 mg/kg y 5 mg/kg en el mono, lo que significa que la distribución de agua en plasma versus todo el cuerpo de Int 1–4 y el fármaco son similares. Los parámetros de PK Int 1–4 en estudios de PK de plasma de mono se comparan favorablemente con el medicamento libre gemcitabina pero Int 1–4 exhibe una estabilidad metabólica mejorada.

h) Compuesto 1 y PK de plasma de gemcitabina en el mono cynomolgus macho

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad del Compuesto 1 con Int 1–4 y en plasma después de una administración de infusión intravenosa única del Compuesto 1 a 5 mg/kg y 10 mg/kg con gemcitabina equimolar a 2,28 mg/kg en monos cynomologus macho.

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C₀, CL, Vd_{ss}, C_{max}, t_{max}, t_{1/2}, AUC_(0-t), AUC_(0-inf), MRT_(0-t), MRT_(0-inf) para el Compuesto 1 e Int 1–4 con gemcitabina.

Compuest o	Especie	# de animale	Dosi s	Formulació n	Ví a	Punto de	Analitos
---------------	---------	-----------------	-----------	-----------------	---------	-------------	----------

		s				tiempo	
Compuesto 1	mono Cynomolgus macho	1	5 mg/kg & 10 mg/kg	50% de PEG400 (super- refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU
Gemcitabina	mono Cynomolgus macho	1	2,28 mg/kg	PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Gemcitabina dFdU

Comparación del Compuesto 1 versus Int 1–4 en plasma de mono

Parámetros PK	Compuesto 1	Int 1–4 (del Compuesto 1)	Gemcitabina (del Compuesto 1)	dFdU (del Compuesto 1)	Gemcitabina	dFdU (de gemcitabina)
	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	5 mg/kg	2,28 mg/kg	2,28 mg/kg
C_0 (ng/mL)	138667				13380	
C_{max} (ng/mL)		31500	28,6	321		2153
T_{max} (h)			0,14	0,39		0,04
$t_{1/2}$ (h)	0,01	0,76	0,13	24,00	0,02	12,90

Vdss(L/kg)	0,0357				0,231	
Cl (mL/min/kg)	46,5				247	
AUC _{0-last} (ng,h/mL)	1833	4383	7,85	3397	164	12467
AUC _{0-inf} (ng,h/mL)	0,01	4397	7,00	8767	165	17600
MRT _{0-last} (h)	0,01	0,36	0,19	8,98	0,02	8,21
MRT _{0-inf} (h)	0,01	0,37	0,23	34,42	0,02	18,06

El compuesto 1 tiene una vida media plasmática de 0,01 h y se convierte en Int 1–4 probablemente por las enzimas fosfatasa. El compuesto 1 es, por lo tanto, un profármaco soluble de Int 1–4 y será útil para la administración iv en la clínica en PBS de manera similar a la sal HCl de gemcitabina. Según la proporción de los valores Cmax de gemcitabina/Int 1–4, la gemcitabina libre al 0,09% está en el plasma con baja exposición sistémica. La gemcitabina tiene una vida media corta de 0,02 h en el mono y se inactiva a dFdU. El alto volumen de distribución para el compuesto 1 de VDss = 0,0357 L/kg es 10 veces menor que Int 1–4. Sin desear limitarse a la teoría, esta observación es consistente con un profármaco hidrofílico cargado que permanece en el plasma mientras Int 1–4 distribuye más en el agua corporal.

Los parámetros PK para el compuesto 1 y el metabolito Int 1–4 son consistentes con la conversión de profármaco/fármaco.

i) Farmacocinética comparativa de Int 1–4 versus gemcitabina en plasma de rata

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int 1–4 versus gemcitabina “libre” en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 10 mg/kg y gemcitabina a 4,71 mg/kg en ratas Sprague–Dawley.

Mediciones PK: comparar los parámetros PK PK C₀, CL, Vdss, C_{max}, t_{max}, t_½, AUC_(0-t), AUC_(0-inf), MRT_(0-t), MRT_(0-inf) para Int 1–4 y gemcitabina.

Compuest	Especie	# de	Dosi	Formulació	Ví	Punto	Analitos
----------	---------	------	------	------------	----	-------	----------

o		animale s	s	n	a	de tiemp o	
Int 1–4	ratas Sprague –Dawley	3	10,0 mg/k g	50% de PEG400 (super– refinado), 50% de D5W	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Int 1–4 Gemcitabin a dFdU
Gemcitabin a	Sprague –Dawley Rats	3	4,71 mg/k g	PBS	iv	1,5, 3, 5, 10, 20, 30, 45 min, 1 hr, 4 hr, 8 hr	Gemcitabin a dFdU

La gemcitabina tiene una vida media plasmática mucho más larga ($t_{1/2}$) en ratas, 3 veces más que en ratones (Figura 10a):

- plasma de rata $t_{1/2}$ ~3,3 h
- 5 ➤ plasma de ratón $t_{1/2}$ ~0,9 h

Farmacocinética de gemcitabina en la rata Sprague–Dawley

Parámetros PK	Gemcitabina (4,47 mg/kg)	dFdU
C_0 (ng/mL)	8410	—
C_{max} (ng/mL)	—	222
T_{max} (h)	—	8,00
$T_{1/2}$ (h)	3,26	ND
Vd_{ss} (L/kg)	1,21	—
Cl (mL/min/kg)	4,36	—

AUC_{0-last} (ng.h/mL)	14733	1085
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	18033	ND
MRT_{0-last} (h)	2,82	5,25
MRT_{0-inf} (h)	4,63	ND
AUC_{0-inf}/AUC_{0-last} (%)	122	ND

– = Sin muestra; ND = no determinado

Int 1–4 farmacocinética en la rata Sprague–Dawley

Parámetros PK	Int 1–4 (10,0 mg/kg)	Gemcitabina	dFdU
C_0 (ng/mL)	29400	—	—
C_{max} (ng/mL)	—	636	66,5
T_{max} (h)	—	0,111	8,00
$T_{1/2}$ (h)	0,319	9,43	ND
Vd_{ss} (L/kg)	0,905	—	—
Cl (mL/min/kg)	82,3	—	—
AUC_{0-last} (ng.h/mL)	1990	2763	288
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	2010	6000	ND
MRT_{0-last} (h)	0,171	3,38	5,55
MRT_{0-inf} (h)	0,185	13,8	ND
AUC_{0-inf}/AUC_{0-last} (%)	101	235	ND

5

Int 1–4 es inestable en la rata debido a los valores más altos de C_{max} y AUC para la gemcitabina “libre” en el plasma.

➤ gemcitabina en plasma de rata $t_{1/2}$ ~9,43 h

10 j) Farmacocinética de plasma de perro Int 1–4

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int 1–4 en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 10 mg/kg y 20 mg/kg en el perro Beagle macho.

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, V_{dss} , C_{max} , t_{max} , $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$,

5 $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para Int 1–4 a 10 y 20 mg/kg.

Compuesto	Especie	# de animales	Dosis	Formulación	Vía	Punto de tiempo	Analitos
Int 1–4	Perro Beagle	3	9,7 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	3,3, 8,3, 25, 50 min, 1 hr, 2hr, 4hr, 8hr, 24hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU
Int 1–4	Perro Beagle	3	18,3 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	3,3, 8,3, 25, 50 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 24hr	Int 1–4 Gemcitabina dFdU

Parámetros int 1–4 PK en perro Beagle macho

Parámetros PK	Int 1–4		Gemcitabina		dFdU	
	10 mg/kg	20 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
C_0 (ng/mL)	60533	90933				
C_{max} (ng/mL)				2707		2873

			1660		1173	
$t_{\max}$ (h)			0,75	0,67	3,33	2,00
$t_{1/2}$ (h)	0,54	0,52	3,10	3,55	10,0	10,53
Vd_{ss} (L/kg)	0,504	0,58				
Cl (mL/min/kg)	35,2	43,3				
AUC_{0-last} (ng·h/mL)	4733	7933	6160	7687	13167	31267
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	4743	7940	6183	7880	14300	40233
MRT_{0-last} (h)	0,23	0,22	3,47	2,69	9,20	9,27
MRT_{0-inf} (h)	0,24	0,23	3,56	3,28	15,33	15,97

k) PK de plasma de perro comparativo de Int 1–4 versus gemcitabina

Objetivos: comparar la farmacocinética plasmática y la estabilidad de Int–4 en plasma después de la administración de infusión intravenosa única de Int 1–4 a 5 mg/kg y 10

5 mg/kg versus gemcitabina a 5 mg/kg en el perro Beagle macho

Mediciones PK: comparar los parámetros PK C_0 , CL, Vd_{ss} , $C_{\max}$, $t_{\max}$, $t_{1/2}$, $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(0-inf)}$, $MRT_{(0-t)}$, $MRT_{(0-inf)}$ para Int 1–4 a 5 y 10 mg/kg versus gemcitabina a 5 mg/kg

Compuesto	Especie	# de animales	Dosis	Formulación	Vía	Punto de tiempo	Analitos
Int 1–4	Perro Beagle	3	4,88 mg/kg	50% de PEG400 (super-refinado), 50% de D5W	iv	1,7, 3,3, 8,3, 16,7, 33,3, 50 min, 0,75 hr, 1 hr, 2hr,	Int 1–4 Gemcitabina dFdU

						4hr, 8hr, 24hr	
Int 1–4	Perro Beagle	3	9,50 mg/kg	50% de PEG400 (super– refinado), 50% de D5W	iv	Como arriba	Int 1–4 Gemcitabin a dFdU
Gemcitabin a	Perro Beagle	3	4,88 mg/kg	PBS	iv	Como arriba	Gemcitabin a dFdU

Parámetros int 1–4 PK en perro Beagle macho

Parámetros PK	Int 1–4		Gemcitabina		dFdU	
	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg
C_0 (ng/mL)	40033	90933				
C_{max} (ng/mL)	30533		872	1690	715	936
t_{max} (h)			0,39	0,39	4,00	2,00
$t_{1/2}$ (h)	0,25	0,52	2,01	1,60	11,79	8,40
Vd_{ss} (L/kg)	0,23	0,58				
Cl (mL/min/kg)	30,8	43,3				
AUC_{0-last} (ng·h/mL)	2697	7933	2333	4140	9863	11700
AUC_{0-inf} (ng·h/mL)	2733	7940	2387	4290	13743	13800
MRT_{0-last} (h)	0,11	0,22	2,48	2,16	9,89	8,94
MRT_{0-inf} (h)	0,12	0,23	2,70	2,45	18,22	12,99

5 Farmacocinética de gemcitabina en perro Beagle macho

Parámetros PK	Gemcitabina (5,29 mg/kg)	dFdU
C_0 (ng/mL)	11480	
Cmax (ng/mL)	8620	1813
Tmax (h)		3,00
$t_{1/2}$ (h)	2,04	8,55
Vd_{ss} (L/kg)	1,61	
Cl (mL/min/kg)	11,0	
AUC_{0-last} (ng,h/mL)	8230	20133
AUC_{0-inf} (ng,h/mL)	8600	23967
MRT_{0-last} (h)	2,19	8,71
MRT_{0-inf} (h)	2,50	13,31

Ejemplo 7

a) Estabilidad metabólica de Int 1–4 y Compuesto 1 en plasma humano, de rata y de ratón

- 5 Valores de vida media de los compuestos de prueba en el experimento de estabilidad del plasma humano

Método: El ensayo se realizó en placas de microtitulación de 96 pocillos. Los compuestos se incubaron en réplicas ($n = 2$) durante 0, 5, 15, 30 y 45 minutos a 37 °C.

- Las mezclas de reacción (20 μ L) contenían una concentración final de compuesto de prueba 3 μ M en plasma humano. Eucatropina incluida como control positivo para verificar el rendimiento del ensayo. Regresión lineal del gráfico semilogarítmico del % restante de compuestos frente al tiempo utilizado para determinar los valores de vida media $t_{1/2}$. Se encontró que Int 1–4 es estable en plasma humano en base a mediciones repetidas.

15

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)		
	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE

Eucotropina	-0,045910	±	0,003277	15,1	±	1,1
Int 1-4	0,001033	±	0,001249	-670,9*	±	811,1

* El valor negativo indica que el compuesto es estable

Valores de vida media de los compuestos de prueba en el experimento de estabilidad de plasma de ratón CD-1

- 5 **Método:** El ensayo se realizó en placas de microtitulación de 96 pocillos. Los compuestos se incubaron en réplicas (n = 2) durante 0, 5, 15, 30 y 45 minutos a 37 °C. Las mezclas de reacción (20 µL) contenían una concentración final de compuesto de prueba 3 µM en plasma de ratón CD-1 reciente. Eucotropina incluida como control positivo para verificar el rendimiento del ensayo. Regresión lineal del gráfico semilogarítmico del % restante de compuestos frente al tiempo utilizado para determinar los valores de vida media $t_{1/2}$. Int 1-4 fue estable en plasma de ratón CD-1 con $t_{1/2} \sim 13$ h.

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)		
	Media	±	SE	Media	±	SE
Eucotropina	-0,030840	±	0,003016	22,5	±	2,2
Int 1-4	-0,000906	±	0,000706	765,1	±	596,5

- 15 Valores de vida media de los compuestos de prueba en el experimento de estabilidad de plasma de rata

- Método:** El ensayo se realizó en placas de microtitulación de 96 pocillos. Los compuestos se incubaron en réplicas (n = 2) durante 0, 5, 15, 30 y 45 minutos a 37 °C. Las mezclas de reacción (20 µL) contenían una concentración final de compuesto de prueba 3 µM en plasma fresco de rata Sprague Dawley. La eucotropina es un control positivo para verificar el rendimiento del ensayo. Regresión lineal del gráfico semilogarítmico del % restante de compuestos frente al tiempo utilizado para determinar los valores de vida media $t_{1/2}$. Se encontró que Int 1-4 era menos estable en plasma de rata Sprague Dawley con $t_{1/2} \sim 1,2$ h.

25

Compuesto	Pendiente	$t_{1/2}$ (min)
-----------	-----------	-----------------

	Media	±	SE	Media	±	SE
Eucatropina	-0,007881	±	0,001120	87,9	±	12,5
Int 1-4	-0,009305	±	0,001423	74,5	±	11,4

Valores de vida media de los compuestos de prueba en el experimento de estabilidad de plasma de ratón

Método: El ensayo se realizó en placas de microtitulación de 96 pocillos. Los compuestos se incubaron en réplicas (n = 2) durante 0, 5, 15, 30 y 45 minutos a 37 °C. Las mezclas de reacción (20 µL) contenían una concentración final de compuesto de prueba 3 µM en plasma fresco de rata Sprague Dawley. La eucatropina es un control positivo para verificar el rendimiento del ensayo. Regresión lineal del gráfico semilogarítmico del % restante de compuestos frente al tiempo utilizado para determinar los valores de vida media $t_{1/2}$. El compuesto 1, la sal de éster fosfato TEA de Int 1-4, se encontró estable en plasma de ratón.

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)		
	Media	±	SE	Media	±	SE
Eucatropina	-0,030840	±	0,003016	22,5	±	2,2
Compuesto 1	0,004130	±	0,000752	-167,8*	±	30,6

* El valor negativo indica que el compuesto es estable

Ejemplo 8

Vidas medias y valores de depuración intrínseca de Int 1-4 en el experimento de estabilidad del hígado humano S9

Método: las fracciones de tejido del hígado S9 se usaron para la evaluación in vitro de la estabilidad metabólica de los compuestos de prueba mediante la oxidación de fase I mediada por el citocromo P450 (CYP450), la glucuronidación de fase II mediada por UDP-glucuronosiltransferasa (UGT) y el metabolismo a través de otras vías como la aldehído oxidasa (AO). El valor de clearance intrínseca para Int 1-4 fue de 2,22 uL/min/mg de proteína en el hígado humano S9, algo menos de ~4 uL/min/mg de proteína se consideró una tasa de clearance baja.

Compuesto	Pendiente	$t_{1/2}$ (min)	CLint (mL/min/mg de
-----------	-----------	-----------------	---------------------

							proteína)		
	Media	±	SE	Media	±	SE	Media	±	SE
Escopoletina	– 0,08448 0	±	0,00230 1	8,2	±	0,2	0,03379 2	±	0,00092 0
Verapamil	– 0,04070 0	±	0,00173 7	17,0	±	0,7	0,01628 0	±	0,00069 5
Int 1–4	– 0,00554 5	±	0,00071 7	125, 0	±	16, 2	0,00221 8	±	0,00028 7

Valores de vida media y clearance intrínseca de Int 1–4 en el experimento de estabilidad de hígado de ratón S9

- Método: las fracciones de tejido del hígado S9 se usaron para la evaluación in vitro de la estabilidad metabólica de los compuestos de prueba mediante la oxidación de fase I mediada por el citocromo P450 (CYP450), la glucuronidación de fase II mediada por UDP–glucuronosiltransferasa (UGT) y el metabolismo a través de otras vías como la aldehído oxidasa (AO). El valor de clearance intrínseca para Int 1–4 fue 1,27 µl/min/mg de proteína en el hígado de ratón S9, cualquier cantidad menor que ~4 µl/min/mg de proteína se considera una tasa de clearance baja. CLint para Int 1–4 en el hígado de ratón S9 es consistente con los estudios in vivo de PK de hígado de ratón.

Compuesto	Pendiente			t _½ (min)			CLint (mL/min/mg de proteína)		
	Media	±	SE	Media	±	SE	Media	±	SE
Escopoletina	– 0,06127 0	±	0,00652 5	11,3	±	1,2	0,02450 8	±	0,00261 0
Verapamil	– 0,02052 0	±	0,00240 3	33,8	±	4,0	0,00820 8	±	0,00096 1
Int 1–4	– 0,00317	±	0,00041 3	218, 6	±	28, 5	0,00126 8	±	0,00016 5

	0							
--	---	--	--	--	--	--	--	--

Vidas medias y valores de clearance intrínsecas de Int 1–4 en el experimento de estabilidad S9 del hígado de mono

- 5 Método: las fracciones de tejido del hígado S9 se usaron para la evaluación in vitro de la estabilidad metabólica de los compuestos de prueba mediante la oxidación de fase I mediada por el citocromo P450 (CYP450), la glucuronidación de fase II mediada por UDP–glucuronosiltransferasa (UGT) y el metabolismo a través de otras vías como la aldehído oxidasa (AO). El valor de clearance intrínseca para Int 1–4 fue de 1,55
- 10 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína en el hígado de ratón S9, cualquier cantidad inferior a $\sim 4 \mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína se considera una tasa de clearance baja. CLint bajo para Int 1–4 en hígado de mono S9 es consistente con datos de PK de plasma de mono in vivo

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)			CLint (mL/min/mg de proteína)		
	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE
Escopoletina	– 0.13910 0	$\pm$	0,01406 0	5,0	$\pm$	0,5	0,05564 0	$\pm$	0,00562 4
Verapamil	– 0.17520 0	$\pm$	0,01415 0	4,0	$\pm$	0,3	0,07008 0	$\pm$	0,00566 0
Int 1–4	– 0,03881 0	$\pm$	0,00208 9	17,9	$\pm$	1,0	0,01552 4	$\pm$	0,00083 6

Valores de vida media y clearance intrínseca del experimento de estabilidad del hígado S9 en perros

- 15 Método: las fracciones de tejido del hígado S9 se usaron para la evaluación in vitro de la estabilidad metabólica de los compuestos de prueba mediante la oxidación de fase I mediada por el citocromo P450 (CYP450), la glucuronidación de fase II mediada por UDP–glucuronosiltransferasa (UGT) y el metabolismo a través de otras vías como la aldehído oxidasa (AO). El valor de clearance intrínseca para Int 1–4 fue de 2,2
- 20 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína en el hígado de ratón S9, cualquier cantidad inferior a ~ 4

$\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína se considera una tasa de clearance baja. CLint para Int 1–4 en el hígado de perro S9 es similar al del hígado humano S9.

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)			CLint (mL/min/mg de proteína)		
	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE
Escopoletina	– 0,038920	$\pm$	0,001665	17,8	$\pm$	0,8	0,015568	$\pm$	0,000666
Verapamil	– 0,024920	$\pm$	0,000666	27,8	$\pm$	0,7	0,009968	$\pm$	0,000267
Int 1–4	– 0,005558	$\pm$	0,000749	124,7	$\pm$	16,8	0,002223	$\pm$	0,000299

Valores de vida media y clearance intrínseca de Int 1–4 en experimento de estabilidad de hígado S9 de rata

- 5 Las fracciones de tejido del hígado S9 se usaron para la evaluación in vitro de la estabilidad metabólica de los compuestos de prueba mediante la oxidación de fase I mediada por citocromo P450 (CYP450), la glucuronidación de fase II mediada por UDP–glucuronosiltransferasa (UGT) y el metabolismo a través de otras vías como la
- 10 aldehído oxidasa (AO). El valor de clearance intrínseca para Int 1–4 fue de 14,3 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína en el hígado de rata S9 y se considera una tasa de clearance moderadamente alta.

Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)			CLint (mL/min/mg de proteína)		
	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE	Media	$\pm$	SE
Escopoletina	– 0,031340	$\pm$	0,001980	22,1	$\pm$	1,4	0,012536	$\pm$	0,000792
Verapamil	– 0,020080	$\pm$	0,001749	34,5	$\pm$	3,0	0,008032	$\pm$	0,000700
Int 1–4	– 0,035790	$\pm$	0,001471	19,4	$\pm$	0,8	0,014316	$\pm$	0,000588

- Bandas de clasificación que se pueden usar para clasificar compuestos en una
- 15 clearance baja o alta a partir de los datos de estabilidad de S9 humanos:

Categoría de clearance	Clearance intrínseca de S9 ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)
------------------------	--

	Humana
Baja	<4,5
Alta	>24,6

Int 1–4 exhibe valores bajos de clearance intrínseca de S9 Cl_{int} <2,5 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína en humanos, ratones, perros y monos, pero un valor moderadamente alto en la rata Cl_{int} ~14 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína.

- 5 Los valores de clearance intrínseca de S9 entre especies son consistentes con los estudios de estabilidad PK in vivo en plasma/tejido normal para Int 1–4.

Ejemplo 9

Int 1–4 estabilidad metabólica en microsomas hepáticos de humanos, perros, monos, ratas y ratones

10

Int 1–4 Estabilidad microsomal hepática										
Especie	Compuesto restante (% de 0 min)						CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)	SE CL_{int}	$t_{1/2}$ (min)	n
	0 min	5 min	15 min	30 min	45 min	control				
Rat	100	64,7	20,0	1,81	0,13	95,6	297	16,1	4,66	5
Mouse	100	102	78,4	73,6	70,7	93,2	17,1	4,43	81,2	5
Dog	100	97,1	90,8	85,7	80,4	94,5	9,63	0,597	144	5
mono	100	99,5	79,8	61,0	40,5	97,2	40,8	3,23	34,0	5
Human	100	111	94,0	107	99,9	102	0,747	3,98	1850	5
Estabilidad microsomal hepática de gemcitabina										
Humana	100	113	69,1	48,6	22,4	98,1	68,8	8,79	20,1	5

Las bandas de clasificación generalmente se usan para clasificar compuestos en clearance baja, media o alta en microsomas hepáticos:

Categoría de clearance	Clearance intrínseca microsomal hepática ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)				
	Humano	Mono	Perro	Rata	Ratón
Baja	< 8,6	< 12,5	< 5,3	< 13,2	< 8,8
Alta	> 47,0	> 67,8	> 28,9	> 71,9	> 48,0

- 5 Int 1–4 parece ser estable en microsomas hepáticos humanos $\text{CL}_{\text{int}} = 0,75 \text{ mL}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína, Int 1–4 tiene una alta tasa de clearance en microsomas de hígado de rata $\text{CL}_{\text{int}} = 297 \text{ mL}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína

Ejemplo 10

- 10 Int 1–4 estabilidad metabólica en humanos, ratas, ratones, perros, hepatocitos de hígado de mono

Especie	Compuesto	Pendiente			$t_{1/2}$ (min)			CL_{int} ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)		
		media	$\pm$	SE	media	$\pm$	SE	media	$\pm$	SE
Ratón	Naxalona	– 0,01828 0	$\pm$	0,0007 31	37,9	$\pm$	1,5	18,2 8	$\pm$	0,7 3
	Int 1–4	– 0,00665 5	$\pm$	0,0008 10	104,1	$\pm$	12,7	6,66	$\pm$	0,8 1
	gemcitabina	– 0,00051 2	$\pm$	0,0011 11	1352, 5	$\pm$	2932, 4	0,51	$\pm$	1,1 1
Rat	Naxalona	– 0,01991 0	$\pm$	0,0012 56	34,8	$\pm$	2,2	19,9 1	$\pm$	1,2 6
	Int 1–4	– 0,00770	$\pm$	0,0017 94	90,0	$\pm$	21,0	7,70	$\pm$	1,7 9

		1								
	gemcitabina	0,000550	±	0,001504	– 1260,9*	±	3450,5	– 0,55	±	1,50

Especie	Compuesto	Pendiente			t _{1/2} (min)			CLint (μL/min/mg de proteína)		
		mean	±	SE	mean	±	SE	mean	±	SE
Dog	Naxalona	– 0,013020	±	0,001119	53,2	±	4,6	13,02	±	1,12
	Int 1–4	– 0,004330	±	0,001287	160,0	±	47,6	4,33	±	1,29
	gemcitabina	0,000126	±	0,001156	– 5486,9*	±	50220,9	– 0,13	±	1,16
mono	Naxalona	– 0,029480	±	0,001002	23,5	±	0,8	29,48	±	1,00
	Int 1–4	– 0,005018	±	0,001425	138,1	±	39,2	5,02	±	1,43
	gemcitabina	0,001817	±	0,001897	– 381,4*	±	398,2	– 1,82	±	1,90
Humana	Naxalona	– 0,013350	±	0,000878	51,9	±	3,4	13,35	±	0,88
	Int 1–4	– 0,003031	±	0,001361	228,6	±	102,7	3,03	±	1,36
	gemcitabina	– 0,006840	±	0,001905	101,3	±	28,2	6,84	±	1,91

* El valor negativo indica que el compuesto es estable

Las bandas de clasificación generalmente se usan para clasificar los compuestos en un clearance baja o alta en los hepatocitos hepáticos:

Categoría de	Clearance intrínseca de hepatocitos (μL/min/mg de
--------------	---

clearance	proteína)				
	Humano	Mono	Perro	Rata	Ratón
Low	<3,5	<5,2	<1,9	<5,1	<3,3
High	>19,0	>28,3	>10,5	>27,5	>17,8

Int 1–4 exhibe valores de clearance intrínseco relativamente bajos Cl_{int} ~3 a 8 $\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ entre especies de hepatocitos, siendo la rata la tasa más alta de clearance y el humano la más baja. La gemcitabina es la estabilidad metabólica en los hepatocitos de rata, es consistente con la larga vida media y la alta exposición en estudios de PK en plasma de rata.

La descripción anterior se ha descrito con cierto detalle a modo de ilustración y ejemplo, con fines de claridad y comprensión. La invención se ha descrito con referencia a diversas realizaciones y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo, debe entenderse que se pueden hacer muchas variaciones y modificaciones mientras permanecen dentro del espíritu y alcance de la invención. Será obvio para un experto en la técnica que los cambios y modificaciones se pueden practicar dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Por lo tanto, debe entenderse que la descripción anterior pretende ser ilustrativa y no restrictiva. Por lo tanto, el alcance de la invención debe determinarse no con referencia a la descripción anterior, sino que debe determinarse con referencia a las siguientes reivindicaciones adjuntas, junto con el alcance completo de equivalentes a los que tienen derecho tales reivindicaciones.