

MODULADORES DE STING (ESTIMULADOR DE GENES DE INTERFERÓN) A
BASE DE CICLOPENTANO

Campo de la Invención

5 Esta invención se relaciona con activadores novedosos de STING (Estimulador de Genes de Interferón) a base de ciclopentano útiles en el tratamiento del crecimiento celular anormal, tal como cáncer en mamíferos. Esta invención también se relaciona con un método para utilizar tales compuestos en
10 el tratamiento del crecimiento celular anormal en mamíferos, especialmente humanos y con composiciones farmacéuticas como agentes anticáncer.

Antecedentes de la Invención

15 El sistema inmune innato es la primera línea de defensa que se inicia mediante receptores de reconocimiento de patrón (PRR) después de la detección de los ligandos a partir de los patógenos, así como patrones moleculares asociados con daño. Se ha identificado un número creciente de estos
20 receptores, los cuales ahora incluyen sensores de ADN de doble hebra y ácidos nucleicos únicos llamados dinucleótidos cíclicos (CDN). La activación de los PRR lleva a la sobrerregulación de

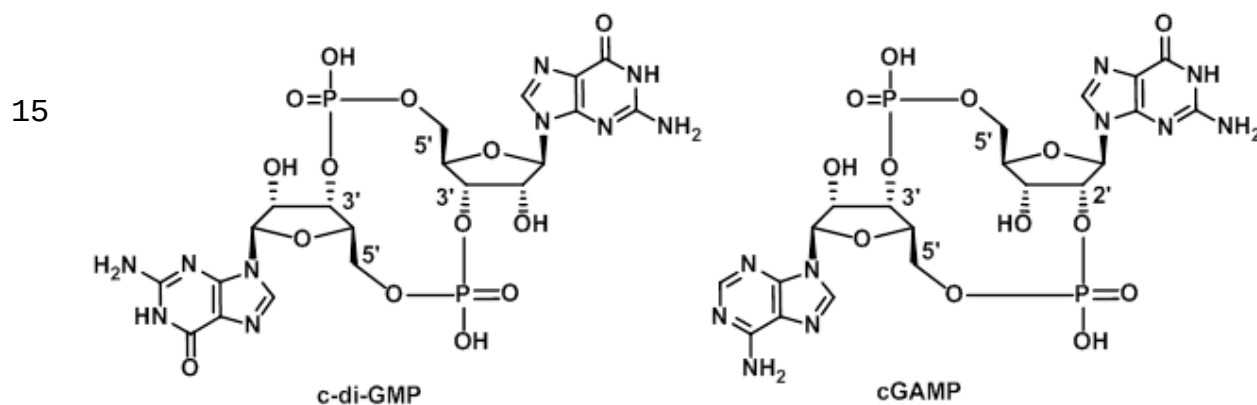
los genes implicados en la respuesta inflamatoria, incluyendo citocinas y quimiocinas proinflamatoria de los interferones de tipo 1 (INF), que suprimen la replicación del patógeno y facilitan la inmunidad adaptativa.

5 La proteína de STING adaptadora, también conocida como TMEM 173, se ha identificado como una molécula de señalización central en la ruta de detección inmune innata en respuesta a los ácidos nucleicos citosólicos. La activación de STING resulta en la sobrerregulación de las rutas de IRF3 y
10 NF κ B llevando a la inducción de INF- β y otras citocinas. STING es crítico para las respuestas al ADN citosólico de los patógenos o del huésped de origen y en respuesta a los CDN, a veces denominados como segundos mensajeros. G.N. Barber, "Sting: infection, inflammation and cancer," *Nat. Rev. Immun.*,
15 2015, **15**, pp. 760.

Los CDN primero se identificaron como mensajeros bacterianos responsables de controlar numerosas respuestas en las células procariotas. Los CDN bacterianos tales como c-di-GMP son moléculas simétricas caracterizadas por dos enlaces
20 fosfodiéster 3',5'. La activación directa de STING por los CDN bacterianos se ha confirmado actualmente a través de cristalografía de rayos X. En consecuencia, los CDN bacterianos

han atraído interés como adyuvantes potenciales de vacunas.

Más recientemente, se ha mostrado que la respuesta al ADN citosólico implica la generación de los CDN endógenos mediante una enzima llamada adenina y guanina cíclica sintasa (cGAS), que produce una molécula de señalización de CDN de mamífero novedosa identificada como monofosfato cíclico de adenina y guanina (cGAMP), que une y activa STING. La interacción de cGAMP con STING también se ha demostrado mediante cristalografía de rayos X. A diferencia de los CDN bacterianos, el cGAMP es una molécula no simétrica caracterizada por sus enlaces fosfodiéster 2',5' y 3',5' mezclados. Similar a los CDN bacterianos, el cGAMP activa STING llevando a la inducción de los INF de tipo 1:



20 El papel de los INF de tipo 1 en respuesta a los patógenos invasores está bien establecido. El IFN α recombinante fue el primer agente terapéutico biológico aprobado y se ha

vuelto una terapia importante en las infecciones virales y de cáncer. Los INF también se conocen por ser moduladores potentes de la respuesta inmune, actuando sobre las células del sistema inmune.

5 Dado su papel para regular diversos procesos biológicos, STING es un objetivo atractivo para la modulación con moléculas pequeñas. Sin embargo, actualmente se han desarrollado o se han ingresado a la clínica pocos activadores STING efectivos.

10

Sumario de la Invención

La administración de un compuesto de moléculas pequeñas que pudiera estimular la respuesta inmune innata, incluyendo la activación de INF de tipo 1 y otras citocinas
15 podría volverse una estrategia importante para el tratamiento y prevención de enfermedades humanas incluyendo infecciones virales y cáncer. Este tipo de estrategia inmunomoduladora tiene el potencial de identificar compuestos que pueden ser útiles no sólo en las enfermedades infecciosas sino también
20 para el cáncer, enfermedades alérgicas y adyuvantes de vacunas.

Se ha mostrado que ciertos compuestos de la invención se unen a STING e inducen INF de tipo 1 y otras citocinas y

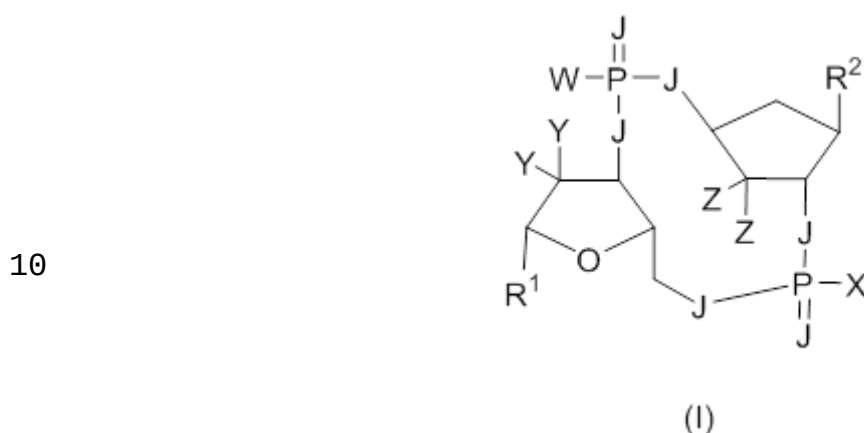
factores coestimuladores en la incubación con células dendríticas de humano (DC) y mononucleocitos de sangre periférica (PBMC). Los compuestos que inducen los INF humanos pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo, el tratamiento de enfermedades alérgicas y otros padecimientos inflamatorios. Ciertos compuestos de la invención pueden unirse a STING, pero actúan como antagonistas y esto podría ser útil en el tratamiento de diversas enfermedades autoinmunes.

10 Se visualiza que el STING orientado con agentes de activación o inhibición puede ser un procedimiento prometedor para tratar enfermedades y padecimientos en los cuales la modulación de la ruta de INF de tipo 1 es benéfica, incluyendo enfermedades inflamatorias, alérgicas y autoinmunes, 15 enfermedades infecciosas, cáncer y como adyuvantes de vacunas.

Cada una de las modalidades de los compuestos sin CDN de la presente invención descritas a continuación puede combinarse con cualquier otra modalidad de los compuestos de la presente invención descrita en la presente sin ser 20 inconsistente con la modalidad con la cual se combine. Además, cada una de las modalidades siguientes describe las visualizaciones de la invención dentro sus sales

farmacéuticamente aceptables del alcance de los compuestos de la invención. En consecuencia, la frase “o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo” está implícita en la descripción de todos los compuestos descritos en la presente.

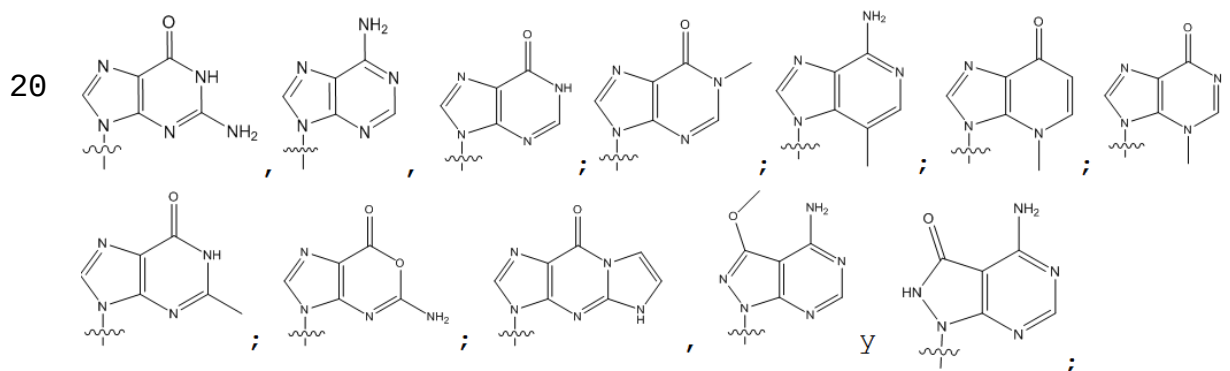
La invención incluye modalidades en donde se proporciona un compuesto de la fórmula (I):



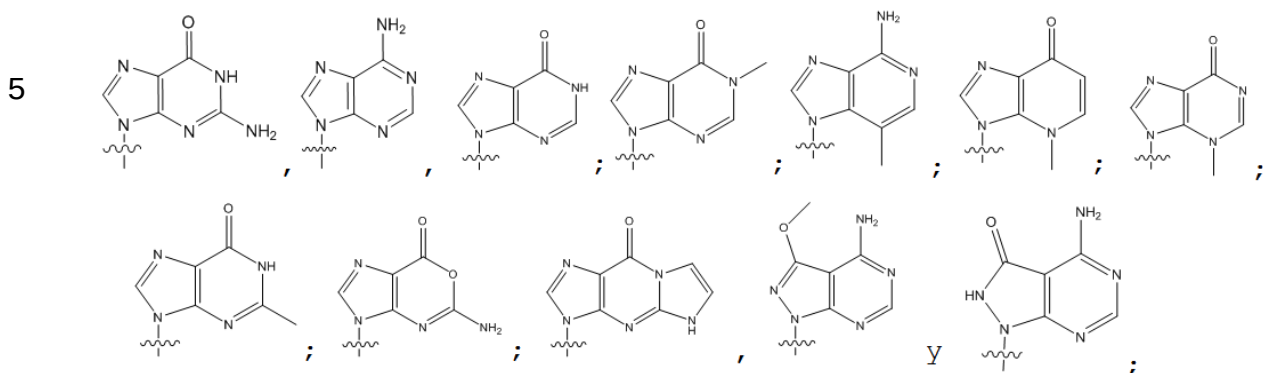
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

15 cada J es independientemente oxígeno (O) o azufre (S);

R¹ se selecciona de:



R² se selecciona de:



10 W es OH, SH, O-M⁺ o S-M⁺, donde M⁺ representa un
contraión catiónico;

X es OH, SH, O-M⁺ o S-M⁺, donde M⁺ representa un
contraión catiónico;

cada Y se selecciona independientemente de hidrógeno,
15 halógeno, alquilo de C₁-C₆, alquilo de C₁-C₆ sustituido, N(R³)₂
y OR⁴ o los dos sustituyentes Y se unen para formar un sistema
de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende 0-1
heteroátomos;

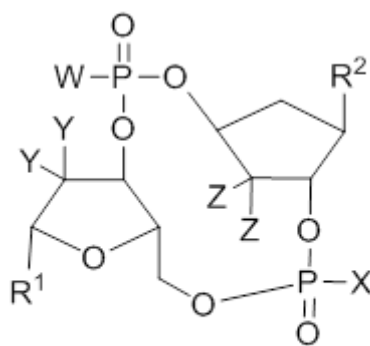
cada Z se selecciona independientemente de hidrógeno,
20 halógeno, alquilo de C₁-C₆, alquilo de C₁-C₆ sustituido, N(R³)₂,
y OR⁴, o los dos sustituyentes Z se unen para formar un sistema
de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende 0-1

heteroátomos; y

R^3 y R^4 son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo de C_1-C_6 .

La invención también incluye modalidades en donde
5 se proporciona un compuesto de la fórmula (II) (que es un subconjunto de la fórmula (I)):

10



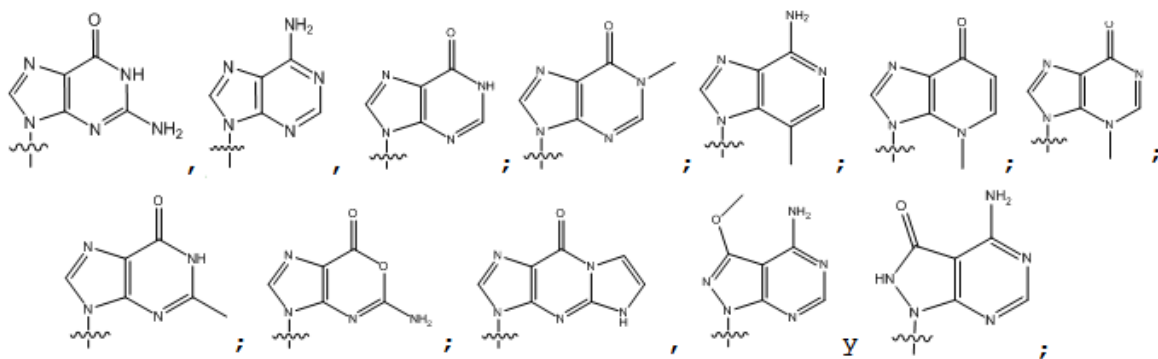
(II)

15 donde

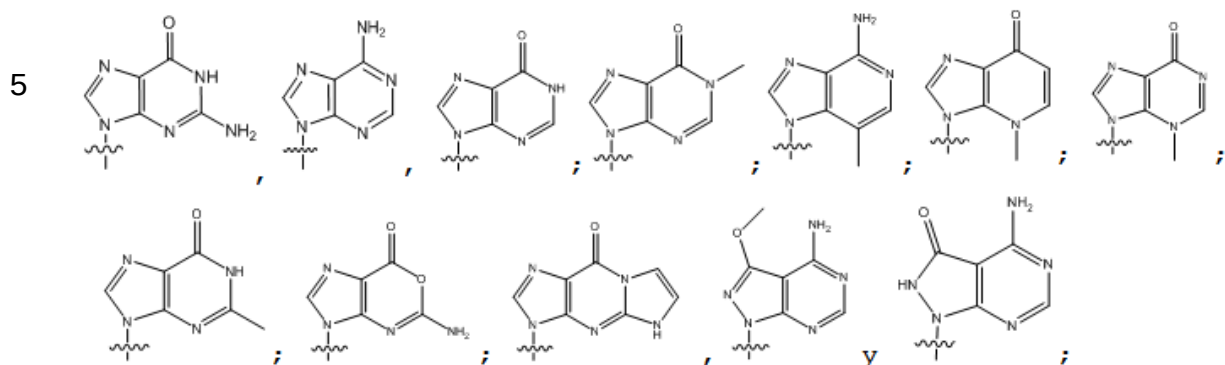
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en

R^1 se selecciona de:

20



R² se selecciona de:



10 W es OH, SH, O-M⁺ o S-M⁺, donde M⁺ representa un
contraión catiónico;

X es OH, SH, O-M⁺ o S-M⁺, donde M⁺ representa un
contraión catiónico;

cada Y se selecciona independientemente de hidrógeno,
15 halógeno, alquilo de C₁-C₆, alquilo de C₁-C₆ sustituido, N(R³)₂,
y OR⁴, o los dos sustituyentes Y se unen para formar un sistema
de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende 0-1
heteroátomos;

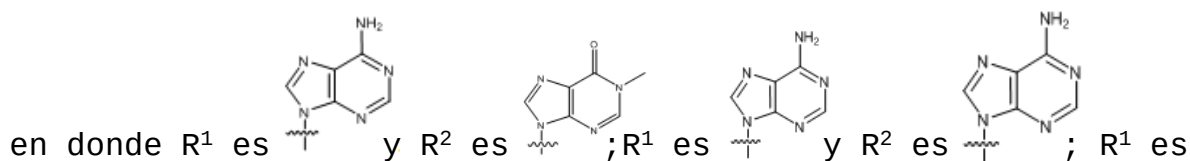
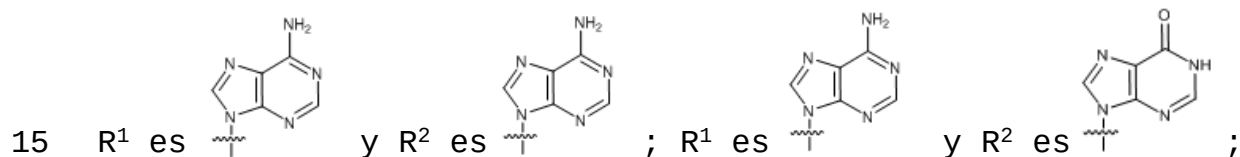
cada Z se selecciona independientemente de hidrógeno,
20 halógeno, alquilo de C₁-C₆, alquilo de C₁-C₆ sustituido, N(R³)₂,
y OR⁴, o los dos sustituyentes Z se unen para formar un sistema
de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende 0-1

heteroátomos; y

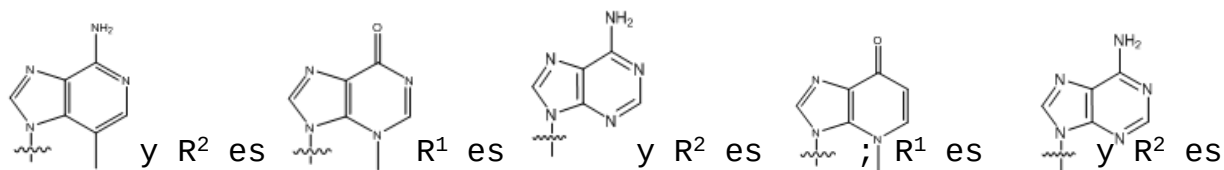
R^3 y R^4 son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo de C_1-C_6 .

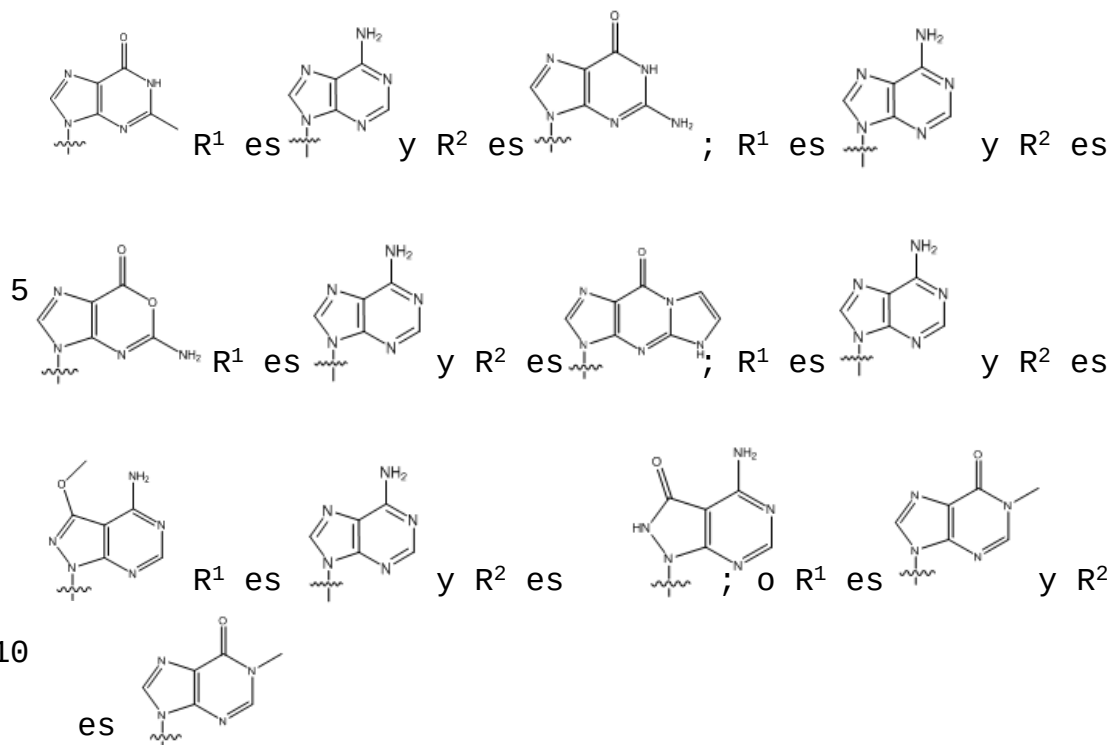
Otras modalidades de la invención incluyen compuestos
 5 de la fórmula (I) y/o fórmula (II) en donde M^+ se selecciona del grupo que consiste de sodio, potasio, calcio, amonio, trietilamonio, trimetilamonio y magnesio. Otros contraiones también son útiles y se incluyen dentro del alcance de la invención. Observe que cada contraión de M^+ puede ser el mismo
 10 o en algunas modalidades pueden ser diferentes entre sí.

Diversas combinaciones de bases R^1 y R^2 se incorporan por la invención. De este modo, en ciertas modalidades



20





Otras bases (R^1 y R^2) y otras combinaciones de bases también se incluyen dentro de la presente invención.

Modalidades adicionales de la invención incluyen aquellas donde uno o ambos Y son halógeno. Esto incluye modalidades donde un Y es hidrógeno y el otro Y es un halógeno. En ciertas de estas modalidades, el halógeno es flúor.

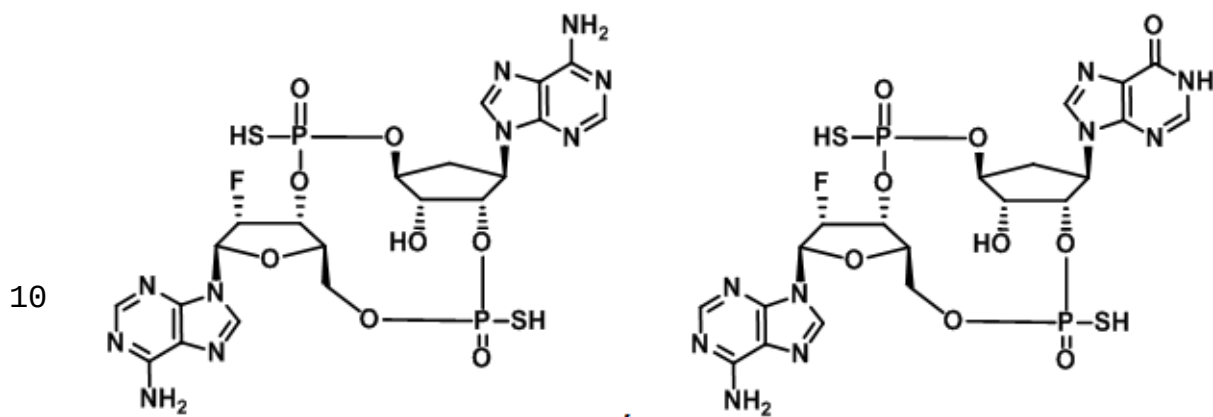
Modalidades adicionales de la invención incluyen aquellas donde uno de Z es hidrógeno y el otro de Z es OR^4 . En ciertas de esas modalidades uno o más R^4 es H (hidrógeno) y de este modo al menos uno de Z es OH.

Modalidades adicionales de la invención incluyen

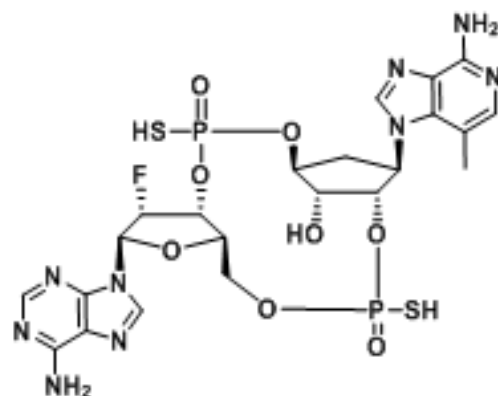
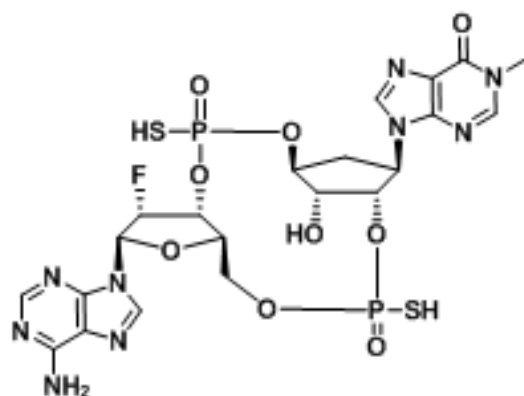
aquellas donde W es -SH y X es -SH.

Modalidades adicionales de la invención incluyen aquellas donde W es -OH y X es -OH.

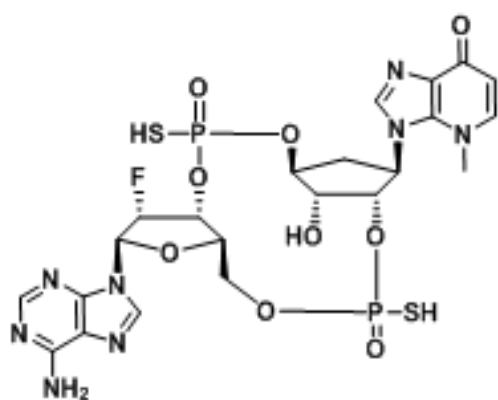
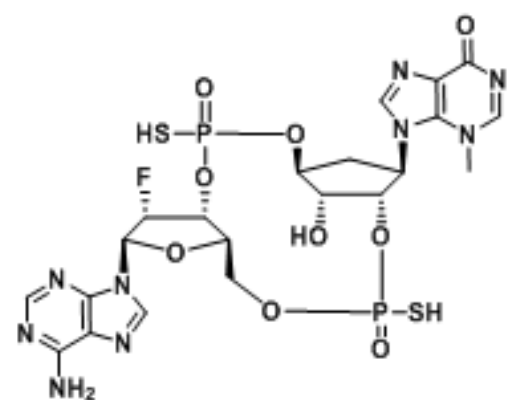
Modalidades adicionales de la invención incluyen un
5 compuesto seleccionado de:



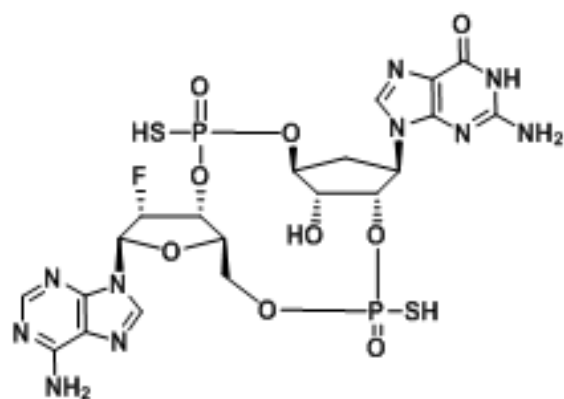
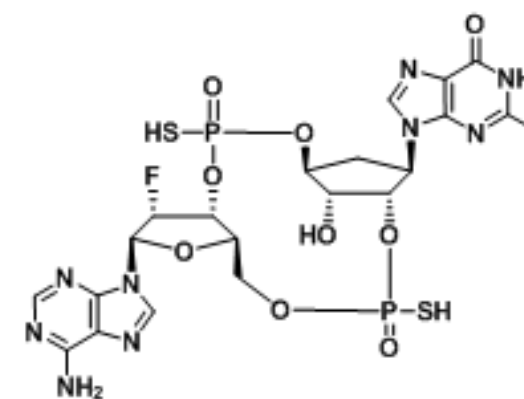
5



10

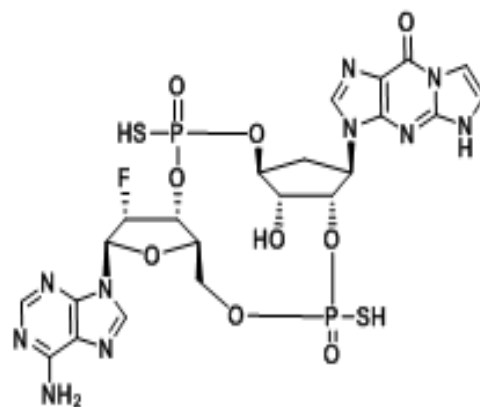
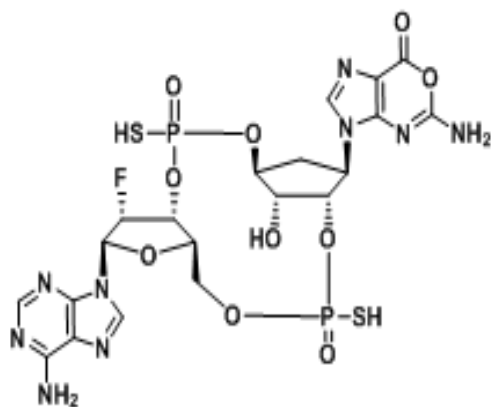


15

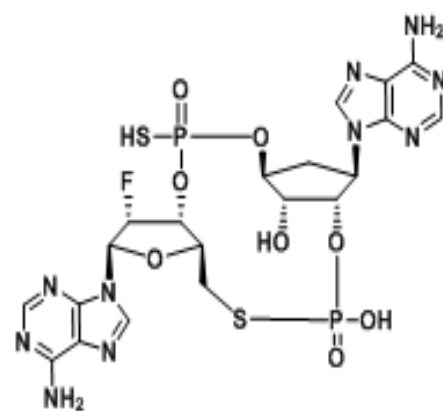
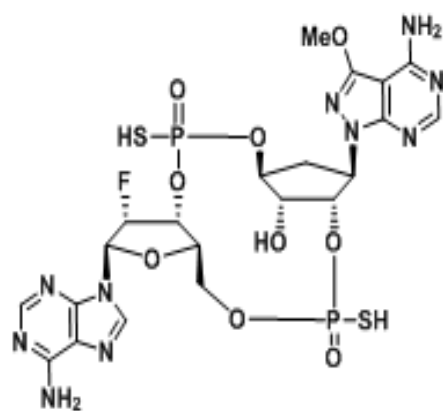


20

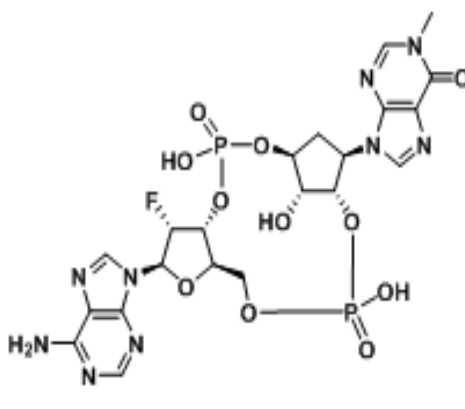
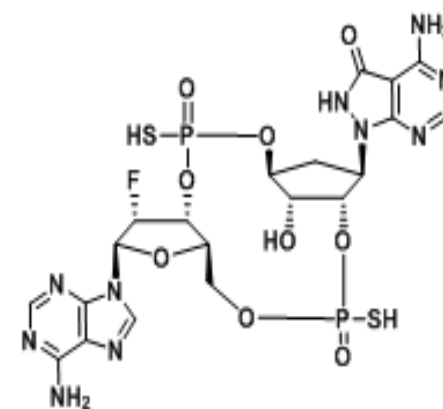
5



10

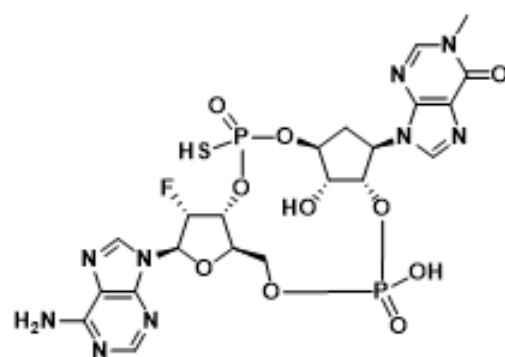
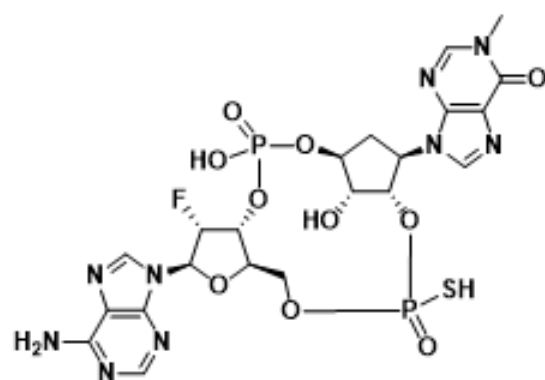


15

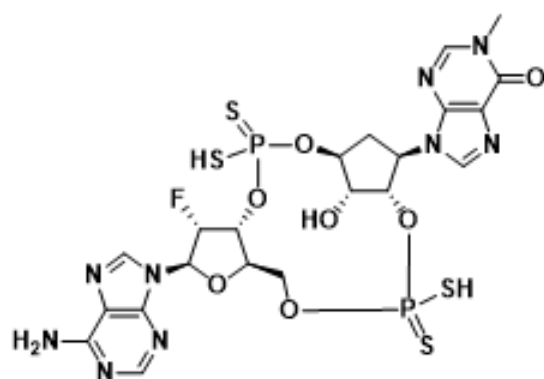
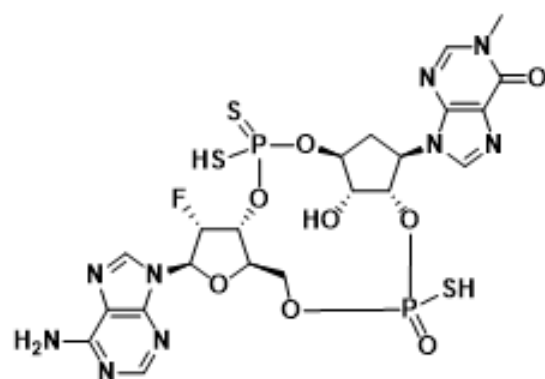


20

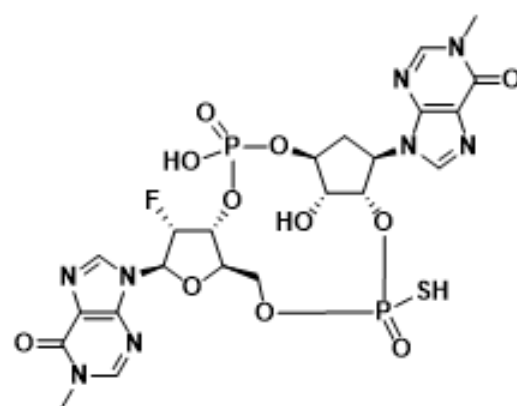
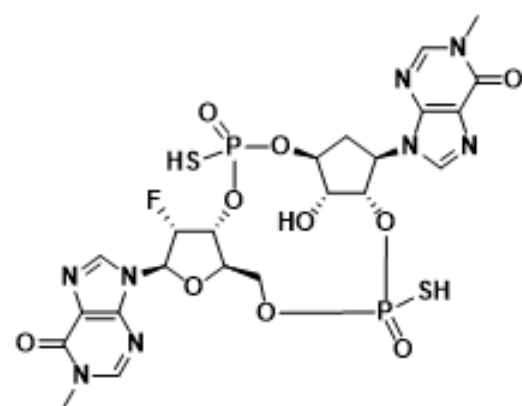
5



10

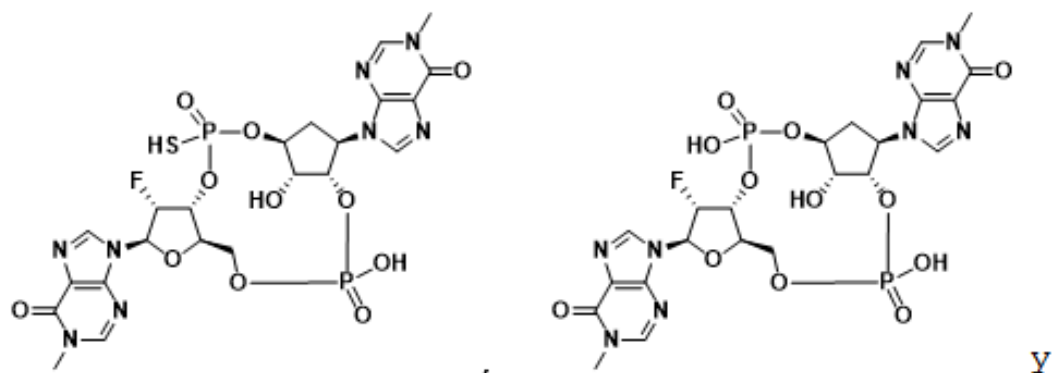


15

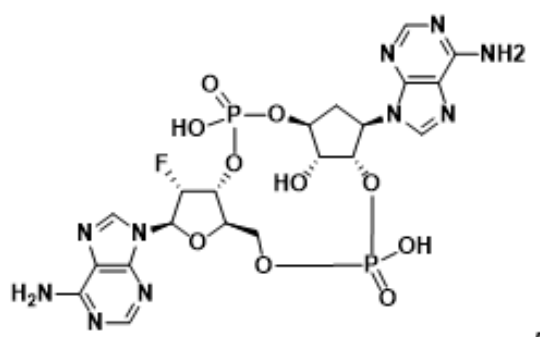


20

5



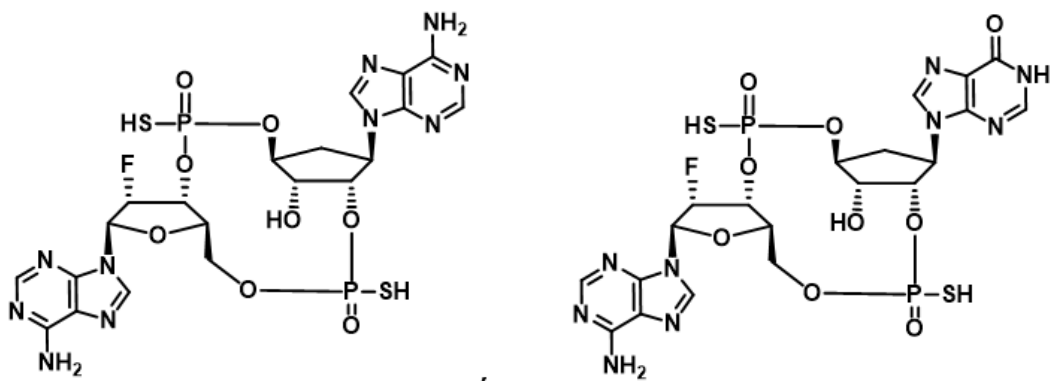
10



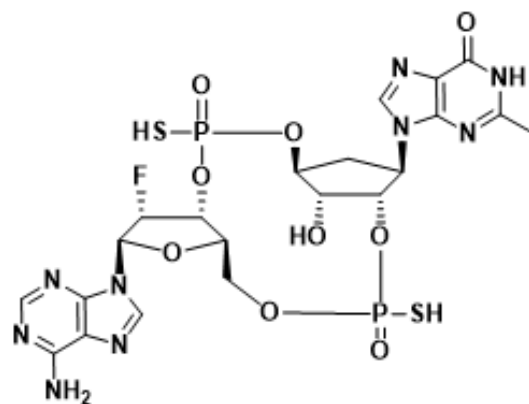
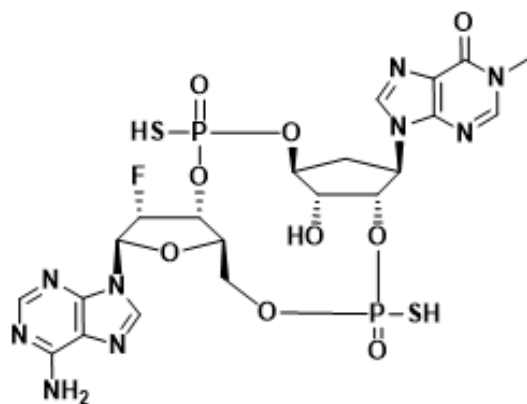
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Modalidades adicionales de la invención incluyen un
15 compuesto seleccionado de:

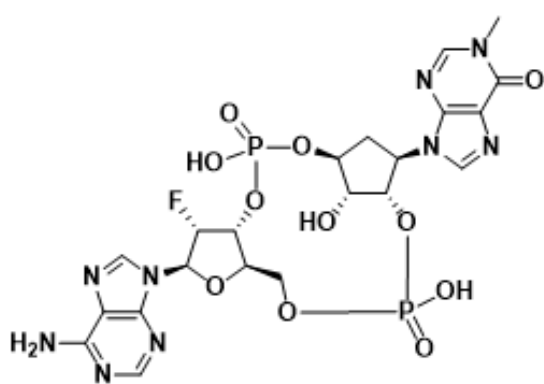
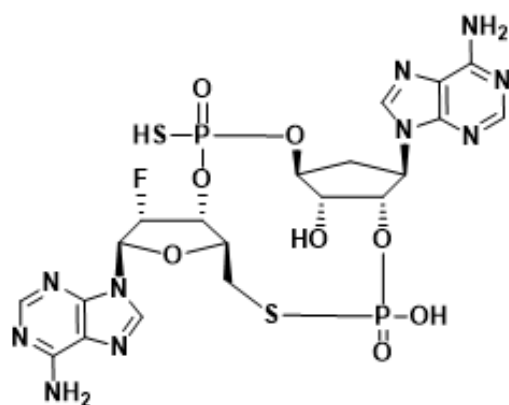
20



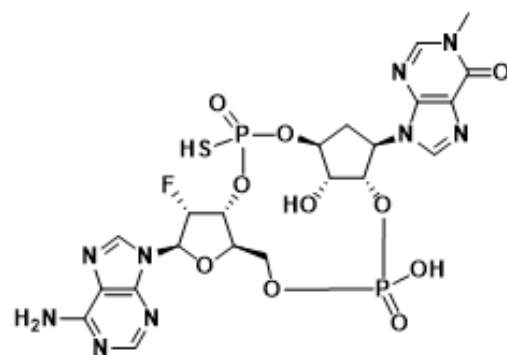
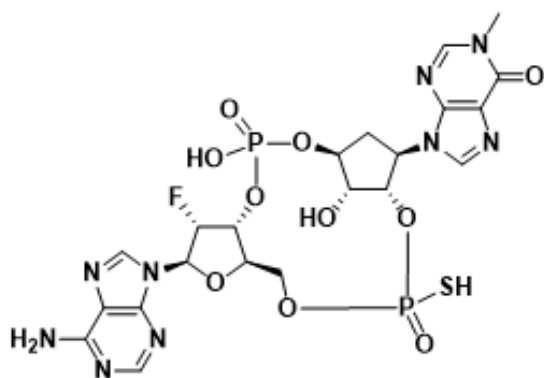
5



10



15



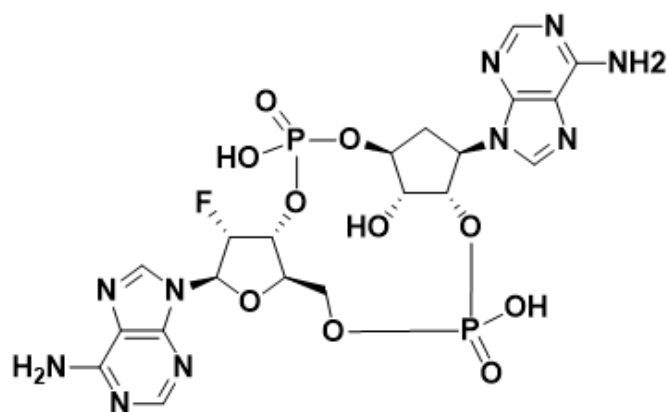
20

LO

20



5

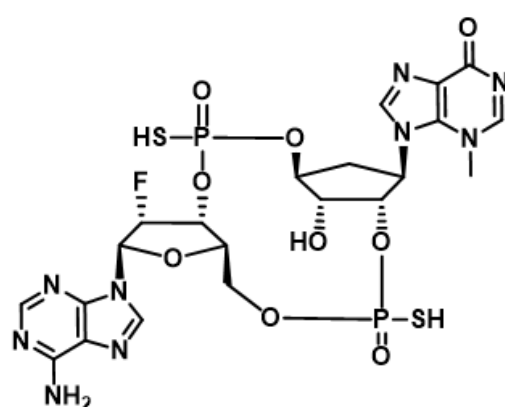
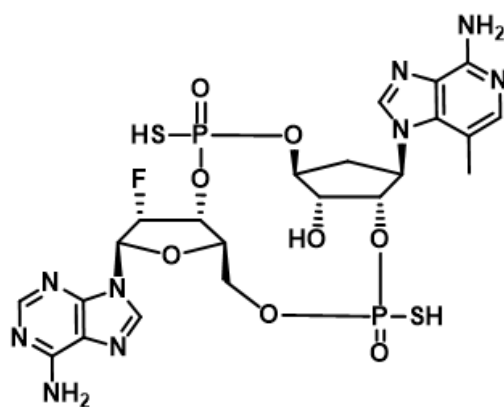


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

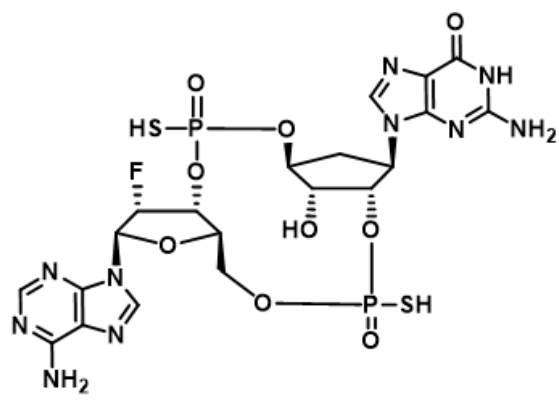
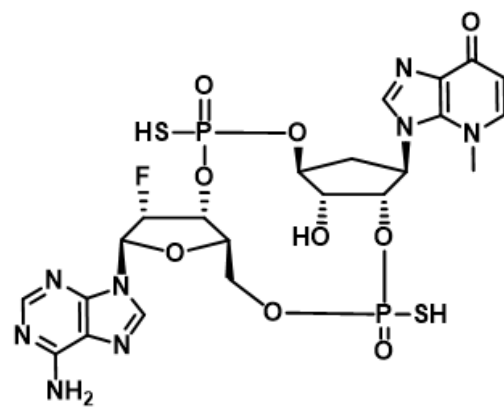
Modalidades adicionales de la invención incluyen un compuesto seleccionado de:

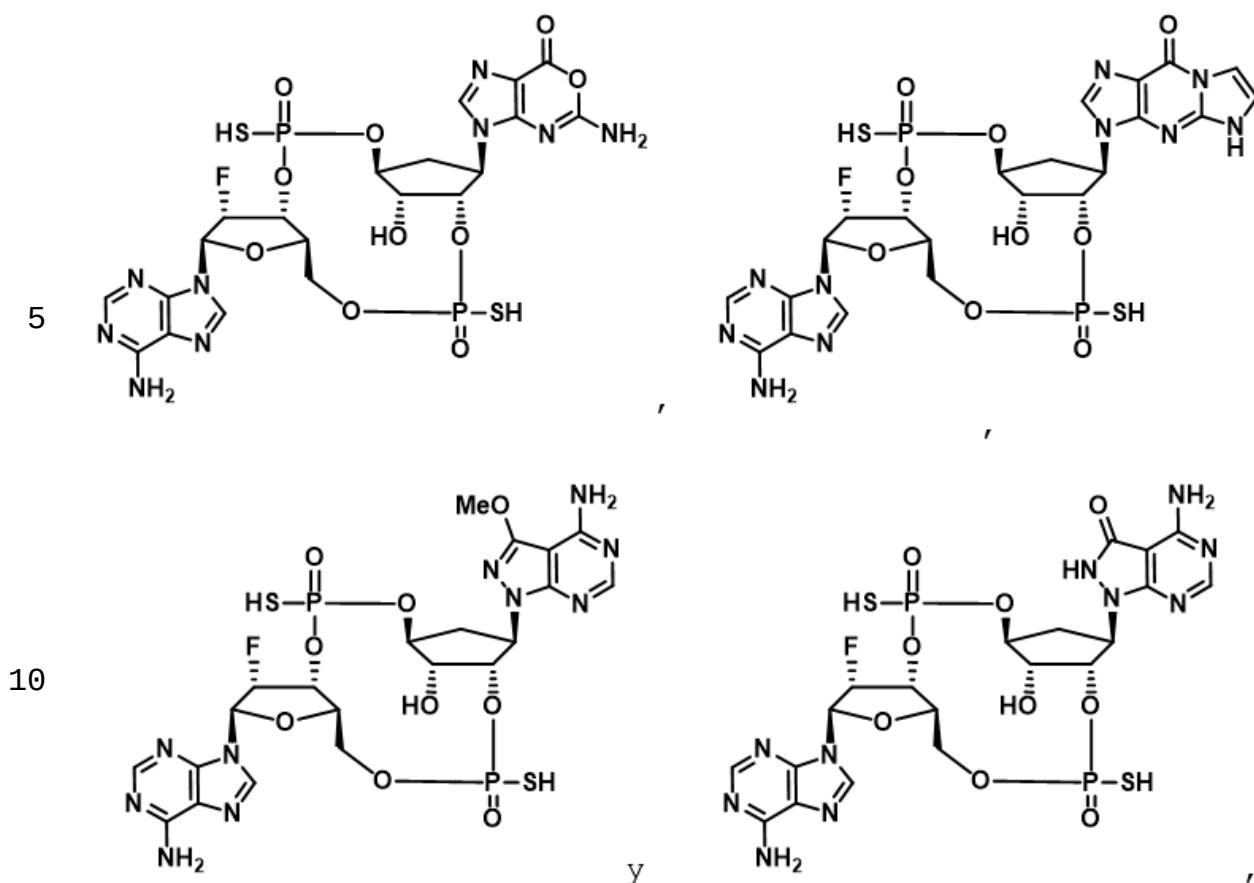
10

15



20





o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 Modalidades adicionales de la invención incluyen una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal como se describe en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable. Opcionalmente, tales composiciones pueden comprender un

20 compuesto o sal como se describe en la presente, el cual es un componente de un conjugado anticuerpo-fármaco; y/o puede comprender un compuesto como se describe en la presente, el

cual es un componente de un sistema de administración a base de partículas.

Como se representa en la invención, es un método para tratar el crecimiento celular anormal en un mamífero, el método
5 comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o sal como se describe en la presente. Este método puede (o no) emplear un compuesto o sal como se describe en la presente como un componente de un conjugado anticuerpo-fármaco o como un
10 componente de un sistema de administración a base de partículas. En tales modalidades, el crecimiento celular anormal puede ser cáncer. Si el crecimiento celular anormal es cáncer, el cáncer que se va a tratar puede ser cáncer de pulmón, cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de
15 cabeza o cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma de la cervix, carcinoma de la vagina,
20 carcinoma de la vulva, Enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la

glándula paratiroides, cáncer de las glándulas adrenales, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfomas linfocíticos, cáncer de la vejiga, cáncer del riñón o uréter, 5 carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, glioma de tallo cerebral o adenoma hipofisiario.

También se representa en la invención el uso de un 10 compuesto o sal como se describe en la presente para la preparación de un medicamento útil en el tratamiento del crecimiento celular anormal en un mamífero. En tales modalidades, el crecimiento celular anormal puede ser cáncer. Si el crecimiento celular anormal es cáncer, el cáncer que se 15 va a tratar puede ser cáncer de pulmón, cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, melanoma cutáneo o intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de 20 las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma de la cérvix, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, Enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino

delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de las glándulas adrenales, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica
5 o aguda, linfomas linfocíticos, cáncer de la vejiga, cáncer del riñón o uréter, carcinoma de células renales, carcinoma de la pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, glioma de tallo cerebral o adenoma hipofisiario.

10 Aún más, las modalidades de la invención incluyen aquellas donde se proporciona un método para sobrerregular la actividad de STING en un mamífero, que comprende la etapa de administrar al mamífero una cantidad efectiva de un compuesto o sal como se describe en la presente; y/o un método para
15 incrementar los niveles de interferón-beta en un mamífero, que comprende la etapa de administrar al mamífero una cantidad efectiva de un compuesto o sal como se describe en la presente.

Definiciones

20 A menos que se establezca de otro modo, los siguientes términos utilizados en la especificación y reivindicaciones tienen los significados discutidos

posteriormente. Las variables definidas en esta sección tales como R, X, n y similares solo son para referencia dentro de esta sección y no significa que tengan el mismo significado como se puede utilizar fuera de esta sección de definiciones.

5 Además, la mayoría de los grupos definidos en la presente pueden sustituirse opcionalmente. El listado en esta sección de definiciones de sustituyentes típicos es ejemplar y no pretende limitar los sustituyentes definidos en otra parte dentro de esta especificación y reivindicaciones.

10 “Alquenilo” se refiere a un grupo alquilo, como se define en la presente, que consiste de al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-, 2- o 3-butenilo y similares.

15 “Alquenileno” se refiere a una forma divalente de alquenilo.

“Alcoxi” se refiere a -O-alquilo, donde alquilo es de preferencia alquilo de C₁-C₈, C₁-C₇, C₁-C₆, C₁-C₅, C₁-C₄, C₁-C₃, C₁-C₂ o C₁.

20 “Alquilo” se refiere a un radical de hidrocarburo alifático saturado que incluye grupos de cadena recta y de cadena ramificada de 1 a 20 átomos de carbono (“alquilo de (C₁-C₂₀)”), de preferencia de 1 a 12 átomos de carbono (“alquilo de

(C₁-C₁₂)"), de mayor preferencia de 1 a 8 átomos de carbono ("alquilo de (C₁-C₈)") o de 1 a 6 átomos de carbono ("alquilo de (C₁-C₆)") o de 1 a 4 átomos de carbono ("alquilo de (C₁-C₄)"). Ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, 5 propilo, 2-propilo, *n*-butilo, *iso*-butilo, *ter*-butilo, pentilo, neopentilo, y similares. El alquilo puede ser sustituido o sin sustituir. Los grupos sustituyentes típicos incluyen cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalícíclico, hidroxilo, alcoxi, ariloxi, mercapto, alquiltio, ariltio, ciano, 10 halógeno, carbonilo, tiocarbonilo, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, C-carboxi, O-carboxi, nitro, sililo, amino y -NR^xR^y, donde R^x y R^y son por ejemplo, hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, arilo, carbonilo, acetilo, sulfonilo, trifluorometansulfonilo y un anillo 15 heteroalícíclico combinado de cinco o seis miembros. "Haloalquilo" por ejemplo, haloalquilo de (C₁-C₈), se refiere a un alquilo que tiene uno o más sustituyentes de halógeno. "Alquilenilo" se refiere a una forma divalente de alquilo.

"Alquinilo" como se define en la presente, se refiere 20 a un grupo alquilo que consiste de al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. Ejemplos representativos incluyen, pero no se limitan a, etinilo, 1-

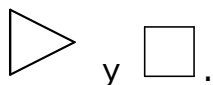
propinilo, 2-propinilo, 1-, 2- o 3-butinilo, y similares.

“Alquinileno” se refiere a una forma divalente de alquinilo.

“Amino se refiere a un grupo $-NR^xR^y$, en donde R^x y R^y ambos son hidrógeno.

5 “Ciano” se refiere a un grupo $-C\equiv N$. Ciano puede expresarse como CN.

 “Cicloalquilo de (C_3-C_5)” se refiere a un anillo monocíclico de 3 a 5 miembros con todos los carbonos. Ejemplos sin limitación de grupos cicloalquilo son ciclopropano, 10 ciclobutano, ciclopentano y ciclopenteno. Los grupos sustituyentes típicos incluyen alquilo, alcoxi, ciano, halo, C-carbonil-carboxi, O-carboxi, O-carbamilo, N-carbamilo, amino y $-NR^xR^y$, con R^x y R^y como se definen anteriormente. Ejemplos ilustrativos de cicloalquilo se derivan de, pero no se limitan 15 a los siguientes:

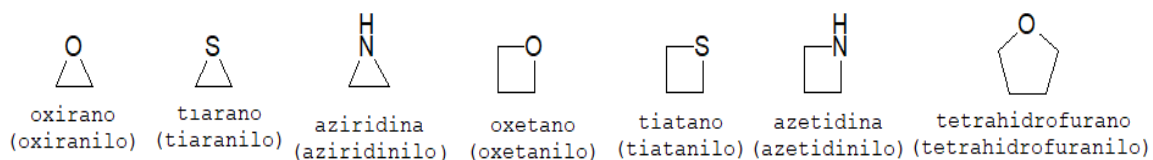


 “Halógeno” o el prefijo “halo” se refiere a fluoro, cloro, bromo e yodo. De preferencia, halógeno se refiere a fluoro o cloro.

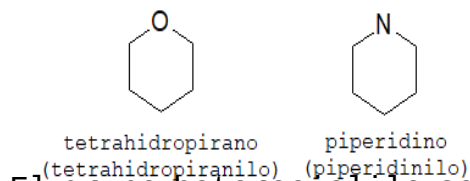
20 “Heteroátomo” se refiere a un átomo seleccionado del grupo que consiste de O, N, Si, S y/o P, y en donde los átomos

de nitrógeno y azufre pueden oxidarse opcionalmente.

“Heterocicclilo” se refiere a un sistema de anillo monocíclico o fusionado que tiene de 3 a 12 átomos en el anillo que contienen uno, dos, tres o cuatro heteroátomos en el anillo seleccionados de N, O, y S(O)_n (donde n es 0, 1 o 2), y 1-9 átomos de carbono. Los anillos también pueden tener uno o más dobles enlaces. Sin embargo, los anillos no tienen un sistema pi electrónico completamente conjugado. Los heterociclos preferidos incluyen heterociclos de (C₂-C₆) de acuerdo con la definición anterior. Ejemplos de grupos heteroalícíclicos saturados adecuados incluyen, pero no se limitan a:



15



El grupo heterocicclilo se sustituye opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halo, alquilo inferior.

20

“Hidroxi” o “hidroxilo” se refiere a un grupo -OH.

“*In vitro*” se refiere a procedimientos realizados en

un ambiente artificial tal como, por ejemplo, sin limitación, en un tubo de ensayo o medio de cultivo.

“*In vivo*” se refiere a procedimientos realizados dentro de un organismo vivo tal como, sin limitación, un ratón, 5 rata, conejo y/o humano.

“Opcional” u “opcionalmente” significa que el evento o circunstancia posteriormente descrita puede, pero no necesita ocurrir y que la descripción incluye casos donde el evento o circunstancia ocurre y casos en los cuales no. Por ejemplo, 10 “grupo heterociclo opcionalmente sustituido con un grupo alquilo” significa que el alquilo puede, pero no necesita estar presente y la descripción incluye situaciones donde el grupo heterociclo se sustituye con un grupo alquilo y situaciones donde el grupo heterociclo no se sustituye con el grupo 15 alquilo.

“Organismo” se refiere a cualquier entidad viviente comprendida de al menos una célula. Un organismo viviente puede ser tan simple como, por ejemplo, una célula eucariótica simple o tan compleja como un mamífero, incluyendo un ser humano.

20 Un “excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sustancia inerte agregada a una composición farmacéutica para facilitar aún más la administración de un

compuesto. Ejemplos sin limitación de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

5 Como se utiliza en la presente, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad biológica y propiedades del compuesto original. Tales sales incluyen:

 (i) sales de adición ácidas, las cuales pueden
10 obtenerse mediante la reacción de la base libre del compuesto original con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico y similares o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido oxálico, (D) o (L) ácido
15 málico, ácido maleico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido *p*-toluensulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico y similares; o

 (ii) sales formadas cuando un protón ácido presente
20 en el compuesto original es reemplazado ya sea por un ión metálico, por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión de metal alcalinotérreo o un ión de aluminio; o coordinados con

una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, N-metilglucamina, trialquilamonio y similares.

Una "composición farmacéutica" se refiere a una
5 mezcla de uno o más de los compuestos descritos en la presente
o sales, solvatos, hidratos o profármacos
fisiológica/farmacéuticamente aceptables de los mismos, con
otros componentes químicos tales como portadores y excipientes
fisiológica/farmacéuticamente aceptables. El propósito de una
10 composición farmacéutica es facilitar la administración de un
compuesto a un organismo.

Como se utiliza en la presente, un "portador
fisiológica/farmacéuticamente aceptable" se refiere a un
portador o diluyente que no provoca una irritación
15 significativa a un organismo y no anula la actividad biológica
ni propiedades del compuesto administrado.

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere
a aquella cantidad del compuesto que se administra, que
mejorará en cierto grado uno o más de los síntomas del trastorno
20 que se va a tratar. Con referencia al tratamiento de cáncer,
una cantidad terapéuticamente efectiva se refiere a aquella
cantidad que tiene al menos uno de los siguientes efectos:

(1) reducir el tamaño del tumor;

(2) inhibir (es decir, ralentizar en cierto grado, de preferencia detener) la metástasis del tumor;

(3) inhibir en cierto grado (es decir, ralentizar
5 en cierto grado, de preferencia detener) el crecimiento de tumor, y

(4) mejorar en cierto grado (o de preferencia eliminar) uno o más síntomas asociados con el cáncer.

“Tratar”, “que trata” y “tratamiento” se refieren a
10 un método para mejorar o anular un trastorno celular y/o sus síntomas acompañantes. En particular, con respecto al cáncer, estos términos significan simplemente que se incrementará la esperanza de vida de un individuo afectado con un cáncer o que se reducirá uno o más de los síntomas de la enfermedad.

15 **Descripción Detallada**

Los esquemas generales para sintetizar los compuestos de la invención pueden encontrarse en la sección de Ejemplos de la presente.

A menos que se indique lo contrario, todas las
20 referencias en la presente a los compuestos inventivos incluyen referencia a sales, solvatos, hidratos y complejos de los mismos y a solvatos, hidratos y complejos de sales de los

mismos, incluyendo polimorfos, estereoisómeros y versiones isotópicamente etiquetadas de los mismos.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición ácidas y básicas (incluyendo disales).

5 Las sales de adición ácidas adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Ejemplos incluyen sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato, camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, 10 gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato 15 ácido/fosfato diácido, sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

Las sales básicas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, 20 diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc. Para una revisión sobre las sales adecuadas, véase el "Handbook of Pharmaceutical

Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002), la descripción del cual se incorpora en la presente para referencia en su totalidad.

Una sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos
5 inventivos puede prepararse fácilmente al mezclar juntas soluciones del compuesto y el ácido o base deseados como sea apropiado. La sal puede precipitarse a partir de la solución y recolectarse mediante filtración o puede recuperarse mediante la evaporación del solvente. El grado de ionización en la sal
10 puede variar de completamente ionizado a casi no ionizado.

Los compuestos de la invención pueden existir tanto en formas no solvatadas como solvatadas. El término 'solvato' se utiliza en la presente para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una o más moléculas
15 de solvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol. El término 'hidrato' se emplea cuando el solvente es agua. Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen hidratos y solvatos en donde el solvente de cristalización puede sustituirse de forma isotópica, por
20 ejemplo, D₂O, d₆-acetona, d₆-DMSO.

Dentro del alcance de la invención también se incluyen complejos tales como clatratos, complejos de inclusión

huésped-fármaco en donde, en contraste con los solvatos mencionados anteriormente, el fármaco y el huésped están presentes en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. También se incluyen complejos del fármaco
5 que contiene dos o más componentes orgánicos y/o inorgánicos que pueden estar en cantidades estequiométricas o no estequiométricas. Los complejos resultantes pueden ionizarse, ionizarse parcialmente o no ionizarse. Para una revisión de tales complejos, véase J Pharm Sci, 64 (8), 1269-1288 por
10 Haleblan (agosto de 1975), la descripción del cual se incorpora en la presente para referencia en su totalidad.

Dentro del alcance de la invención también se encuentran polimorfos, profármacos e isómeros (incluyendo isómeros ópticos, geométricos y tautoméricos) de los compuestos
15 inventivos.

Los derivados de los compuestos de la invención que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica pero cuando se administran a un paciente pueden convertirse en los compuestos inventivos, por ejemplo, mediante escisión
20 hidrolítica. Tales derivados se denominan como 'profármacos'. Información adicional sobre el uso de los profármacos puede encontrarse en 'Profármacos como Sistemas de Administración

Novedosa, Volumen 14, Simposio ACS Serie (T Higuchi y W Stella) y 'Portadores Biorreversibles en el Diseño de Fármacos', Pergamon Press, 1987 (ed. E B Roche, Asociación Farmacéutica Americana), las descripciones de los cuales se incorporan en
5 la presente para referencia en su totalidad.

Por ejemplo, los profármacos de acuerdo con la invención pueden producirse mediante el reemplazo de las funcionalidades apropiadas presentes en los compuestos inventivos con ciertas porciones conocidas por aquellos con
10 experiencia en la técnica como 'pro-porciones' como se describe, por ejemplo, en "Diseño de Profármacos" por H Bundgaard (Elsevier, 1985), la descripción del cual se incorpora en la presente para referencia en su totalidad.

Algunos ejemplos de profármacos de acuerdo con la
15 invención incluyen:

- (i) donde el compuesto contiene una funcionalidad de ácido carboxílico $-(COOH)$, un éster del mismo, por ejemplo, el reemplazo del hidrógeno con alquilo de (C_1-C_8) ;
- (ii) donde el compuesto contiene una funcionalidad
20 alcohol $(-OH)$, un éter del mismo, por ejemplo, el reemplazo del hidrógeno con alcanoiloximetilo de (C_1-C_6) ; y
- (iii) donde el compuesto contiene una funcionalidad

amino primaria o secundaria ($-\text{NH}_2$ o $-\text{NHR}$ donde $\text{R} \neq \text{H}$), una amida del mismo, por ejemplo, el reemplazo de uno o ambos hidrógenos con alcanilo de ($\text{C}_1\text{-C}_{10}$).

Ejemplos adicionales de grupos de reemplazo de acuerdo con los ejemplos anteriores y ejemplos de otros tipos de profármacos pueden encontrarse en las referencias mencionadas anteriormente.

Finalmente, ciertos compuestos inventivos pueden actuar por sí mismos como profármacos de otro de los compuestos inventivos.

Los compuestos de la invención que contienen uno o más átomos de carbono y/o fósforo asimétrico pueden existir como dos o más estereoisómeros. Donde los compuestos de acuerdo con esta invención tienen al menos un centro quiral, pueden existir en consecuencia como enantiómeros. Donde los compuestos poseen dos o más centros quirales, pueden existir adicionalmente como diastereómeros. De forma similar, donde un compuesto de la invención contiene un grupo ciclopropilo u otro grupo cíclico donde existe la quiralidad y son posibles isómeros geométricos *cis/trans* (o *Z/E*) del grupo alqueno o alqueno. Cuando el compuesto contiene, por ejemplo, un grupo ceto u oxima o una porción aromática, puede ocurrir un

isomerismo tautomérico ('tautomerismo'). Un solo compuesto puede mostrar más de un tipo de isomerismo.

Se incluyen dentro del alcance de la invención todos los estereoisómeros, isómeros geométricos y formas
5 tautoméricas de los compuestos inventivos, incluyendo compuestos que muestran más de un tipo de isomerismo y mezclas de uno o más de los mismos. También se incluyen sales ácidas o básicas de adición en donde el contraión es ópticamente activo, por ejemplo, D-lactato o L-lisina o racémico, por ejemplo, DL-
10 tartrato o DL-arginina.

Los isómeros *cis/trans* pueden separarse mediante técnicas convencionales bien conocidas por aquellos con experiencia en la técnica, por ejemplo, cromatografía y cristalización fraccionada.

15 Las técnicas convencionales para la preparación/aislamiento de los enantiómeros individuales incluyen la síntesis quiral de un precursor adecuado ópticamente puro o resolución del racemato (o el racemato de una sal o derivado) utilizando, por ejemplo, cromatografía
20 líquida quiral de alta presión (HPLC) o cromatografía líquida supercrítica (SFC).

Alternativamente, el racemato (o un precursor

racémico) puede hacerse reaccionar con un compuesto adecuado ópticamente activo, por ejemplo, un alcohol, o en el caso donde el compuesto contenga una porción ácida o básica, un ácido o base tal como ácido tartárico o 1-feniletilamina. La mezcla
5 diastereomérica resultante puede separarse mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada y uno o ambos de los diaestereoisómeros se convierten a los enantiómeros puros correspondientes por medios bien conocidos por alguien de experiencia en la técnica.

10 Los conglomerados estereoisoméricos pueden separarse mediante técnicas convencionales conocidas por aquellos con experiencia en la técnica; véase, por ejemplo, "Estereoquímica de Compuestos orgánicos" por E L Eliel (Wiley, Nueva York, 1994), la descripción del cual se incorpora en la presente para
15 referencia en su totalidad.

La invención también incluye compuestos isotópicamente etiquetados de la invención, en donde uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tenga el mismo número atómico, pero una masa atómica o número de masa diferente de
20 la masa atómica o número de masa usualmente encontrado en la naturaleza. Ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de

hidrógeno, tales como ^2H y ^3H , de carbono tales como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , de cloro tal como ^{36}Cl , de flúor tal como ^{18}F , de yodo tales como ^{123}I e ^{125}I , de nitrógeno tales como ^{13}N y ^{15}N , de oxígeno tales como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , de fósforo tal como ^{32}P , y de azufre tal como ^{35}S . Ciertos compuestos isotópicamente etiquetados de la invención, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles en los estudios de distribución del fármaco y/o sustrato en los tejidos. Los isótopos radioactivos tritio, ^3H , y carbono 14, ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y medios listos para detección. La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, ^2H , pueden permitir ciertas ventajas terapéuticas que resultan de mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, vida media *in vivo* incrementada o requerimientos de dosificación reducida y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. La sustitución con isótopos emisores de positrones tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , pueden ser útiles en estudios de Topografía de Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupación del receptor de sustrato.

Los compuestos isotópicamente etiquetados de la invención pueden prepararse generalmente mediante técnicas

convencionales conocidas por aquellos con experiencia en la técnica o mediante procesos análogos a aquellos descritos en la presente, utilizando un reactivo apropiado isotópicamente etiquetado en lugar del reactivo no etiquetado de otro modo
5 empleado.

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención, incluyen aquellos en donde el solvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido, por ejemplo, D₂O, d₆-acetona, d₆-DMSO.

10 Los compuestos de la invención destinados para su uso farmacéutico pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos o mezclas de los mismos. Pueden obtenerse, por ejemplo, como conectores sólidos, polvos o películas mediante métodos tales como precipitación,
15 cristalización, secado por congelación, secado por aspersion o secado por evaporación. El secado por microondas o radiofrecuencia puede utilizarse para este propósito.

Los compuestos pueden administrarse solos o en combinación con uno o más compuestos diferentes de la
20 invención. Generalmente se administrarán como una formulación en asociación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en la presente

para describir cualquier ingrediente diferente que los compuestos de la invención. La elección de excipiente dependerá en gran medida de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad y la naturaleza de la forma de dosificación.

Las composiciones descritas en la presente pueden administrarse a un huésped, ya sea solos o en combinación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, en una cantidad suficiente para inducir, modificar o estimular una respuesta inmune apropiada. La respuesta inmune puede comprender sin limitación, una respuesta inmune específica, una respuesta inmune no específica, respuestas tanto específicas como no específicas, respuesta innata, respuesta inmune primaria, inmunidad adaptable, respuesta inmune secundaria, respuesta inmune de memoria, activación de células inmunes, proliferación de células inmunes, diferenciación de células inmunes y expresión de citocinas. En ciertas modalidades, las composiciones se administran junto con una o más composiciones adicionales que incluyen vacunas destinadas a estimular una respuesta inmune en uno o más antígenos predeterminados; adyuvantes; antagonistas de la ruta de CTLA-4 y PD-1, lípidos, liposomas, agentes quimioterapéuticos, líneas celulares

inmunomoduladoras, etc.

En algunos aspectos de la invención, los métodos descritos en la presente además incluyen una etapa para tratar a un sujeto con una forma adicional de terapia. En algunos
5 aspectos, la forma adicional de terapia es una terapia anti-cáncer adicional que incluye, pero no se limita a, quimioterapia, radiación, cirugía, terapia hormonal y/o inmunoterapia adicional.

Los compuestos moduladores de STING descritos pueden
10 administrarse como un tratamiento inicial o para el tratamiento de cánceres que no responden a las terapias convencionales. Además, los compuestos moduladores de STING descritos pueden utilizarse en combinación con otras terapias (por ejemplo, escisión quirúrgica, radiación, fármacos anti-cáncer
15 adicionales, etc.) para obtener de este modo efectos terapéuticos aditivos o potenciados y/o reducir la citotoxicidad de algunos agentes anti-cáncer. Los compuestos moduladores de STING de la invención pueden co-administrarse o co-formularse con agentes adicionales o formularse para la
20 administración consecutiva con agentes adicionales en cualquier orden.

Los compuestos moduladores de STING de la invención

pueden utilizarse en combinación con otros agentes terapéuticos que incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos terapéuticos, ADC, agentes inmunomoduladores, agentes citotóxicos y agentes citostáticos. Un efecto citotóxico se refiere a la reducción, eliminación y/o exterminio de células objetivo (es decir, células tumorales). Un agente citotóxico se refiere a un agente que tiene un efecto citotóxico y/o citostático en una célula. Un efecto citotóxico se refiere a la inhibición de la proliferación celular. Un agente citostático se refiere a un agente que tiene un efecto citostático en una célula, inhibiendo de este modo el crecimiento y/o expansión de un subconjunto específico de células (es decir, células tumorales). Un agente inmunomodulador se refiere a un agente que estimula la respuesta inmune a través de la producción de citocinas y/o anticuerpos y/o modular la función de las células T inhibiendo o reduciendo de este modo el crecimiento de un subconjunto de células (es decir, células tumorales) ya sea de forma directa o indirecta al permitir que otro agente sea más eficaz.

Para las terapias de combinación, los compuestos moduladores de STING se administran dentro de cualquier marco de tiempo adecuado para el desempeño de la terapia prevista.

De este modo, pueden administrarse agentes simples sustancialmente de forma simultánea (es decir, como una sola formulación o a los minutos u horas) o de forma consecutiva en cualquier orden. Por ejemplo, los tratamientos con un solo
5 agente pueden administrarse dentro de aproximadamente un año entre sí, tal como dentro de aproximadamente 10, 8, 6, 4 o 2 meses o dentro de 4, 3, 2 o una semana o dentro de aproximadamente 5, 4, 3, 2 o un día.

Las terapias de combinación descritas pueden obtener
10 un efecto terapéutico sinérgico, es decir, un efecto mayor que la suma de sus efectos individuales o resultados terapéuticos. Por ejemplo, un efecto terapéutico sinérgico puede ser un efecto de al menos aproximadamente dos veces superior que el efecto terapéutico obtenido por un solo agente o la suma de
15 los efectos terapéuticos obtenidos por los agentes simples de una combinación dada o al menos aproximadamente cinco veces superior o al menos aproximadamente diez veces superior o al menos aproximadamente veinte veces superior o al menos
aproximadamente cincuenta veces superior o al menos
20 aproximadamente cien veces superior. También puede observarse un efecto terapéutico sinérgico como un incremento del efecto terapéutico de al menos 10% comparado con el efecto terapéutico

obtenido por un solo agente o la suma de los efectos terapéuticos obtenidos mediante los agentes simples de una combinación dada o al menos 20% o al menos 30% o al menos 40% o al menos 50% o al menos 60% o al menos 70% o al menos 80% o
5 al menos 90% o al menos 100% o más. Un efecto sinérgico también es un efecto que permite la dosificación reducida de los agentes terapéuticos cuando se utilizan en combinación.

Las composiciones pueden administrarse antes, después y/o junto con la composición terapéutica o profiláctica
10 o modalidad adicional. Estas incluyen sin limitación, la molécula co-estimuladora B7, interleucina 2, interferón 7, GM-CSF, antagonistas de CTLA-4, ligando de OX-40/OX-40, ligando de CD40/CD40, sargramostim, levamisol, virus de vacuna, bacilo de Calmette-Guerin (BCG), liposomas, alumbre, adyuvante
15 completo o incompleto de Freund, endotoxinas destoxificadas, aceites minerales, sustancias de superficie activa tales como lipolecitina, polioles plurónicos, polianiones, péptidos y emulsiones aceitosas o de hidrocarburos. Se prefieren los portadores para inducir una respuesta inmune de las células T
20 que estimulan de preferencia una respuesta citolítica de las células T contra una respuesta de anticuerpo, aunque pueden utilizarse también aquellos que estimulan ambos tipos de

respuesta. En casos donde el agente es un polipéptido, puede administrarse el polipéptido mismo o un polinucleótido que codifica el polipéptido. El portador puede ser una célula tal como una célula presentadora de antígeno (APC) o una célula
5 dendrítica. Las células presentadoras de antígeno incluyen tales tipos celulares como macrófagos, células dendríticas y células B. Otras células profesionales presentadoras de antígeno incluyen monocitos, células de Kupffer de zona marginal, microglia, células de Langerhans, células
10 dendríticas de interdigitalización, células dendríticas foliculares y células T. también pueden utilizarse células facultativas presentadoras de antígeno. Ejemplos de células facultativas presentadoras de antígeno incluyen astrocitos, células foliculares, del endotelio y fibroblastos. El portador
15 puede ser una célula bacteriana que se transforma para expresar el polipéptido o para administrar un polinucleótido que posteriormente se expresa en las células del individuo vacunado. Los adyuvantes tales como hidróxido de aluminio o fosfato de aluminio pueden agregarse para incrementar la
20 capacidad de la vacuna para activar, intensificar o prolongar una respuesta inmune. Materiales adicionales tales como citocinas, quimiocinas y secuencias de ácidos nucleicos

bacterianos similares a CpG, un agonista receptor similar a toll (TLR) 9 así como agonistas adicionales para TLR 2, TLR 4, TLR 5, TLR 7, TLR 8, TLR9, incluyendo lipoproteínas, LPS, monofosforil-lípido A, ácido lipoteicoico, imiquimod, resiquimod y en adición a los agonistas del gen I inducible por ácido retinoico (RIG-I) tales como poli I:C, utilizados por separado o en combinación con las composiciones descritas también son adyuvantes potenciales. Otros ejemplos representativos de adyuvantes incluyen el adyuvante sintético QS-21 que comprende una saponina homogénea purificada de los vestigios de la corteza de *Quillaja saponaria* y *Colynebacterium parvum* (McCune et al., Cancer, 1979; 43:1619). Se entenderá que el adyuvante está sujeto a optimización. En otras palabras, el técnico experimentado puede acoplar en la experimentación de rutina para determinar el mejor adyuvante a utilizar.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración de los compuestos de la invención y métodos para su preparación serán fácilmente aparentes para aquellos con experiencia en la técnica. Tales composiciones y métodos para su preparación pueden encontrarse, por ejemplo, en 'Remington's Pharmaceutical Sciences', 19a Edición (Mack Publishing Company, 1995), la descripción del cual se incorpora en la

presente para referencia en su totalidad.

Los compuestos de la invención pueden administrarse de forma directa en el torrente sanguíneo, en el músculo o en un órgano interno. Los medios adecuados para la administración
5 parenteral incluyen la vía intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular, subcutánea e intratumoral. Los dispositivos adecuados para la administración parenteral incluyen aguja (incluyendo
10 microaguja) inyectores, inyectores sin aguja y técnicas de infusión.

Las formulaciones parenterales son típicamente soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes amortiguadores (de preferencia
15 para un pH de 3 a 9), pero para algunas aplicaciones, pueden formularse de forma más adecuada como una solución no acuosa estéril o como una forma seca para utilizarse junto con un vehículo adecuado tal como agua estéril libre de pirógenos.

La preparación de las formulaciones parenterales bajo
20 condiciones estériles, por ejemplo, mediante liofilización, pueden acompañarse fácilmente utilizando técnicas farmacéuticas estándar bien conocidas por aquellos con

experiencia en la técnica.

La solubilidad de los compuestos de la invención utilizada en la preparación de soluciones parenterales puede incrementarse mediante el uso de técnicas de formulación adecuadas, tales como la incorporación de agentes que intensifican la solubilidad. Las formulaciones para la administración parenteral pueden formularse para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen la liberación retardada, sostenida, pulsada, controlada, dirigida y programada. De este modo, los compuestos de la invención pueden formularse como un sólido, semisólido o líquido tixotrópico para la administración como un depósito implantado que proporciona una liberación modificada del compuesto activo. Ejemplos de tales formulaciones incluyen stents recubiertos con fármaco y microesferas de PLGA.

Las nanopartículas también representan sistemas de administración del fármaco adecuados para la mayoría de las vías de administración. Con el paso de los años, se ha explorado una variedad de polímeros naturales y sintéticos para la preparación de nanopartículas de las cuales el ácido (poliláctico) (PLA), ácido (poliglicólico) (PGA) y sus

copolímeros (PLGA) se han investigado extensamente debido a su biocompatibilidad y biodegradabilidad. Las nanopartículas y otros nanoportadores actúan como portadores potenciales de diversas clases de fármacos tales como agentes anticáncer, 5 agentes antihipertensivos, inmunomoduladores y hormonas; y macromoléculas tales como ácidos nucleicos, proteínas, péptidos y anticuerpos. Véase, por ejemplo, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 21:387-422, 2004; Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine I:22-30, 2005.

10 Las composiciones de la presente invención pueden comprender o pueden administrarse junto con uno o más componentes adicionales farmacéuticamente activos tales como adyuvantes, lípidos, vesículas interbicapa multilamelares reticuladas, nanopartículas o micropartículas biodegradeables 15 a base de poli(D, L-ácido láctico-co-glicólico) [PLGA] o a base de polianhídridos y bicapas lipídicas soportadas por partículas nanoporosas tales como liposomas, antagonistas de la ruta CTLA-4 y PD-1, agentes de bloqueo de la ruta PD-1, bacterias inactivadas que inducen inmunidad innata (por ejemplo, 20 monocitógenos de listeria inactivados o atenuados), composiciones que median la activación inmune innata mediante receptores similares a Toll (TLR), receptores (NLR) similares

a (NOD), receptores similares a (RIG)-I basados en el gen inducible por ácido retinoico, receptores de lectina tipo C (CLR), patrones moleculares asociados al patógeno ("PAMP"), agentes quimioterapéuticos y similares.

5 Los compuestos y composiciones de la presente invención pueden administrarse como un componente de un conjugado anticuerpo-fármaco u otra modalidad de administración dirigida.

10 Administración tópica

 Los compuestos de la invención pueden combinarse con entidades macromoleculares solubles, tales como ciclodextrina y derivados adecuados de la misma o polímeros que contienen polietilenglicol, con el fin de mejorar su solubilidad, tasa
15 de disolución, enmascaramiento del sabor, biodisponibilidad y/o estabilidad de uso en cualquiera de los modos de administración mencionados anteriormente.

 Por ejemplo, los complejos de fármaco-ciclodextrina se encuentra que son generalmente útiles para la mayoría de
20 formas de dosificación y rutas de administración. Pueden utilizarse complejos tanto de inclusión como de no inclusión. Como una alternativa para el acomplejamiento directo, la

ciclodextrina puede utilizarse como un aditivo auxiliar, es decir, como un portador, diluyente o solubilizante. Los más comúnmente utilizados para estos propósitos son la alfa, beta y gamma-ciclodextrinas, ejemplos de los cuales pueden encontrarse en las Publicaciones de PCT Nos. WO 91/11172, WO 94/02518 y WO 98/55148, las descripciones de las cuales se incorporan en la presente para referencia en su totalidad.

Dosificación: La cantidad del compuesto activo administrado será dependiente del sujeto que se vaya a tratar., la gravedad del trastorno o padecimiento, la tasa de administración, la disposición del compuesto y la discreción del médico que prescribe. Una posible dosificación está en el margen de aproximadamente 0.001 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal, administrados diariamente, cada dos días, cada tercer día, cada cuarto día, cada quinto día, cada sexto día, a la semana, cada dos semanas, al mes o en otros esquemas de dosificación. En algunos casos, los niveles de dosificación debajo del límite inferior del margen mencionado anteriormente pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos pueden utilizarse incluso dosis más grandes sin provocar ningún efecto secundario dañino, con tales dosis más grandes típicamente divididas en diversas dosis más pequeñas para su administración

durante el día.

Kit de partes: dado que puede ser deseable administrar una combinación de compuestos activos, por ejemplo, para el propósito de tratar una enfermedad o padecimiento particular, está dentro del alcance de la presente invención que dos o más composiciones farmacéuticas, al menos una de las cuales contiene un compuesto de acuerdo con la invención, pueden combinarse de forma conveniente en forma de un kit adecuado para la coadministración de las composiciones. De este modo, el kit de la invención incluye dos o más composiciones farmacéuticas separadas, al menos una de las cuales contiene un compuesto de la invención y medios para mantener separadas las composiciones, tales como un recipiente, frasco dividido o paquete de aluminio dividido. Un ejemplo de tal kit es el blíster familiar utilizado para el embalaje de las tabletas, cápsulas y similares.

El kit de la invención es particularmente adecuado para administrar formas de dosificación diferente, por ejemplo, oral y parenteral, para administrar las composiciones separadas en intervalos de dosificación diferentes o para titular las composiciones separadas entre sí. Para ayudar con el cumplimiento, el kit típicamente incluye instrucciones para su

administración y puede proporcionarse con una memoria de ayuda.

Ejemplos

Métodos generales

5 Procedimientos experimentales sintéticos:

Los experimentos se llevaron a cabo en general bajo una atmósfera inerte (nitrógeno o argón), en particular en casos donde se emplean reactivos con oxígeno o sensibles a la humedad o intermediarios. Los solventes y reactivos comerciales se utilizaron generalmente sin purificación adicional y se secaron sobre tamices moleculares (generalmente productos Sure-Seal™ de the Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin). Los datos de espectrometría de masas se reportaron a partir de cualesquier métodos de espectrometría de masas con cromatografía líquida (LC-MS), ionización química por presión atmosférica (APCI), ionización por electroaspersión (ESI) o cromatografía líquida por tiempo de vuelo (LC-TOF). Los desplazamientos químicos para los datos de resonancia magnética nuclear (NMR) se expresaron en partes por millón (ppm) con referencia a los picos residuales a partir de los solventes deuterados empleados.

Para los procedimientos con referencia a las síntesis

en otros Ejemplos o Métodos, el Protocolo de reacción (longitud de la reacción y temperatura) puede variar. En general, las reacciones se siguieron mediante cromatografía de capa fina, LC-MS o HPLC y se sometieron a trabajo cuando fue apropiado.

5 Las purificaciones pueden variar entre los experimentos: en general, los solventes y las relaciones de solvente utilizadas para los eluyentes/gradientes se eligieron para proporcionar los tiempos de retención apropiados. A menos que se especifique lo contrario, las fracciones de HPLC de fase inversa se

10 concentraron mediante secado por congelación/liofilización. Los compuestos intermediarios y finales se almacenaron a (0 °C) o a temperatura ambiente en frascos o matraces cerrados bajo nitrógeno. Los nombres de los compuestos se generaron con el software de Chemdraw o ACD Labs.

15 Las abreviaturas para los solventes y/o reactivos se basan en los lineamientos de la Sociedad Química Americana y se resaltan a continuación:

Ac = Acetilo; Boc = *N*-*ter*-butoxicarbonilo; BTT = benciltiotetrazol; CDI = *N,N'*-carbonildiimidazol; DCA = ácido

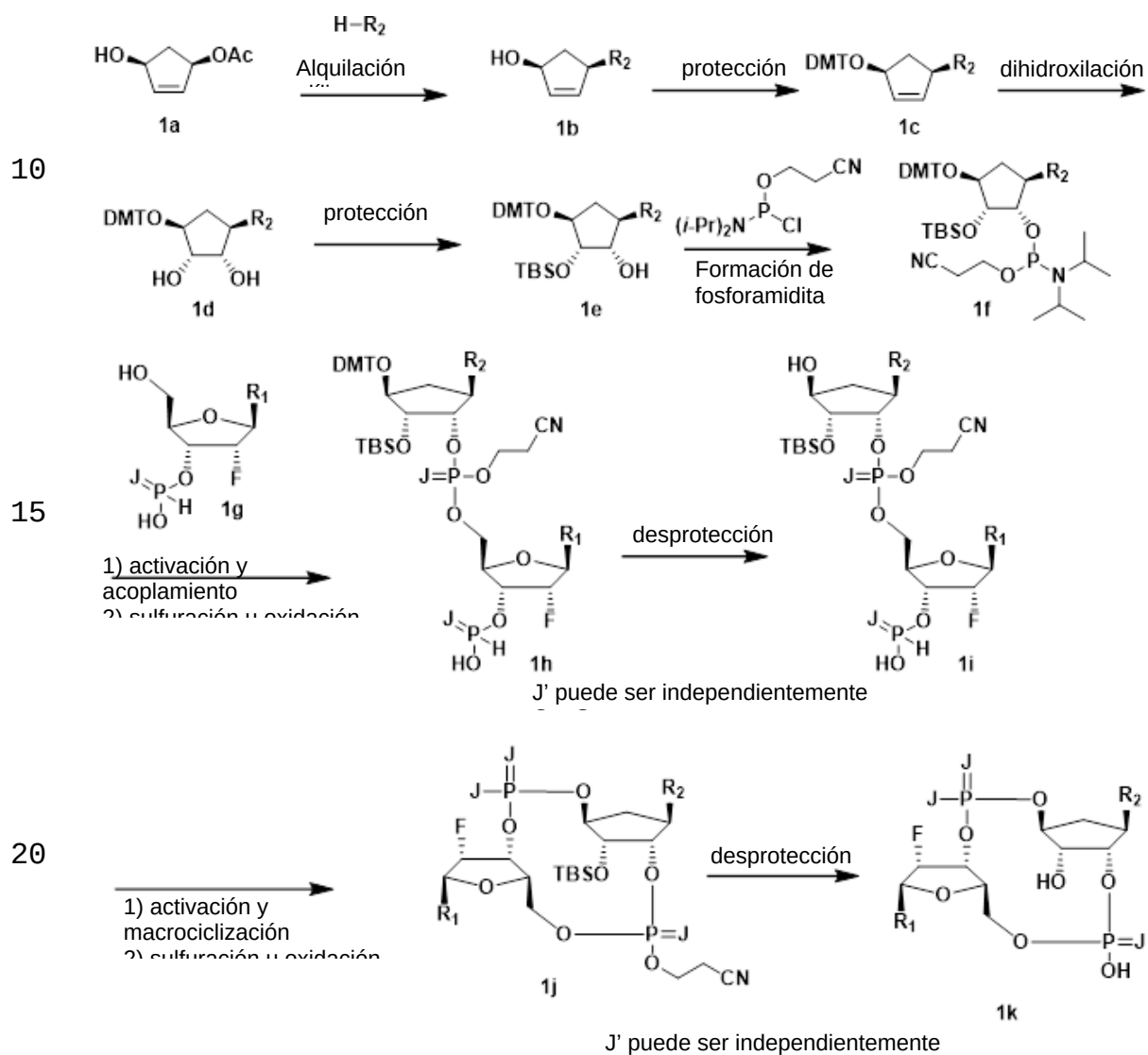
20 dicloroacético; DCC = 1,3-diciclohexilcarbodiimida; DCE = dicloroetano; DCM = diclorometano; DDTT = (E)-*N,N*-dimetil-*N'*-(3-sulfaniliden-3H-1,2,4-ditiazol-5-il)metanimidamida; DEA =

N,N-dietilamina; DIBAL-H = hidruro de diisobutilaluminio;
 DIPEA = *N,N*-diisopropiletilamina; DMA = dimetilacetamida; DMAP
 = 4-dimetilaminopiridina; DME = dimetoxietano; DMF = *N,N*-
 dimetilformamida; DMOCP = 2-óxido de 2-cloro-5,5-dimetil-
 5 1,3,2-dioxafosfinano; DMSO = sulfóxido de dimetilo; DMT =
 dimetoxitritilo; DMTCI = cloruro de dimetoxitritilo; DPPA =
 azida de difenilfosforilo; EDCI = 1-etil-3-(3-
 dimetilaminopropil)carbodiimida; EtOAc = acetato de etilo; ETT
 = etiltiotetrazol; Fmoc = fluorenilmetiloxycarbonilo; h = hora;
 10 HATU = hexafluorofosfato de *o*-(7-azabenzotriazol-1-il)-
N,N,N',N'-tetrametiluronio; HBTU = hexafluorofosfato de
N,N,N',N'-tetrametil-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-il)uronio; HOAc =
 ácido acético; HOAt = 1-hidroxi-7-azabenzotriazol; HOBt =
 hidrato de 1-hidroxibenzotriazol; LDA = diisopropilamida de
 15 litio; Me = Metilo; MTBE = *ter*-butiléter metílico; *n*-BuLi = *n*-
 butil-litio; NBS = *N*-bromosuccinimida; NMM = *N*-metil-
 morfolina; NMO = *N*-óxido de *N*-metil-morfolina; Ph = fenilo;
 PivCl = cloruro de pivaloilo; PPTS = *p*-toluensulfonato de
 piridinio; *p*-TsOH = ácido *p*-toluensulfónico; rt = temperatura
 20 ambiente; TEAB = bromuro de tetraetilamonio; TBAI = yoduro de
 tetrabutilamonio; TBS = *ter*-butildimetilsililo; TBSCl =
 cloruro de *ter*-butildimetilsililo; TEA = trietilamina; Tf =

trifluorometansulfonato; TFA = ácido trifluoroacético; THF = tetrahidrofurano; y TPTU = tetrafluoroborato de *o*-(2-oxo-1(2*H*)piridil)-*N,N,N,N'*-tetrametiluronio.

5 Esquema general

Esquema 1:



En general, la síntesis de los activadores de STING a base de ciclopentano pueden ser análogos a las rutas utilizadas para hacer que los macrociclos apropiados se encuentren en la síntesis de dinucleótidos cíclicos (Gaffney B. L., et. al.; *Organic Letters* 2010 12(14) 3269-3271).

Como se ejemplifica en el **Esquema 1**, el acetato alílico quirral **1a** puede comprarse o sintetizarse (Deardorff D., et.al.; *Tetrahedron Letters* 1986 27(11) 1255-1256). Una alquilación alílica puede realizarse con un heterociclo que contenga nitrógeno o nucleobase para formar compuestos tales como **1b** (Trost, B., et.al.; *Angew. Chem. Int. Ed.* 1996, 35 1569-1572). Estas reacciones se ejecutan típicamente utilizando un catalizador de paladio, un ligando de fosfina y condición básica. También puede emplearse otra combinación de catalizador metálico y ligando para lograr la misma transformación. Típicamente, la protección del alcohol alílico **1b** con un grupo dimetoxitritilo (DMT) se obtiene utilizando cloruro de dimetoxitritilo (DMTCI) y una base para dar compuestos tales como **1c**. El doble enlace de **1c** típicamente se dihidroxila con tetraóxido de osmio catalítico y N-óxido de N-metilpiperidina para dar compuestos tales como **1d**. Pueden

utilizarse otros reactivos de dihidroxilación tales como permanganato o tetraóxido de rutenio para hacer la misma transformación. Típicamente, puede lograrse la mono-protección de los compuestos tales como **1d** al utilizar cloruro de tetrabutildimetilsililo (TBSCl) con tetrazol o trifluorometansulfonato de tetrabutildimetilsililo (TBSOTf) y una base para dar compuestos tales como **1e**. Las fosforamiditas tales como el compuesto **1f** típicamente están hechas a partir de compuestos tales como **1e** cuando se tratan con 3-
10 ((cloro(diisopropilamino)fosfanil)oxi)propanonitrilo y una base. Los H-fosfonatos y tio-H-fosfonatos tales como el compuesto **1g** generalmente se hacen a partir del nucleósido protegido de forma apropiada y un anhídrido mezclado de ácido fosfónico seguido por la sulfuración si es necesario. El grupo protector se retira para revelar el alcohol primario **1g**. El acoplamiento de compuestos tales como **1g** y **1f** generalmente ocurre después que las fosforamiditas tales como **1f** se tratan con activadores ácidos. El material acoplado resultante entonces se sulfura con agentes de sulfuración tales como DDTT,
15 3H-benzoditiol-3-ona o reactivo similar para producir tiofosfonatos tales como **1h**. De otro modo, el material acoplado puede oxidarse con reactivos tales como peróxido de t-butilo u

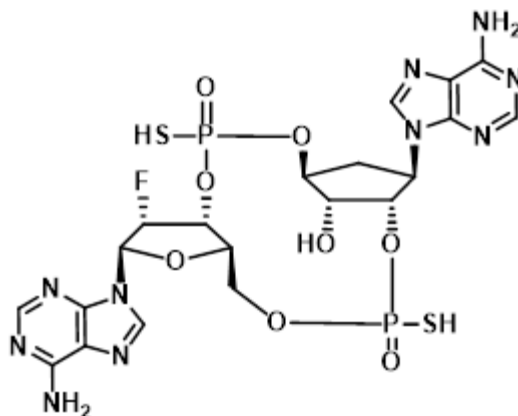
oxidantes similares para producir fosfatos tales como **1h**. Los compuestos tales como **1h** pueden tratarse con un ácido leve tal como ácido dicloroacético para revelar compuestos tales como **1i**. Los compuestos de H-fosfonato tales como **1i** pueden
5 activarse con reactivos tales como DMOCP para afectar la macrociclización que entonces puede sulfurarse mediante reactivos tales como 3H-benzoditio1-3-ona para generar tiofosfonatos cíclicos tales como **1j** u oxidarse con reactivos tales como t-butilperóxido para generar fosfatos cíclicos tales
10 como **1j**. Después de las condiciones de desprotección apropiada, pueden generarse los compuestos de ditiofosfonatos cíclicos, difosfatos o de tiofosfonato-fosfato mezclados tales como **1k**. Los compuestos en cada paso pueden purificarse mediante técnicas estándar tales como cromatografía de columna,
15 cristalización, HPLC o SFC de fase inversa. Si es necesario, la separación de los diastereómeros de **1k** puede llevarse a cabo najo métodos estándar conocidos en la técnica tales como SFC o HPLC quirál para permitir diastereómeros simples. Observe que "A" denota carbono (también unido al hidrógeno o un
20 sustituyente) o nitrógeno.

Ejemplo 1

Síntesis de 2,9-dióxido de
(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6,13-bis(6-amino-9H-purin-9-yl)-14-fluoro-2,9-disulfaniloctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-15-ol

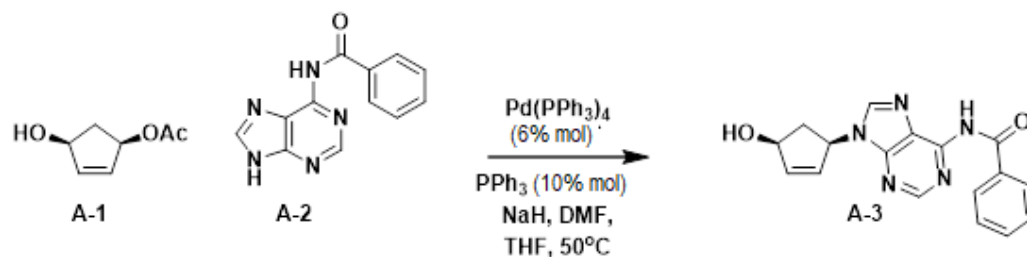
5

10

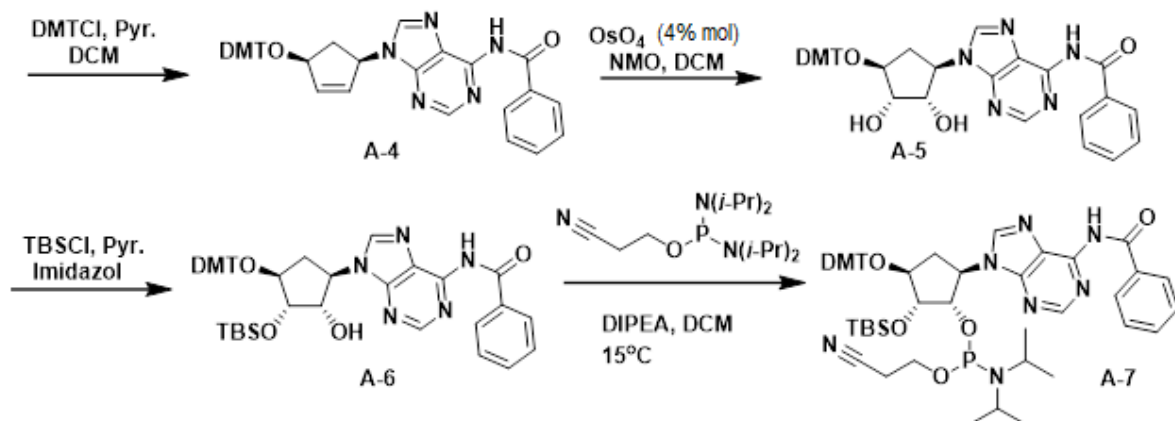


Esquema A

15



20



Paso 1: Síntesis de N-(9-((1*R*,4*S*)-4-hidroxiciclopent-2-en-1-il)-9H-purin-6-il)benzamida (A-3)

A un matraz de fondo Redondo secado en un horno (matraz A), equipado con una barra de agitación magnética y
5 purgado con N₂, se agregó **A-1** (8330 mg, 34.8 mmoles) y DMF (50 mL). A la solución se agregó NaH (60% en peso de dispersión en aceite mineral, 1530 mg, 38.3 mmoles) bajo N₂. En un segundo matraz de fondo redondo (matraz B), equipado con una barra de agitación magnética y purgado con N₂, se agregó **A-2** (4950 mg,
10 34.8 mmoles), Pd(PPh₃)₄ (2490 mg, 2.16 mmoles), PPh₃ (913 mg, 3.48 mmoles) y THF (50 mL). Después de 30 min, la solución en el matraz A se transfirió al matraz B. El matraz B entonces se colocó en un baño de aceite y se calentó a 50°C bajo N₂ durante 12 horas. La mezcla de reacción se extinguió con H₂O (100 mL)
15 y se transfirió a un embudo de separación con EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (100 mL x 2) y DCM/MeOH (5:1, 100 mL x 5). Los extractos orgánicos combinados se concentraron bajo vacío. El residuo sin purificar obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en
20 columna instantánea (240 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 9% para producir **A-3** (19.7 g, 88%) como un sólido amarillo. LCMS [M+H] = 322 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 11.18 (s,

1H), 8.79-8.73 (m, 1H), 8.45-8.38 (m, 1H), 8.05 (br d, $J=7.5$ Hz, 2H), 7.73-7.51 (m, 4H), 6.30-6.20 (m, 1H), 6.07 (br d, $J=5.4$ Hz, 1H), 5.61 (br dd, $J=3.9, 5.2$ Hz, 1H), 5.38 (d, $J=6.2$ Hz, 1H), 4.81-4.72 (m, 1H), 3.02-2.91 (m, 1H), 1.79 (td, $J=4.5, 13.8$ Hz, 1H).

Paso 2: Síntesis de N-(9-((1R,4S)-4-(bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)ciclopent-2-en-1-il)-9H-purin-6-il)benzamida (A-4)

10 En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética se agregó **A-3** (19.7 g, 61.3 mmoles) y piridina anhidra (50 mL). La solución se concentró hasta la sequedad al vacío y se secó aún más bajo alto vacío durante una hora. El matraz se purgó con N_2 seguido por la adición de
15 piridina anhidra (150 mL) y DMTCI (23.9 g, 70.5 mmoles). La reacción se agitó a $9^\circ C$ bajo N_2 durante 12 horas. La reacción se extinguió con H_2O y se transfirió a un embudo de separación con EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (200 mL X 2). Los extractos orgánicos se lavaron con
20 salmuera (100 mL x 2), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y concentraron bajo vacío. El residuo sin purificar obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna

instantánea (240 g de SiO₂, Isco, EtOAc al 100%) para producir **A-4** (29.2 g, 76%) como un sólido amarillo. LCMS [M+H] = 624 observado; ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm = 8.94 (br s, 1H), 8.79 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 8.03 (br d, J=7.5 Hz, 2H), 7.64-7.59 (m, 1H), 7.57-7.47 (m, 4H), 7.44-7.36 (m, 4H), 7.35-7.28 (m, 2H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.87-6.81 (m, 4H), 5.90 (dd, J=1.5, 5.5 Hz, 1H), 5.65 (td, J=1.8, 5.5 Hz, 1H), 5.56-5.48 (m, 1H), 4.78-4.71 (m, 1H), 3.80 (d, J=1.0 Hz, 6H), 2.58-2.47 (m, 1H), 1.56 (td, J=3.6, 14.7 Hz, 1H).

10

Paso 3: Síntesis de N-(9-((1R,2S,3S,4S)-4-(bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)-2,3-dihidroxiciclopentil)-9H-purin-6-il)benzamida (A-5)

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, se agregó **A-4** (29.2 g, 46.8 mmoles), DCM (300 mL) y H₂O (18 mL). A la solución amarilla se agregó NMO (16.5 g, 140 mmoles) y OsO₄ (4% en *t*-BuOH, 20.8 g, 3.28 mmoles). La reacción se agitó a 16°C durante 5 horas. La reacción entonces se transfirió a un embudo de separación con DCM (50 mL) y se extinguió con Na₂SO₃ saturado (100 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (100 mL), se secó (Na₂SO₄), se filtró y concentró bajo vacío. El

15

20

residuo sin purificar obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (120g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 3% a MeOH/DCM al 5%) para producir **A-5** (24.9 g, 80%) como un sólido amarillo. LCMS [M+H] = 658 observado;

5 ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm = 9.09 (br s, 1H), 8.78-8.59 (m, 1H), 8.02 (br d, J=7.3 Hz, 2H), 7.93-7.85 (m, 1H), 7.60 (br dd, J=4.8, 6.3 Hz, 1H), 7.56-7.39 (m, 5H), 7.39-7.27 (m, 6H), 7.25-7.19 (m, 1H), 6.84 (br d, J=8.8 Hz, 4H), 5.69 (br s, 1H), 4.65 (br d, J=7.0 Hz, 2H), 4.16 (br d, J=1.3 Hz,

10 1H), 3.92 (br s, 1H), 3.78 (d, J=2.0 Hz, 6H), 3.72 (t, J=4.5 Hz, 2H), 2.95 (br s, 1H), 2.45-2.33 (m, 2H), 1.94-1.75 (m, 1H).

Paso 4: Síntesis de N-(9-((1R,2S,3S,4S)-4-(bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)-3-((tert-butildimetilsilil)oxi)-2-

15 **hidroxiciclopentil)-9H-purin-6-il)benzamida (A-6)**

En un matraz de fondo redondo secado en un horno, equipado con una barra de agitación magnética y enfriado bajo N₂, se agregó **A-5** (4.12 g, 6.264 mmoles), DCM (200 mL), Et₃N (3170 mg, 31.3 mmoles) y TBSOTf (2.49 mg, 9.4 mmoles) a 0°C

20 por goteo. El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó bajo N₂ a 20°C durante 12 horas. En esta etapa, el material de partida todavía se detectó mediante LCMS y una alícuota

adicional de TBSOTf (2485 mg, 9.4 mmoles) se agregó a la mezcla a 0°C por goteo. El baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción se agitó bajo N₂ a 20°C durante 12 horas. La reacción se extinguió con MeOH (15 mL). La solución se transfirió a un
 5 embudo de separación con DCM y se diluyó aún más con H₂O. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con una porción de H₂O, una porción de salmuera, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y concentraron bajo vacío. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (40
 10 g de SiO₂, Isco, EtOAc/Pet al 40%. Éter en EtOAc/éter de petróleo al 50%) para producir **A-6** (1.29 g, 26%) como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 772 observado; ¹H NMR (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm = 8.95 (s, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.05-7.98 (m, 2H), 7.64-7.57 (m, 1H), 7.56-7.47 (m, 3H), 7.56-7.47 (m,
 15 1H), 7.44-7.34 (m, 4H), 7.33-7.28 (m, 2H), 7.26-7.19 (m, 1H), 6.88-6.79 (m, 4H), 4.76 (dd, J=5.6, 11.7 Hz, 1H), 4.70-4.62 (m, 1H), 4.38 (br s, 1H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.78 (d, J=1.3 Hz, 6H), 2.98 (d, J=8.8 Hz, 1H), 2.17 (s, 1H), 0.99 (br dd, J=4.6, 15.2 Hz, 1H), 0.93-0.85 (m, 9H), 0.14 (s, 3H), 0.03 (s,
 20 3H).

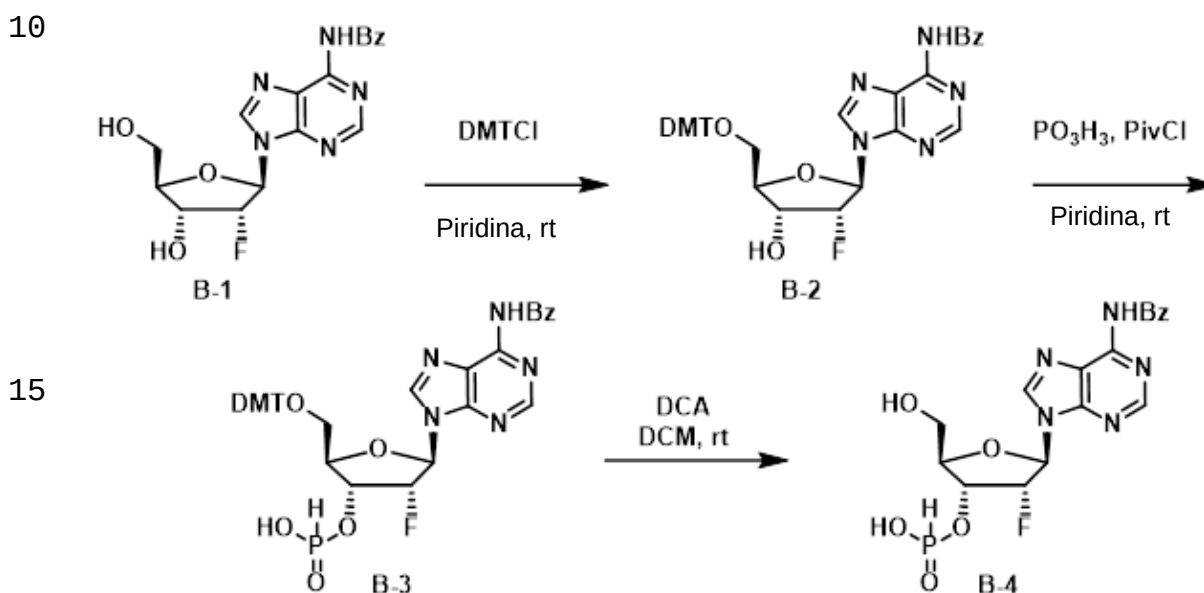
Paso 5: Síntesis de (1S,2R,3S,5R)-5-(6-benzamido-9H-

purin-9-il)-3-(bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)-2-((ter-butildimetilsilil)oxi)ciclopentil(2-cianoetil)diisopropilfosforamidita (A-7)

En un matraz de fondo redondo secado en un horno,
 5 equipado con una barra de agitación magnética y purgado con N₂,
 se agregó **A-6** (8.80 g, 11.4 mmoles), DIPEA (14.7 g, 114 mmoles)
 y DCM anhidro (320 mL). A la solución se agregó 3-
 ((cloro(diisopropilamino)fosfanil)oxi)propanonitrilo (13.5 g,
 57.0 mmoles) a 15°C bajo N₂. La reacción se agitó a 15°C durante
 10 4 horas. La reacción se extinguió con NaHCO₃ saturado (120 mL)
 y se transfirió a un embudo de separación con DCM (50 mL). Las
 fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (100
 mL), se secaron (Na₂SO₄) y concentraron bajo vacío. El residuo
 sin purificar obtenido de este modo se purificó mediante
 15 cromatografía en columna instantánea (120 g de SiO₂, Isco,
 EtOAc/éter de petróleo al 40% a EtOAc/éter de petróleo al 60%)
 dos veces para producir **A-7** (8.57 g, 77%) como un sólido
 amarillo claro. LCMS [M+H] = 972 observado; ¹H NMR (400 MHz,
 CLOROFORMO-d) δ ppm = 8.91 (d, J=11.3 Hz, 1H), 8.79 (d, J=4.0
 20 Hz, 1H), 8.22-8.13 (m, 1H), 8.08-7.98 (m, 2H), 7.65-7.58 (m,
 1H), 7.52 (q, J=7.2 Hz, 4H), 7.44-7.35 (m, 4H), 7.31 (dt,
 J=1.4, 7.5 Hz, 2H), 7.25-7.21 (m, 1H), 6.84 (td, J=2.0, 9.0

Hz, 4H), 5.15-5.00 (m, 1H), 4.99-4.79 (m, 1H), 4.31-3.98 (m, 2H), 3.78 (s, 6H), 3.76-3.57 (m, 2H), 3.50-3.34 (m, 2H), 2.60 (t, $J=6.3$ Hz, 1H), 2.52-2.25 (m, 2H), 1.33-1.14 (m, 1H), 1.11 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.02 (t, $J=7.4$ Hz, 6H), 0.85 (s, 9H), 0.79 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 0.11 (d, $J=11.8$ Hz, 3H), -0.06 (d, $J=0.8$ Hz, 3H); ^{31}P NMR (162 MHz, CDCl_3 -d) δ ppm = 149.67 (s, 1P), 147.94 (s, 1P).

Esquema B



Paso 1: Síntesis de N-(9-((2R,3R,4R,5R)-5-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-3-fluoro-4-hidroxitetrahidrofuran-2-il)-9H-purin-6-il)benzamida (B-2)

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, se agregó N-(9-((2R,3R,4R,5R)-3-fluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-9H-purin-6-il)benzamida **B-1** (42.00 g, 37.50 mmoles) 5 comercialmente disponible y se co-evaporó tres veces con piridina anhidra. El residuo se re-disolvió en piridina (70 mL) seguido por la adición de DMTCI (13.98 g, 41.25 mmoles) a 0°C. La mezcla se agitó a 25°C durante 12 h. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se 10 diluyó con DCM (200 mL) y se lavó con tres porciones (200 mL) de NaHCO₃ saturado acuoso. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ (25.00 g), se filtró y concentró bajo presión reducida. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (SiO₂, Éter de petróleo/EtOAc al 85%, a 15 EtOAc al 100%) para producir **B-2** (68.7 g, 85%) como un sólido blanco que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS [M+H] = 676 observado.

Paso 2: Síntesis del fosfonato ácido de (2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-2-((bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo (B-3) 20

Nota: Se llevaron a cabo seis reacciones en paralelo.

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, se agregó ácido fosfónico (21.8 g, 266 mmoles) y se co-evaporó tres veces con piridina anhidra (60 mL). El residuo se disolvió en piridina anhidra (180 mL) con calentamiento leve (30°C). A la solución se agregó **B-2** (12.0 g, 17.8 mmoles) a 30°C después de lo cual la solución obtenida de este modo se enfrió a 0°C. A esta mezcla se agregó cloruro de 2,2-dimetilpropanoilo (21.4 g, 177 mmoles) por goteo a 0°C.

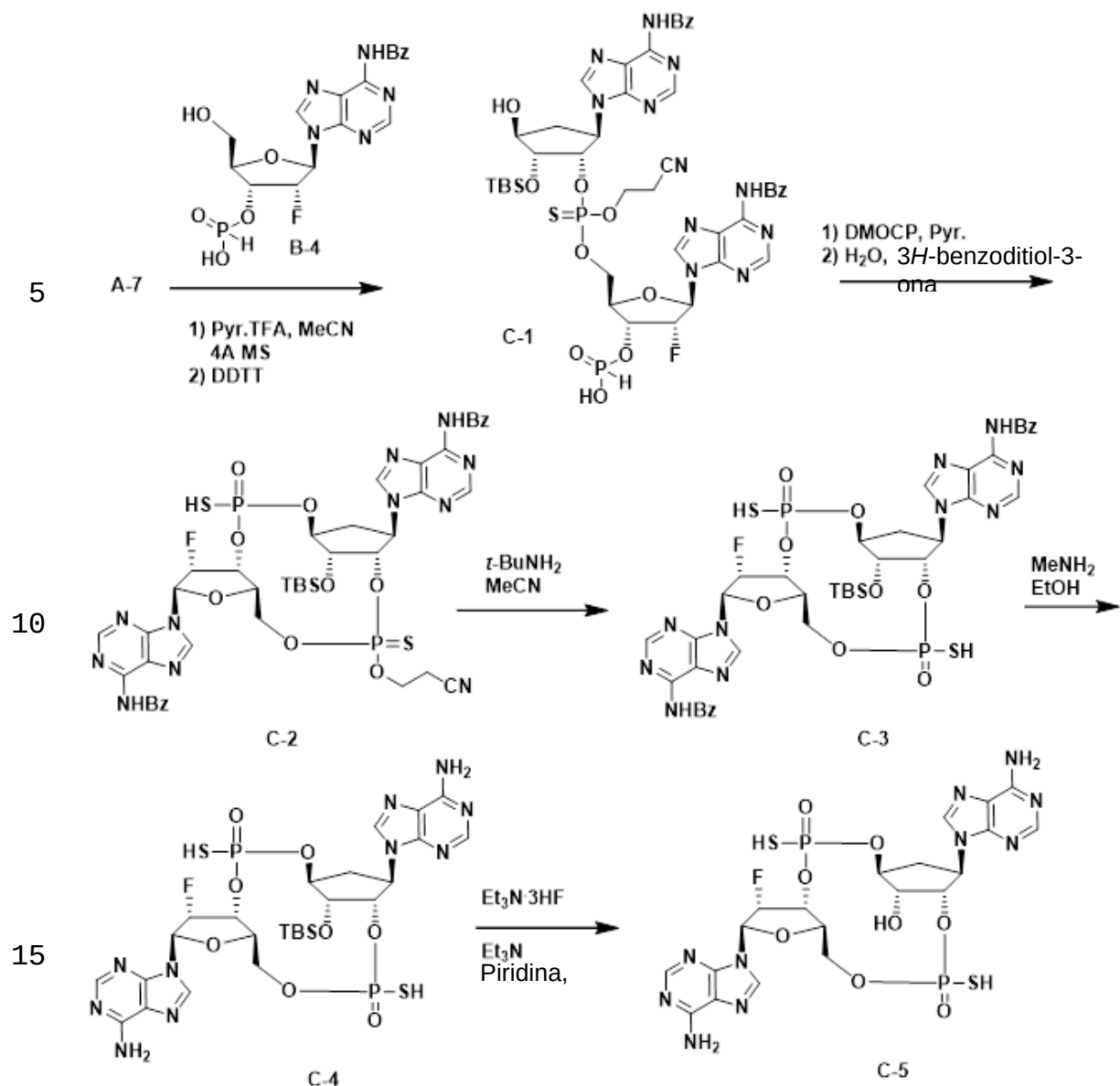
La mezcla se calentó a 30°C y se agitó durante 12 h. Las seis reacciones se combinaron. La mezcla de reacción se extinguió con TEAB 1 M (1200 mL) y se transfirió a un embudo de separación. La solución se extrajo con tres porciones (1000 mL) de EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con TEAB 0.5 M (500 mL), salmuera (500 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ (35.0 g), se filtraron y concentraron bajo vacío. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía de columna instantánea (SiO₂, MeOH/DCM al 2% a MeOH/DCM al 5%, TEA al 1%) para eliminar las impurezas mayores y producir **B-3** (100.0 g, sin purificar) como un sólido blanco que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional. LCMS [M-H] = 738 observado.

Paso 3: Síntesis del fosfato ácido de (2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ilo (B-4)

Nota: Se llevaron a cabo cinco reacciones en paralelo. En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, se agregó **B-3** (20.0 g, 27.0 mmoles) y una solución de DCA (17.4 g, 135 mmoles) y se agregó en DCM (200 mL). La mezcla se agitó a 25°C durante 0.5 h. Las cinco reacciones se combinaron. El producto sólido en la mezcla de reacción se filtró y trituroó con DCM (300 mL) para producir **B-4** (40.0 g, 63%) como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 438 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 11.95-10.65 (m, 1H), 8.78 (s, 1H), 8.73 (s, 1H), 8.05 (d, J=7.3 Hz, 2H), 7.71-7.61 (m, 1H), 7.61-7.49 (m, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.46 (dd, J=3.1, 16.6 Hz, 1H), 5.82 (td, J=3.4, 51.7 Hz, 1H), 5.30-5.16 (m, 1H), 4.31-4.20 (m, 1H), 3.80 (dd, J=2.8, 12.2 Hz, 1H), 3.67 (dd, J=3.7, 12.5 Hz, 1H); ¹⁹F NMR (377 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = -203.02 (s, 1F); ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 4.20 (s, 1P).

20

Esquema C



Paso 1: Síntesis de fosfonato ácido de (2*R*,3*R*,4*R*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((((((1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-5-(6-benzamido-9*H*-purin-9-il)-2-((ter-butildimetilsilil)oxi)-3-hidroxiciclopentil)oxi)(2-cianoetoxi)fosforotioil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo (C-1)

En un matraz de fondo redondo equipado con una barra de agitación magnética, se agregó el H-fosfonato **B-4** (1.0 g, 2.29 mmoles) y trifluoroacetato de piridinio (1.77 g, 9.15 mmoles). Los sólidos se tomaron en MeCN anhidro (10 mL x 2) y se concentraron bajo vacío. El residuo se re-disolvió en MeCN anhidro (30 mL) y se agregaron tamices moleculares de 3A (4.0 g). La solución se agitó durante 30 minutos en el cual se agregó el punto de fosforamidita **A-7** (2.67 g, 2.74 mmoles). La reacción se agitó a rt durante 1.5 horas durante las cuales se obtuvo una solución homogénea. A la reacción se agregó DDTT (493 mg, 2.40 mmoles) y la reacción se dejó agitarse a rt durante la noche. La reacción se filtró y los sólidos se lavaron con MeOH/DCM (1:1). El filtrado se concentró bajo vacío seguido de la trituración con *n*-hexano/TBME (1:1). El residuo sin purificar obtenido de este modo se purificó mediante cromatografía líquida preparatoria de alto desempeño (Phenomenex Synergi Max-RP de 150 x 50 mm x 10 μ m, MeCN/H₂O al 20% con NH₄HCO₃ 10 mM a MeCN/H₂O al 50% con NH₄HCO₃ 10 mM, 120 mL/min) para producir **C-1** (390 mg, 13%) como un sólido blanco.

LCMS [M+H] = 1038 observado; ³¹P NMR (162MHz, METANOL-d₄) δ ppm = 68.24 (s, 1P), 67.74 (s, 1P), 2.95 (s, 1P), 2.71 (s, 1P).

Paso 2: Síntesis de N,N'-{[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-{[ter-butil(dimetil)silil]oxi}-9-(2-cianoetoxi)-14-fluoro-2-óxido-2-sulfanil-9-sulfidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6,13-diil]bis(9H-purin-9,6-diil)}dibenzamida (C-2)

En un matraz de fondo redondo secado en un horno, equipado con una barra de agitación magnética y enfriado bajo N₂, se agregó **C-1** (320 mg, 0.308 mmoles) y piridina anhidra (10 mL). A la solución se agregó DMOCP (1.02 g, 5.55 mmoles) a rt bajo N₂. La reacción se agitó bajo N₂ durante una hora en cuyo punto se hubo consumido el material de partida. A la reacción se agregó H₂O (333 mg, 18.5 mmoles) y 3H-1,2-benzoditiol-3-ona (130 mg, 0.770 mmoles) a rt bajo N₂. La reacción se agitó bajo N₂ a rt durante 30 minutos. La reacción se extinguió con NaHCO₃ saturado y se transfirió a un embudo de separación con EtOAc. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con 2 porciones de EtOAc (60 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄), filtraron y concentraron bajo vacío. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía en columna instantánea (SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 9% a MeOH/DCM al 11%). El material obtenido se purificó aún más mediante cromatografía preparatoria de capa

fina (SiO₂, MeOH/DCM al 11%) para producir **C-2** (135 mg, 41%)
 como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 1052 observado; ³¹P NMR
 (162MHz, METANOL-d₄) δ ppm = 68.90 (s, 1P), 68.33 (s, 1P),
 64.75 (s, 1P), 64.68 (s, 1P), 55.42 (s, 1P), 53.26 (s, 1P),
 5 52.98 (s, 1P).

**Paso 3: Síntesis de N,N'-{[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-
 15-{[ter-butil(dimetil)silil]oxi}-14-fluoro-2,9-dióxido-2,9-
 disulfaniloctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-
 10 d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6,13-diil]bis(9H-
 purin-9,6-diil)}dibenzamida (**C-3**)**

A un matraz que contenía **C-2** (130 mg, 0.124 mmoles)
 se agregó acetonitrilo (9 mL). A la suspensión resultante se
 agregaron 4.5 mL de *ter*-butilamina. La mezcla de reacción se
 15 volvió una solución y se agitó a temperatura ambiente durante
 20 min. La reacción se concentró para dar **C-3** sin purificar
 como sólido blanco, utilizado para el siguiente paso.

LCMS [M+H] = 999.21

³¹P NMR (162 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 57.61 (s, 1 P)
 20 57.20 (s, 1 P) 55.15 (s, 1 P) 54.77 (s, 1 P) 54.00 (s, 1 P)
 53.94 (s, 1 P) 52.30 (s, 1 P) 52.04 (s, 1 P)

**Paso 4: Síntesis de 9,9'-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-
 {[ter-butil(dimetil)silil]oxi}-14-fluoro-2,9-dióxido-2,9-
 disulfaniloctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-
 d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6,13-diil]bis(9H-
 5 purin-6-amina) (C-4)**

El material sin purificar **C-3** (123 mg, 0.123 mmoles) se agregó a 6 mL de metilamina al 33% en EtOH (0.02 M). La solución se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró para dar **C-4** sin purificar que
 10 se utilizó para el siguiente paso.

LCMS [M+H] = 791.15

³¹P NMR (162 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 58.63 (br. s., 1 P) 55.08 (br. s., 1 P) 54.57 (br. s., 1 P) 52.50 (s, 1 P) 52.26 (s, 1 P)

15 ¹⁹F NMR (376 MHz, METANOL-d₄) δ ppm -200.04 (s, 1 F) -200.59 (s, 1 F) -201.31 (br. s., 1 F)

**Paso 5: Síntesis de 2,9-dióxido de (4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6,13-bis(6-amino-9H-purin-9-
 20 il)-14-fluoro-2,9-disulfaniloctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-
 d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-15-ol (C-5)**

El material **C-4** (97.4 mg, 0.123 mmoles) se co-evaporó

tres veces con 4 mL de piridina/ Et_3N (v/v, 3/1). El material se disolvió en 1.13 mL de piridina (0.1 M), se cargó con N_2 , se agregaron trietilamina (0.102 mL, $c=0.1$ M) y trihidrofluoruro de trietilamina (993 mg, 6.16 mmoles). La
 5 mezcla de reacción resultante se calentó a 50°C durante la noche. La mezcla de reacción se extinguió con una solución de NaHCO_3 a pH 6. Los componentes volátiles se eliminaron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna C18 de 21.2 x 150 mm, 5u)
 10 se eluyó con MeCN al 10-40% en NH_4HCO_3 acuoso (10 mM) para dar dos compuestos diastereoméricos como un sólido blanco y una mezcla de los otros diastereómeros. Los otros dos diastereómeros se separaron en una columna Phenomenex Luna Omega, 5u Polar, C18 de 21.2 x 150 mm eluida con MeCN al 8-40%
 15 en NH_4HCO_3 acuoso (10 mM).

Pico 1, 13.76 mg, 15.8%;

LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 677.00$

^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 8.42 (s, 1 H) 8.34 (s, 1 H) 8.30 (s, 1 H) 7.90 (s, 1 H) 6.49 (d, $J=16.51$ Hz, 1 H) 6.27 (dd, $J=49.34, 4.28$ Hz, 1 H) 5.36-5.46 (m, 1 H)
 20 5.10-5.24 (m, 2 H) 4.65-4.69 (m, 1 H) 4.62 (br. s., 1 H) 4.54 (d, $J=8.93$ Hz, 1 H) 4.34 (d, $J=12.84$ Hz, 1 H) 4.15 (dd, $J=12.29,$

5.69 Hz, 1 H) 2.99-3.11 (m, 1 H) 2.28 (dd, J=15.96, 6.05 Hz, 1 H)

^{31}P NMR (162 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 56.18 (br. s., 1 P) 50.55 (s, 1 P)

5 ^{19}F NMR (376 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm -200.13 (s, 1 F)

Pico 2, 9.97 mg, 9%;

LCMS [M+H] = 677.00

^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 8.39 (s, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 7.85 (s, 1 H) 6.47 (d, J=16.63 Hz, 1 H) 5.74 (m, 1 H) 5.32-5.42 (m, 1 H) 5.11-5.27 (m, 2 H) 4.68-4.73 (m, 1 H) 4.60 (br. s., 1 H) 4.51 (d, J=9.05 Hz, 1 H) 4.31 (d, J=11.98 Hz, 1 H) 4.07-4.15 (m, 1 H) 3.02-3.11 (m, 1 H) 2.31 (dd, J=15.96, 6.42 Hz, 1 H)

15 ^{31}P NMR (162 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 57.60 (s, 1 P) 53.47 (s, 1 P)

^{19}F NMR (376 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm -199.70 (s, 1 F)

Pico 3, 15.25 mg, 17.5%;

20 LCMS [M+H] = 677.00

^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 8.27 (s, 1 H) 8.26 (s, 1 H) 8.22 (s, 1 H) 7.73 (s, 1 H) 6.45 (d, J=16.75

Hz, 1 H) 6.27 (dd, J=50.25, 3.79 Hz, 1 H) 5.46-5.53 (m, 1 H)
 5.04-5.18 (m, 2 H) 4.93-5.09 (m, 1 H) 4.61-4.67 (m, 2 H) 4.55
 (d, J=9.66 Hz, 1 H) 4.41 (d, J=12.23 Hz, 1 H) 4.06-4.14 (m, 1
 H) 2.94-3.09 (m, 1 H) 2.20 (dd, J=15.47, 6.30 Hz, 1 H)

5 ^{31}P NMR (162 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 51.67 (br.
 s., 1 P) 50.40 (s, 1 P)

^{19}F NMR (376 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm -200.23
 (s, 1 F)

Pico 4, 5.73 mg, 6.6%;

10 LCMS (ES, m/z): 677.00 [M+H]

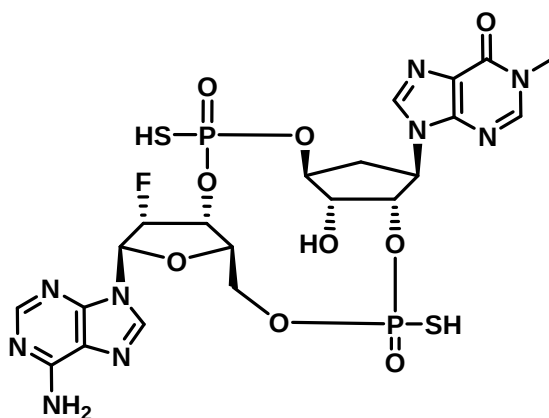
^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 8.26 (s, 1
 H) 8.24 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 7.74 (s, 1 H) 6.44 (d, J=17.24
 Hz, 1 H) 5.73 (m., 1 H) 5.41-5.51 (m, 1 H) 5.05-5.20 (m, 2 H)
 4.70 (m, 1 H) 4.61 (br. s., 1 H) 4.51 (d, J=8.19 Hz, 1 H) 4.38
 15 (d, J=11.86 Hz, 1 H) 4.01-4.16 (m, 1 H) 3.02 (m, 1 H) 2.15-
 2.29 (m, 1 H)

^{31}P NMR (162 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm 51.91 (s,
 1 P) 51.56 (s, 1 P)

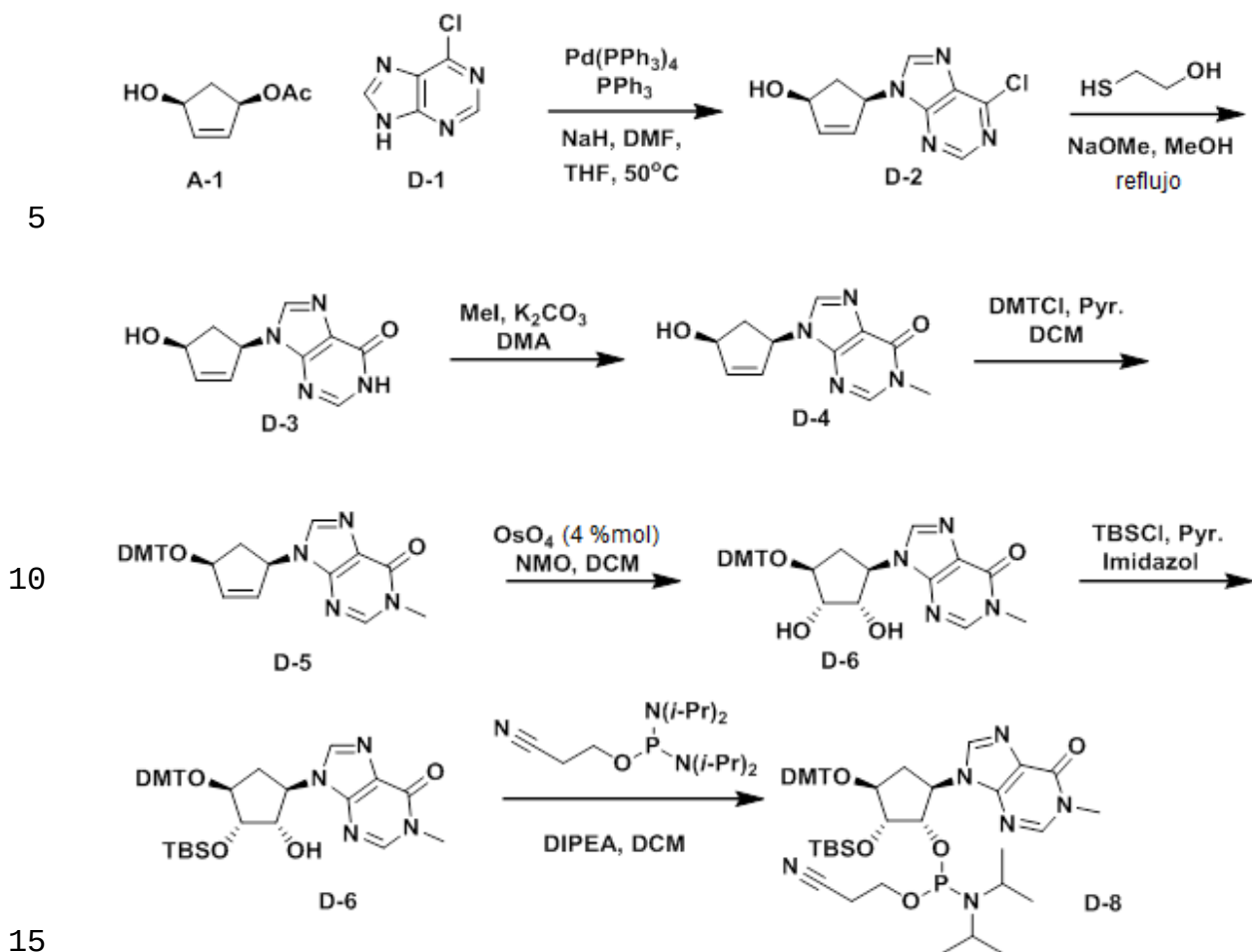
20 ^{19}F NMR (376 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ ppm -199.85
 (s, 1 F)

Ejemplo 2

9 - [(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*) - 13 - (6-amino-9*H*-
 purin-9-il) - 14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-
 disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
 5 1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona



Esquema D



Paso 1: Síntesis de (1S,4R)-4-(6-cloro-9H-purin-9-il)ciclopent-2-en-1-ol (D-2)

Una mezcla de **A-1** (1500 mg, 11 mmoles), $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (610 mg, 0.53 mmoles) y PPh_3 (277 mg, 1.06 mmoles), en THF (6 mL) se sometió a burbujeo con N_2 durante 15 min (matraz A). En un matraz separado (matraz B), una suspensión de **D-1** en una mezcla

de THF (30 mL) y DMA (5 mL) se sometió a burbujeo con N₂ durante 15 min, después se agregó NaH (60% en peso de dispersión en aceite mineral, 506 mg, 12.7 mmoles). Después de 1.5 hr, el contenido del matraz A se transfirió al matraz B (enjuagado con 4 mL de THF) y la reacción se calentó a 50°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró; el residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con ácido cítrico acuoso y salmuera. Las fases acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc (2x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0.5%) para producir **D-2** (1.45 g, 58%) como un sólido amarillo espumoso. LCMS [M+H] = 237 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm = 8.79 (s, 1 H) 8.60 (s, 1 H) 6.24 (dt, *J*=5.53, 1.94 Hz, 1 H) 6.00-6.11 (m, 1 H) 5.60 (td, *J*=5.14, 1.96 Hz, 1 H) 5.30 (d, *J*=6.24 Hz, 1 H) 4.65-4.81 (m, 1 H) 2.94 (ddd, *J*=14.00, 8.13, 7.34 Hz, 1 H) 1.80 (dt, *J*=14.03, 4.48 Hz, 1 H).

Paso 2: Síntesis de 9-[(1*R*,4*S*)-4-hidroxiciclopent-2-en-1-il]-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (D-3**)**

A una solución de **D-2** (1.45 g, 7.03 mmoles) en MeOH (50 mL) se agregó mercaptoetanol (1.97 mL, 28.1 mmoles) seguido

por metóxido de sodio (1.52 g, 28.1 mmoles). Después de someter a reflujo durante 8 hrs, el calor se apagó y la reacción se dejó reposar durante la noche. La reacción se concentró y se utilizó directamente en el siguiente paso. LCMS [M+H] = 219
 5 observado.

Paso 3: Síntesis de 9-[(1*R*,4*S*)-4-hidroxiciclopent-2-en-1-il]-1-metil-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (D-4**)**

A una solución de **D-3** (se utilizó sin purificar del
 10 paso previo) en DMF (47 mL) se agregó K₂CO₃ (3.39 g, 24.5 mmoles) seguido por yoduro de metilo (0.655 mL, 10.5 mmoles). Después de agitar durante la noche, se agregaron otros 2 eq de yoduro de metilo (0.873 mL, 14.0 mmoles). Después de 1 hr, la reacción se concentró. El residuo se suspendió en DCM y se
 15 filtró para eliminar sólidos. El licor madre se concentró y purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO₂, Isco, NH₃ 7N en MeOH/DCM al 0-10%) para producir **D-4** (1.17 g, 72%) como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 233 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ ppm = 8.39 (s, 1H), 8.00 (s, 1H), 6.19
 20 (td, *J*=2.0, 5.5 Hz, 1H), 6.05-5.90 (m, 1H), 5.41 (dt, *J*=2.0, 5.2 Hz, 1H), 5.26 (d, *J*=6.4 Hz, 1H), 4.76-4.66 (m, 1H), 3.50 (s, 3H), 2.89 (ddd, *J*=7.3, 8.2, 13.9 Hz, 1H), 1.68 (td, *J*=4.5,

13.9 Hz, 1H).

Paso 4: Síntesis de 9-{(1*R*,4*S*)-4-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi]ciclopent-2-en-1-il}-1-metil-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (D-5)

El compuesto **D-4** (1.17 g, 5.04 mmoles) se co-evaporó con piridina anhidra (3x). El residuo se disolvió por última vez en piridina anhidra (34 mL), se agregó DMTCI (1.96 g, 1.15 mmoles) y se agitó durante la noche. La piridina se retiró al vacío, después el residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con agua y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea (80 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0.5%) para producir **D-5** (2.50 g, 93%) como un sólido amarillo. LCMS [M+H] = 535 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ ppm = 8.36 (s, 1 H) 7.98 (s, 1 H) 7.44 (d, *J*=8.07 Hz, 2 H) 7.28-7.36 (m, 6 H) 7.19-7.29 (m, 1 H) 6.91 (d, *J*=8.31 Hz, 4 H) 5.97 (d, *J*=5.62 Hz, 1 H) 5.46 (d, *J*=5.50 Hz, 1 H) 5.24 (br. s., 1 H) 4.60 (br. s., 1 H) 3.74 (s, 6 H) 3.50 (s, 3 H) 2.34-2.45 (m, 1 H) 1.54 (dt, *J*=13.72, 4.69 Hz, 1 H).

Paso 5: Síntesis de 9-{(1*R*,2*S*,3*S*,4*S*)-4-[bis(4-

metoxifenil)(fenil)metoxi]-2,3-dihidroxiciclopentil]-1-metil-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (D-6)

A una solución de **D-5** (2.50 g, 4.68 mmoles) en DCM (31.2 mL) se agregó agua (3.12 mL), NMMO (1.64 g, 14.0 mmol) y
 5 OsO₄ (2.5% en peso en ^tBuOH, 3.33 mL, 0.327 mmoles). Después de agitar durante la noche la reacción se diluyó con EtOAc, después se lavó con Na₂SO₃ saturado y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía
 10 instantánea (80 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0-8%) para producir **D-6** (2.37 g, 89%). LCMS [M+H] = 569 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ ppm = 8.34 (s, 1 H) 8.06 (s, 1 H) 7.38-7.49 (m, 2 H) 7.27-7.36 (m, 6 H) 7.19-7.26 (m, 1 H) 6.89 (dd, *J*=9.05, 2.32 Hz, 4 H) 5.01 (d, *J*=6.11 Hz, 1 H) 4.74 (d, *J*=3.79 Hz, 1 H)
 15 4.41-4.58 (m, 2 H) 3.80-3.87 (m, 1 H) 3.73 (d, *J*=2.20 Hz, 6 H) 3.56-3.62 (m, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 1.84-1.97 (m, 1 H) 1.36-1.55 (m, 1 H).

Paso 6: Síntesis de 9-[(1*R*,2*S*,3*S*,4*S*)-4-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi]-3-{*ter*-butil(dimetil)silil]oxi]-2-hidroxiciclopentil]-1-metil-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (D-7)

20

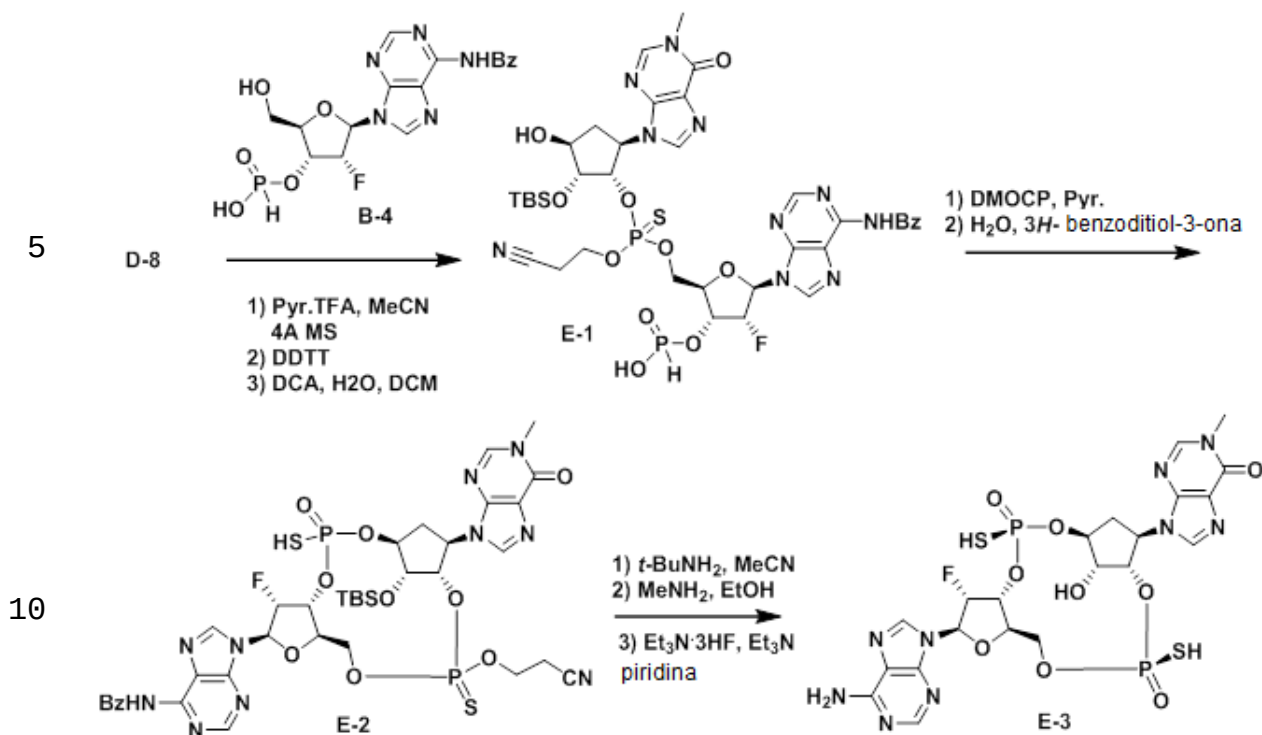
El compuesto **D-6** (1.88 g, 3.31 mmoles) se co-evaporó con piridina anhidra (3x). El residuo se disolvió en DMF (33 mL), se agregó imidazol (682 mg, 9.92 mmoles) después TBSCl (747 mg, 4.96 mmoles) y se agitó durante la noche. El DMF se retiró al vacío, después el residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con agua y salmuera. Las capas orgánicas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea (80 g de SiO₂, Isco, EtOAc al 0-100%/heptanos) para producir **D-7** (793 mg, 35%) como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 683 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ ppm = 8.34 (s, 1 H) 8.01 (s, 1 H) 7.42-7.49 (m, 2 H) 7.28-7.37 (m, 6 H) 7.20-7.27 (m, 1 H) 6.85-6.93 (m, 4 H) 5.12 (d, *J*=5.62 Hz, 1 H) 4.63-4.71 (m, 1 H) 4.46-4.56 (m, 1 H) 3.78-3.84 (m, 2 H) 3.73 (d, *J*=1.71 Hz, 6 H) 3.51 (s, 3 H) 2.08 (ddd, *J*=14.58, 10.30, 6.05 Hz, 1 H) 1.29 (dd, *J*=14.37, 6.79 Hz, 1 H) 0.82 (s, 9 H) 0.04 (s, 3 H) -0.06 (s, 3 H)

Paso 7: Síntesis de 2-cianoetil dipropan-2-ilfosforamidoita de (1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-3-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi]-2-[[*ter*-butil(dimetil)silil]oxi]-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9*H*-purin-9-il)ciclopentilo (D-8)

A una solución de **D-7** (785 g, 1.15 mmoles) en DCM

(23 mL) se agregó DIEA (601 mL, 3.45 mmoles) seguido por 3-
 ((cloro(diisopropilamino)fosfanil)oxi)propanonitrilo (385 uL,
 1.72 mmoles) por goteo. Después de una hora, se agregaron 0.75
 eq adicionales de 3-
 5 ((cloro(diisopropilamino)fosfanil)oxi)propanonitrilo por
 goteo. Después de otra hora, la reacción se diluyó con EtOAc y
 se lavó con NaHCO₃ saturado y salmuera. Las capas orgánicas se
 secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron. El residuo
 sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea
 10 (40 g de SiO₂, Isco, EtOAc al 0-100%/heptanos) para producir
D-8 (779 mg, 77%) como un sólido blanco. LCMS [M+H] = 800
 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm = 8.36 (d, *J*=1.83
 Hz, 1 H) 7.95 (d, *J*=14.18 Hz, 1 H) 7.48 (d, *J*=7.95 Hz, 2 H)
 7.33 (td, *J*=5.84, 2.51 Hz, 6 H) 7.22-7.29 (m, 1 H) 6.87-6.95
 15 (m, 4 H) 4.69-4.92 (m, 2 H) 3.85 (d, *J*=6.36 Hz, 1 H) 3.74 (s,
 6 H) 3.70 (br. s., 1 H) 3.56-3.67 (m, 1 H) 3.51 (d, *J*=6.24 Hz,
 3 H) 3.33-3.48 (m, 3 H) 2.54-2.76 (m, 2 H) 2.09-2.48 (m, 1 H)
 1.21-1.53 (m, 1 H) 0.95-1.08 (m, 9 H) 0.71-0.85 (m, 12 H) 0.06
 (d, *J*=19.32 Hz, 3 H) -0.11 (d, *J*=10.51 Hz, 3 H); ³¹P NMR (162MHz,
 20 DMSO-*d*₆, referencia interna de H₃PO₄) δ ppm = 148.32 (s, 1P),
 146.67 (s, 1P).

Esquema E



Paso 1: Síntesis de *N*-benzoil-5'-*O*-[[(1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-2-{[*ter*-butil(dimetil)silil]oxi}-3-hidroxi-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9*H*-purin-9-il)ciclopentil]oxi}(2-cianoetoxi)fosforotioil]-2'-desoxi-2'-fluoro-3'-*O*-[hidroxi(óxido)-I⁵-fosfanil]adenosina (E-1)

El compuesto **D-8** (709 mg, 0.803 mmoles) se co-evaporó con THF (3x). Se disolvió por última vez en THF (20 mL) se agregaron tamices moleculares en polvo y se agitó durante una

hora (matraz A). una mezcla de **B-4** (351 mg, 0.803 mmoles) y pyTFA (930 mg, 4.82 mol) se co-evaporó con THF (3x). Se disolvió por última vez en THF (20 mL) se agregaron tamices moleculares en polvo y se agitaron durante una hora (matraz B). El contenido
 5 del matraz B después se agregó al matraz A. Después de 30 min, se agregó DDTT (330 mg, 1.61 mmoles). Después de otros 30 min, la mezcla de reacción se concentró y el residuo se suspendió en DCM. Los tamices moleculares se filtraron y se concentró el licor madre. Al residuo disuelto en DCM (4 mL) se agregaron
 10 unas pocas gotas de agua después de una solución de DCA (662 uL, 8.03 mmoles) en DCM (4 mL) que resultó en una solución naranja brillante. Después de 30 min, se agregó piridina hasta que el color naranja se disipó. La mezcla de reacción se concentró y purificó mediante cromatografía instantánea (40 g
 15 de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0-40%, después 12 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0-40%) para producir **E-1** (227 mg, 30%). LCMS [M+H] = 950 observado; ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 67.93 (s., 1P), 65.55 (s, 1P), -0.34 (s, 1P), -0.68 (s, 1P); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ ppm = -200.59 (s, 1F), -201.37 (s, 1F).

20

Paso 2: Síntesis de *N*-{9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-15-[[*ter*-butil(dimetil)silil]oxi]-9-(2-cianoetoxi)-14-fluoro-6-

(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9*H*-purin-9-il)-2-óxido-2-sulfanil-9-sulfidooctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-13-il]-9*H*-purin-6-il}benzamida (E-2)

5 El compuesto **E-1** (227 mg, 0.239 mmoles) se co-evaporó con piridina anhidra (3x). El residuo se disolvió por última vez en piridina anhidra (12 mL) después se agregó DMOCP (221 mg, 1.20 mmoles). Después de una hora se agregaron 5 eq adicionales de DMOCP. Después de 4 horas, se agregó agua (1.0 mL) seguido por 3*H*-1,2-benzoditiol-3-ona (81 mg, 0.48 mmoles). Después de 30 min, la reacción se extinguió con NaHCO₃ saturado, se concentró y purificó mediante cromatografía instantánea (24 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0-40%) para producir **E-2** (155 mg, 67%). LCMS 4 picos con [M+H] = 964 observado; ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 67.40 (s, 1P), 67.02 (s, 1P), 63.92 (s, 1P), 63.80 (s, 1P), 49.90 (s, 1P), 49.83 (s, 1P), 49.38 (s, 1P); ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ ppm = -195.70 (s, 1F), -196.27 (s, 1F), -196.54 (s, 1F), -196.55 (s, 1F)

20 **Paso 3: Síntesis de 9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-**

***d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona (E-3)**

A una solución de **E-2** (260 mg, 0.270 mmoles) en ACN (6 mL) se agregó $t\text{BuNH}_2$. Después de 15 min, la reacción se
5 concentró y el residuo se disolvió en MeNH_2 al 33% en EtOH (6 mL). Después de 2 hrs, la reacción se concentró y el residuo se co-evaporó con piridina:TEA 3:1 (2x). El residuo se disolvió en piridina (3 mL), se agregó TEA (300 μL) seguido por trihidrofluoruro de trietilamina (2.2 mL, 13.5 mmoles) y se
10 calentó a 50°C durante la noche. Después se ajustó el pH del concentrado a ~ 6 con NaHCO_3 saturado. Se filtraron los sólidos del residuo en suspensión concentrado en DCM, después del licor madre concentrado. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna C18 de
15 21.2 x 150 mm, 5 μ) se eluyó con MeCN al 5-10% en NH_4HCO_3 acuoso (10 mM) para dar 4 diastereómeros. Los picos 3 y 4 se purificaron de nuevo utilizando las mismas condiciones.

Pico 1:

25 mg, 13%;

20 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm = 8.44 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.20 (s, 1 H) 8.10 (s, 1 H) 7.40 (br. s., 2 H) 6.29 (d, $J=17.85$ Hz, 2 H) 5.43-5.60 (m, 1 H) 5.07-5.16 (m, 1 H) 4.97

(td, $J=9.93$, 5.93 Hz, 2 H) 4.51-4.61 (m, 2 H) 4.23 (d, $J=8.56$ Hz, 1 H) 4.00 (br. s., 2 H) 3.50 (s, 3 H) 2.83 (br. s., 1 H) 1.66 (dd, $J=14.49$, 5.81 Hz, 1 H);

^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4)

5 δ ppm = 53.68 (s, 1P), 50.53 (s, 1P);

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm = -197.42 (s, 1F).

Pico 2:

32 mg, 16%;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm = 8.44 (s, 1 H) 8.22
 10 (s, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.13 (s, 1 H) 7.40 (br. s., 2 H) 6.28
 (d, $J=17.24$ Hz, 1 H) 6.02-6.20 (m, 1 H) 5.06-5.15 (m, 1 H) 4.95
 (td, $J=9.90$, 5.50 Hz, 2 H) 4.56 (br. s., 1 H) 4.43 (t, $J=5.26$
 Hz, 1 H) 4.24 (d, $J=8.44$ Hz, 1 H) 3.96-4.12 (m, 2 H) 3.49 (s,
 3 H) 2.80 (br. s., 1 H) 1.61 (dd, $J=14.92$, 5.50 Hz, 1 H);

15 ^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4)
 δ ppm = 53.33 (s, 1P), 48.21 (s, 1P);

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm = -198.33 (s, 1F).

Pico 3:

20 34 mg, 16%;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm = 8.41 (s, 1 H) 8.36
 (br. s., 1 H) 8.23 (s, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 7.40 (br. s., 2 H)

6.29 (d, $J=16.38$ Hz, 1 H) 6.04-6.22 (m, 1 H) 5.12-5.26 (m, 1 H) 4.77-4.96 (m, 2 H) 4.37-4.48 (m, 2 H) 4.28 (d, $J=8.80$ Hz, 1 H) 4.18 (d, $J=11.98$ Hz, 1 H) 4.02 (dd, $J=11.74, 5.50$ Hz, 1 H) 3.50 (s, 3 H) 2.86 (br. s., 1 H) 1.52 (dd, $J=15.22, 5.81$ Hz, 1 H);

^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4)

δ ppm = 49.42 (s, 1P), 48.13 (s, 1P);

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm = -199.27 (s, 1F).

10

Pico 4:

7 mg, 3.5%;

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm = 8.40 (s, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 8.20 (s, 1 H) 8.19 (s, 1 H) 7.38 (br. s., 2 H) 6.27 (d, $J=16.63$ Hz, 1 H) 5.40-5.60 (m, 1 H) 5.24 (d, $J=3.42$ Hz, 1 H) 5.15-5.23 (m, 1 H) 4.82-4.99 (m, 2 H) 4.52 (t, $J=6.36$ Hz, 1 H) 4.45 (br. s., 1 H) 4.26 (d, $J=9.29$ Hz, 1 H) 4.09-4.18 (m, 1 H) 3.97-4.06 (m, 1 H) 3.49 (s, 3 H) 2.85 (t, $J=16.08$ Hz, 1 H) 1.56 (dd, $J=14.67, 5.99$ Hz, 1 H);

^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4)

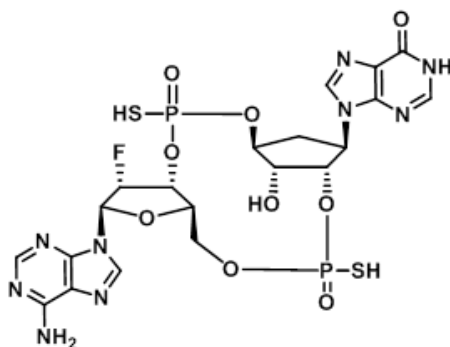
20 δ ppm = 50.54 (s, 1P), 48.91(s, 1P);

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ ppm = -198.50 (s, 1F).

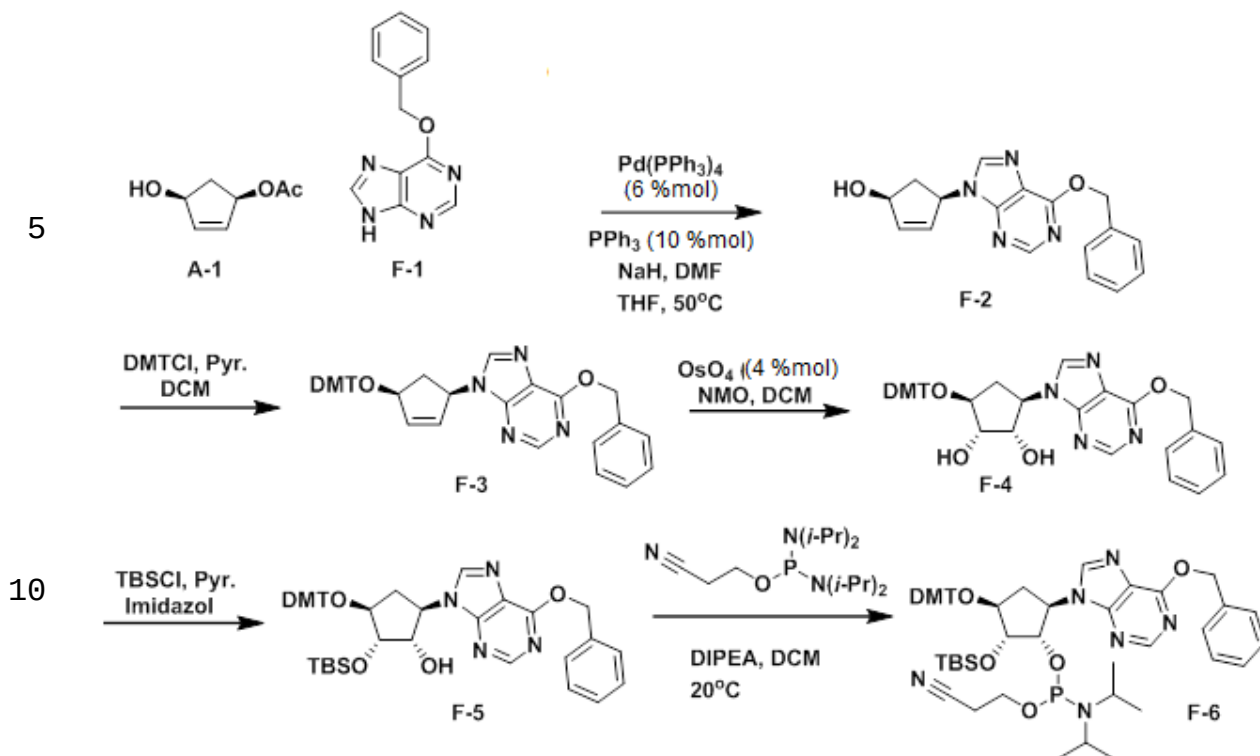
Ejemplo 3

9-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-
 purin-9-yl)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-
 disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
 5 *d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-yl]-1,9-
 dihidro-6*H*-purin-6-ona

10



Esquema F



Paso 1: Síntesis de (1S,4R)-4-(6-(benciloxi)-9H-purin-9-il)ciclopent-2-en-1-ol (F-2)

El compuesto F-2 se hace de forma similar como A-3 utilizando 6-(benciloxi)-9H-purina (F-1) en lugar de A-2 del paso 1 del Esquema A en 67% de rendimiento.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.56 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.55-7.48 (m, 2H), 7.45-7.31 (m, 3H), 6.21 (td, $J=2.0$, 5.5 Hz, 1H), 6.09-5.99 (m, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.55 (dt, $J=2.0$, 5.2 Hz, 1H), 5.36 (d, $J=6.4$ Hz, 1H), 4.74 (td, $J=1.5$, 3.1 Hz,

1H), 3.00-2.84 (m, 1H), 1.75 (td, $J=4.4$, 13.9 Hz, 1H); LCMS
[M+H] = 309.0.

Paso 2: Síntesis de 6-(benciloxi)-9-((1R,4S)-4-
5 **(bis(4-metoxifenil)(fenil)-l4-oxidaneil)ciclopent-2-en-1-il)-**
9H-purina (F-3)

El compuesto **F-3** se hace de forma similar como **A-4**
del paso 2 del **Esquema A** en 82% de rendimiento.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.54 (s, 1H), 8.29 (s,
10 1H), 7.51 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 7.47-7.35 (m, 5H), 7.35-7.28 (m,
6H), 7.26-7.20 (m, 1H), 6.90 (dd, $J=2.1$, 9.0 Hz, 4H), 6.00 (d,
 $J=6.0$ Hz, 1H), 5.63 (s, 2H), 5.48-5.42 (m, 1H), 5.38 (t, $J=6.1$
Hz, 1H), 4.61 (t, $J=5.0$ Hz, 1H), 3.73 (d, $J=1.3$ Hz, 6H), 2.48-
2.39 (m, 1H), 1.61 (td, $J=4.8$, 13.8 Hz, 1H); LCMS [M+H] =
15 610.8.

Paso 3: Síntesis de (1S,2S,3R,5S)-3-(6-(benciloxi)-
9H-purin-9-il)-5-(bis(4-metoxifenil)(fenil)-l4-
oxidaneil)ciclopentan-1,2-diol (F-4)

20 El compuesto **F-4** se hace de forma similar como **A-5**
del paso 3 del **Esquema A** en 76% de rendimiento.

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.55 (s, 1H), 8.37 (s,

1H), 7.53-7.44 (m, 4H), 7.40 (d, $J=7.3$ Hz, 3H), 7.36-7.27 (m, 6H), 7.26-7.18 (m, 1H), 6.88 (dd, $J=3.1, 8.9$ Hz, 4H), 5.63 (s, 2H), 5.04 (d, $J=6.1$ Hz, 1H), 4.77 (d, $J=3.7$ Hz, 1H), 4.68-4.55 (m, 2H), 3.86 (td, $J=2.4, 4.6$ Hz, 1H), 3.72 (d, $J=2.8$ Hz, 6H),
 5 3.59 (br. s., 1H), 2.01-1.90 (m, 1H), 1.66-1.55 (m, 1H); LCMS [M+H] =645.8.

**Paso 4: Síntesis de (1S,2S,3S,5R)-5-(6-(benciloxi)-9H-purin-9-yl)-3-(bis(4-metoxifenil)(fenil)-1,4-oxidaneil)-2-
 10 ((ter-butildimetilsilil)oxi)ciclopentan-1-ol (F-5)**

El compuesto **F-5** se hace de forma similar como **A-6** del paso 3 del **Esquema A** en 35% de rendimiento.

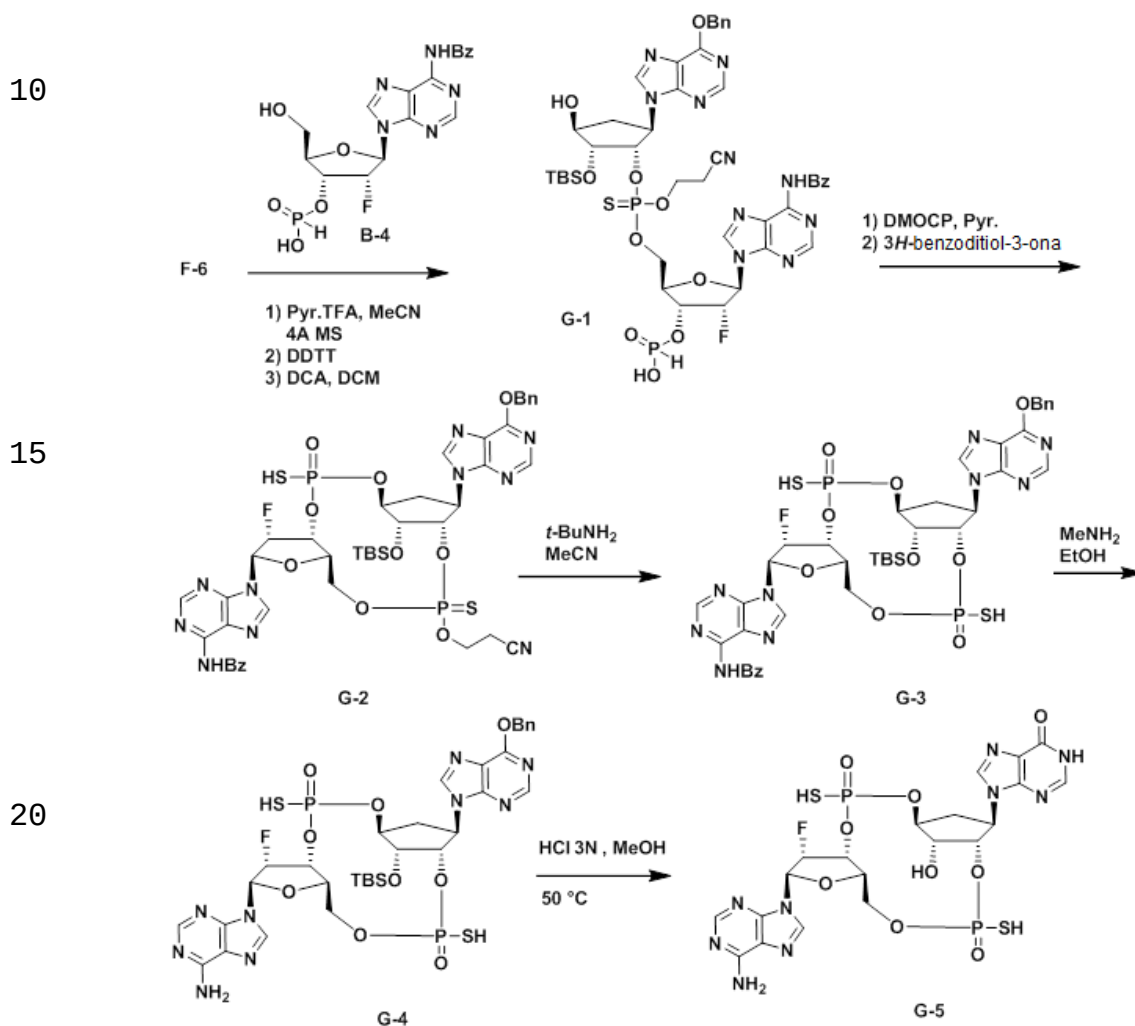
^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 8.56 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.49 (dd, $J=7.2, 14.1$ Hz, 4H), 7.40 (d, $J=7.3$ Hz, 3H),
 15 7.36-7.28 (m, 6H), 7.26-7.19 (m, 1H), 6.88 (dd, $J=3.2, 8.9$ Hz, 4H), 5.64 (s, 2H), 5.14 (d, $J=5.5$ Hz, 1H), 4.86-4.76 (m, 1H), 4.71-4.57 (m, 1H), 3.87-3.75 (m, 2H), 3.72 (d, $J=2.3$ Hz, 6H), 2.13 (ddd, $J=6.4, 10.3, 14.7$ Hz, 1H), 1.44 (dd, $J=6.9, 14.4$ Hz, 1H), 0.82 (s, 9H), 0.04 (s, 3H), -0.07 (s, 3H); LCMS [M+H]
 20 =758.8.

Paso 5: Síntesis de (1S,2R,3S,5R)-5-(6-(benciloxi)-

**9H-purin-9-yl)-3-(bis(4-metoxifenil)(fenil)-1,4-oxidaneil)-2-
((ter-butildimetilsilil)oxi)ciclopentil(2-
cianoetil)diisopropilfosforamidita (F-6)**

El compuesto **F-6** se hace de forma similar como **A-7**
del paso 3 del **Esquema A** en 73% de rendimiento. ^{31}P NMR (162MHz,
DMSO- d_6) δ = 149.11 (br. s., 1P), 147.26 (s, 1P); LCMS [M+H]
=959.0.

Esquema G



Paso 1: Síntesis de fosfonato ácido de (2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-2-((((((1S,2R,3S,5R)-5-(6-(benciloxi)-9H-purin-9-il)-2-((ter-butildimetilsilil)oxi)-3-hidroxiciclopentil)oxi)(2-cianoetoxi)fosforotioil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-ilo (G-1)

El compuesto **G-1** se hace de forma similar como **E-1** del paso 1 del **Esquema E** en 42% de rendimiento.

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ = -201.22 (s, 1F), -201.70 (s, 1F); ^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6) δ = 68.34 (s, 1P), 65.79 (s, 1P), -0.03 (s, 1P), -0.15 (s, 1P); LCMS [M+H] = 1025.

Paso 2: Síntesis de N-{9-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6-[6-(benciloxi)-9H-purin-9-il]-15-{[ter-butyl(dimetil)silil]oxi}-9-(2-cianoetoxi)-14-fluoro-2-óxido-2-sulfanil-9-sulfidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-13-il]-9H-purin-6-il}benzamida (G-2)

El compuesto **G-2** se hace de forma similar como **E-2** del paso 2 del **Esquema E** en 29% de rendimiento.

^{19}F NMR (376MHz, DMSO- d_6) δ = -194.72 (s, 1F), -196.58 (s, 1F), -196.67 (s, 1F), -196.96 (s, 1F); ^{31}P NMR (162MHz, DMSO- d_6) δ = 67.91 (s, 1P), 67.60 (br. s., 1P), 63.96 (br. s.,

1P), 63.78 (br. s., 1P), 51.01 (s, 2P), 49.48 (s, 1P), 48.94 (s, 1P); LCMS [M+H] = 1039.

**Paso 3: Síntesis de 9-
5 [(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-amino-9H-purin-9-yl)-
14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11H-
4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-yl]-1,9-
dihidro-6H-purin-6-ona (G-5)**

10 El compuesto **G-2** se trató de una forma similar como el compuesto **E-2** del paso 3 del **Esquema E** para dar **G-3** seguido por **G-4**. Finalmente, a una solución de **G-4** (156 mg, 0.18 mmoles) en MeOH (3.00 mL, c=0.06 M) se agregó HCl 3 N (300 mg, 9 mmoles, 3.00 mL, 3 M). Después de la adición de HCl se formó un
15 precipitado blanco. La suspensión se calentó a 50°C. Durante el calentamiento la reacción se volvió una solución amarilla homogénea. La agitación se continuó a 50°C durante 4.5 h. La reacción se enfrió a rt después de neutralizar a un pH 6 con NaHCO₃ (saturado). La mezcla acuosa se liofilizó, después se
20 purificó mediante HPLC preparativa para dar 4 diastereómeros.

Pico 1: 41 mg, 28% de rendimiento, 95% de, ¹H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) δ = 8.43 (s, 1H), 8.26 (s, 1H),

8.21 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 6.49 (d, $J=16.1$ Hz, 1H), 5.73-5.57 (m, 1H), 5.52-5.42 (m, 1H), 5.24-5.09 (m, 2H), 4.60 (br. s., 1H), 4.52 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 4.33 (d, $J=11.6$ Hz, 1H), 4.12 (dd, $J=6.4, 11.7$ Hz, 1H), 3.13-2.99 (m, 1H), 2.30 (dd, $J=5.6, 16.1$ Hz, 1H), Un protón no intercambiable se oscureció mediante el pico de solvente y no se tabuló. ^{19}F NMR (376MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = -199.99$ (s, 1F); ^{31}P NMR (162MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 55.96$ (br. s., 1P), 51.76 (s, 1P) (estándar interno de H_3PO_4); LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 678$.

10 Pico 2: 30 mg, 19% de rendimiento, 95% de, ^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 8.45$ (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 6.49 (d, $J=15.9$ Hz, 1H), 6.33-6.14 (m, 1H), 5.55-5.43 (m, 1H), 5.13 (dd, $J=10.9, 14.9$ Hz, 2H), 4.64 (d, $J=5.3$ Hz, 1H), 4.61 (br. s., 1H), 4.55 (d, $J=8.9$ Hz, 1H), 4.36 (d, $J=10.6$ Hz, 1H), 4.16 (dd, $J=5.9, 12.0$ Hz, 1H), 3.10-2.97 (m, 1H), 2.25 (dd, $J=5.8, 15.8$ Hz, 1H); ^{19}F NMR (376MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = -200.31$ (s, 1F); ^{31}P NMR (162MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 55.98$ (s, 1P), 50.38 (s, 1P) (estándar interno de H_3PO_4); LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 678$.

20 Pico 3: 8 mg, 7% de rendimiento, 93% de, ^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 8.30$ (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 6.47 (d, $J=16.5$ Hz, 1H), 6.33-6.15 (m,

1H), 5.60-5.50 (m, 1H), 5.18-5.06 (m, 2H), 4.63 (d, $J=2.6$ Hz, 2H), 4.55 (d, $J=9.7$ Hz, 1H), 4.43 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 4.13-4.03 (m, 1H), 3.07-2.94 (m, 1H), 2.19 (dd, $J=5.5, 15.8$ Hz, 1H); ^{19}F NMR (376MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = -200.30$ (s, 1F); ^{31}P NMR (162MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 51.72$ (br. s., 1P), 50.31 (s, 1P) (estándar interno de H_3PO_4); LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 678$.

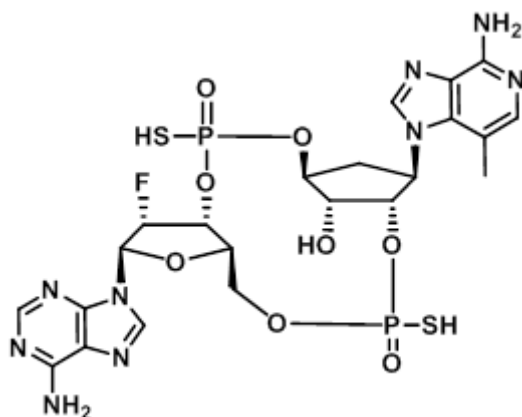
Pico 4: 8 mg, 6% de rendimiento, 93% de, ^1H NMR (400 MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 8.29$ (br. s., 1H), 8.27 (br. s., 1H), 8.19 (s, 1H), 7.65 (br. s., 1H), 6.47 (d, $J=16.0$ Hz, 1H), 5.75-5.46 (m, 2H), 5.13 (br. s., 2H), 4.69 (br. s., 1H), 4.62 (br. s., 1H), 4.53 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 4.40 (d, $J=10.8$ Hz, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.04 (br. s., 1H), 2.23 (d, $J=15.4$ Hz, 1H); ^{19}F NMR (376MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = -199.96$ (br. s., 1F); ^{31}P NMR (162MHz, ÓXIDO DE DEUTERIO) $\delta = 53.04$ (br. s., 1P)(sólo un pico observado, estándar interno de H_3PO_4); LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 678$.

Ejemplo 4

20 **2,9-dióxido de (4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-6-(4-amino-7-metil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-1-il)-13-(6-amino-9H-purin-9-il)-14-fluoro-2,9-disulfaniloctahidro-11H-4,7-**

metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-15-
ol

5



10

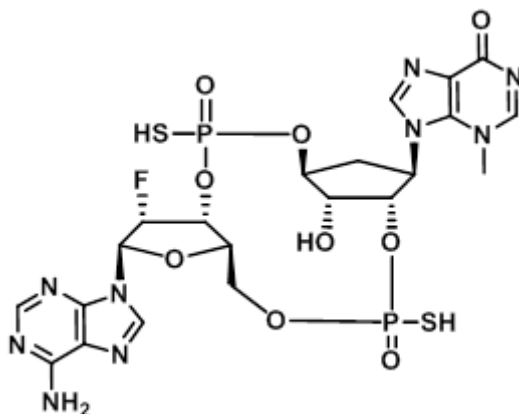
El **Ejemplo 4** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando N-(7-metil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-4-il)benzamida en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

Ejemplo 5

15

9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-3-metil-3,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

20



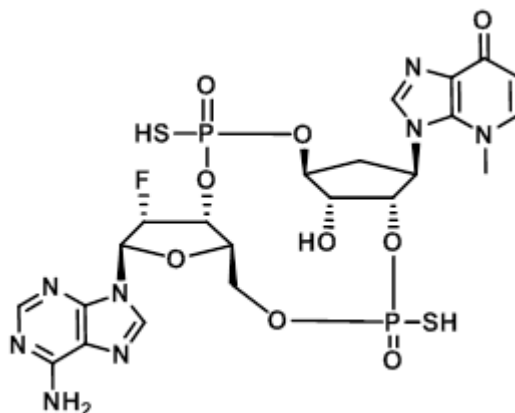
5 El **Ejemplo 5** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando 3-metil-3,9-dihidro-6H-purin-6-ona en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

Ejemplo 6

10 3-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-amino-9H-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-4-metil-3,4-dihidro-7H-imidazo[4,5-b]piridin-7-ona

15

5

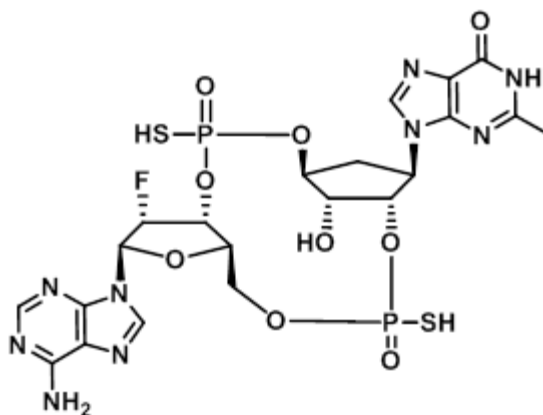


El **Ejemplo 6** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando 4-metil-3,4-dihidro-7H-imidazo[4,5-b]piridin-7-ona en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

Ejemplo 7

9-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-2-metil-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

20



El **Ejemplo 7** se hizo de forma similar como el **Ejemplo 3** utilizando 6-(benciloxi)-2-metil-9H-purina en lugar de **F-1** del paso 1 del **Esquema F**.

Pico 1- ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8.72 (s, 1H),
 5 8.26 (s, 1H), 8.25 (s, 2H), 6.42 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 5.62
 (dd, J = 50.8, 3.7 Hz, 1H), 5.46 (ddd, J = 13.1, 9.1, 2.8 Hz,
 1H), 5.28-5.14 (m, 2H), 4.80 (t, J = 6.2 Hz, 1H), 4.68 (s,
 1H), 4.46 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 4.43-4.35 (m, 1H), 4.18 (dd, J
 = 11.8, 5.7 Hz, 1H), 3.09-2.96 (m, 1H), 2.25 (s, 3H), 2.11
 10 (dd, J = 15.1, 6.0 Hz, 1H); ^{19}F NMR (376 MHz, MeOD) δ -200.3;
 ^{31}P NMR (162 MHz, MeOD) δ 59.20, 55.02; LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 692$.

Pico 2- ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8.73 (s, 1H),
 8.25 (s, 1H), 8.24 (s, 1H), 6.41 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 6.22
 15 (dd, J = 50.3, 3.6 Hz, 1H), 5.57-5.48 (m, 1H), 5.23-5.09 (m,
 2H), 4.70 (s, 1H), 4.71-4.63 (m, 1H), 4.45 (dd, J = 16.5,
 10.9 Hz, 2H), 4.23 (dd, J = 11.7, 5.6 Hz, 1H), 2.95 (ddd, J =
 11.8, 8.3, 4.7 Hz, 1H), 2.14 (dd, J = 15.1, 6.0 Hz, 1H); ^{19}F
 NMR (376 MHz, MeOD) δ -201.4; ^{31}P NMR (162 MHz, MeOD) δ 59.33,
 20 53.25; LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 692$.

Pico 3- ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8.38 (s, 1H),

8.15 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 6.29 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 6.12 (dd, $J = 50.3, 3.4$ Hz, 1H), 5.36 (t, $J = 9.4$ Hz, 1H), 5.13-4.88 (m, 2H), 4.59 (d, $J = 5.8$ Hz, 2H), 4.34 (t, $J = 10.5$ Hz, 2H), 4.18 (dd, $J = 12.4, 6.4$ Hz, 1H), 2.93-2.77 (m, 1H), 2.13 (s, 3H), 1.98 (d, $J = 15.0$ Hz, 1H); ^{19}F NMR (376 MHz, MeOD) δ -201.2; ^{31}P NMR (162 MHz, MeOD) δ 54.06, 52.75; LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 692$.

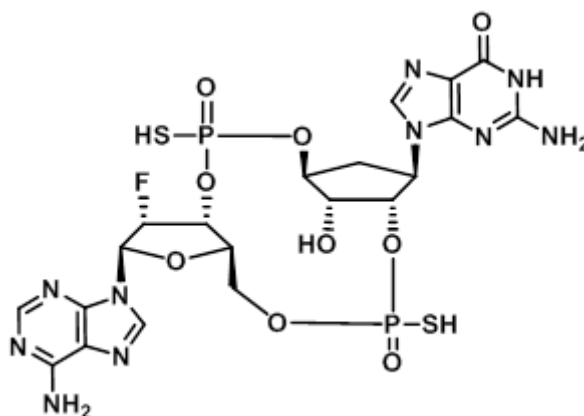
Pico 4- ^1H NMR (400 MHz, Metanol- d_4) δ 8.35 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 6.28 (d, $J = 16.5$ Hz, 1H), 5.49 (dd, $J = 51.1, 3.6$ Hz, 1H), 5.25 (td, $J = 9.2, 2.8$ Hz, 1H), 5.11 (td, $J = 10.3, 9.8, 5.7$ Hz, 1H), 4.96 (ddt, $J = 23.4, 9.3, 4.8$ Hz, 1H), 4.70 (t, $J = 6.2$ Hz, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.37-4.27 (m, 2H), 4.17 (dd, $J = 12.3, 6.8$ Hz, 1H), 2.92 (dddd, $J = 14.8, 10.4, 6.1, 3.3$ Hz, 1H), 2.19 (s, 3H), 1.92-1.86 (m, 1H); ^{19}F NMR (376 MHz, MeOD) δ -200.8; ^{31}P NMR (162 MHz, MeOD) δ 55.16, 53.92; LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 692$.

Ejemplo 8

2-amino-9-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-

d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

5



10

El **Ejemplo 8** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando N-(6-(benciloxi)-9*H*-purin-2-il)benzamida en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

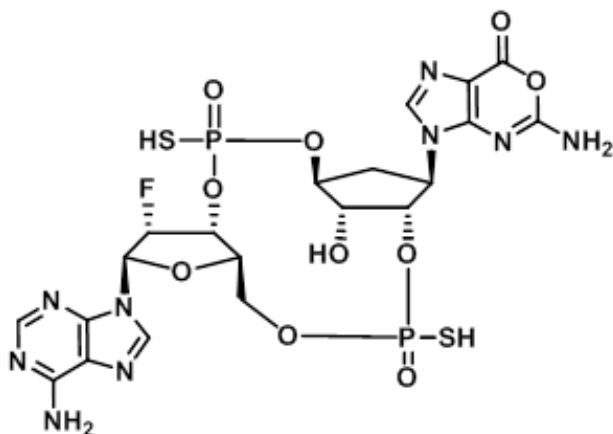
15

Ejemplo 9

20

5-amino-3-[(4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]imidazo[4,5-*d*][1,3]oxazin-7(3*H*)-ona

5

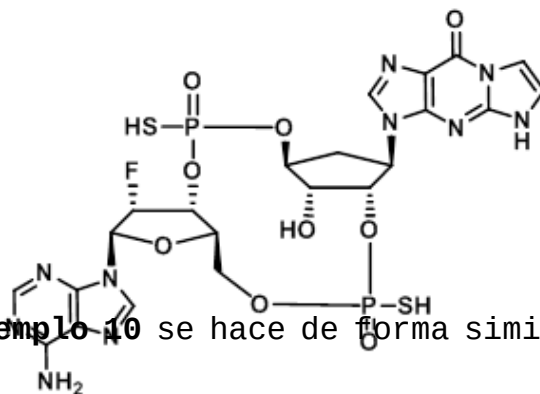


El **Ejemplo 9** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando N-(7-oxo-3,7-dihidroimidazo[4,5-d][1,3]oxazin-5-il)benzamida en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

Ejemplo 10

3-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-3,5-dihidro-9*H*-imidazo[1,2-*a*]purin-9-ona

20



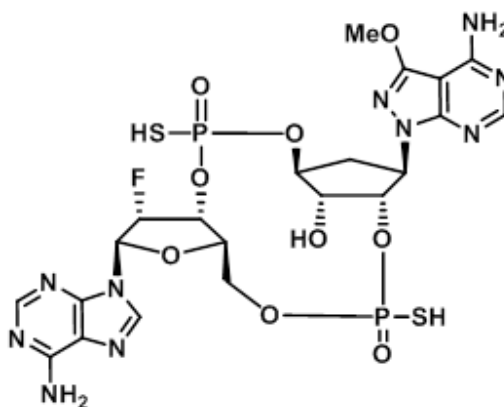
El **Ejemplo 10** se hace de forma similar como el **Ejemplo**

1 utilizando N-(6-(benciloxi)-9H-purin-2-il)benzamida en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

Ejemplo 11

5 **2,9-dióxido de (4*S*,6*R*,7*S*,11*aR*,13*R*,14*R*,14*aR*,15*R*)-6-(4-amino-3-metoxi-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-1-il)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-il)-14-fluoro-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-*d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-15-ol**

10



15

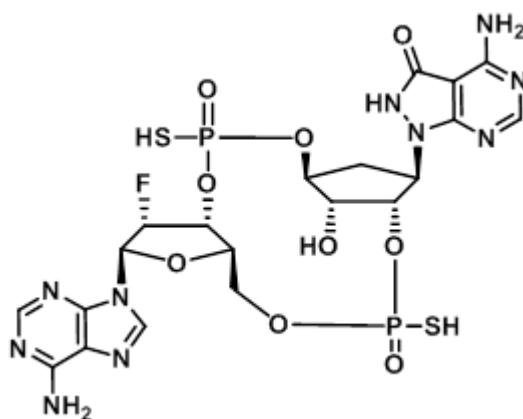
El **Ejemplo 11** se hace de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando N-(3-metoxi-1*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-4-il)benzamida en lugar de **A-2** del paso 1 del **Esquema A**.

20

Ejemplo 12

4-amino-1-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dióxido-2,9-disulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
 5 dihidro-3*H*-pirazolo[3,4-*d*]pirimidin-3-ona

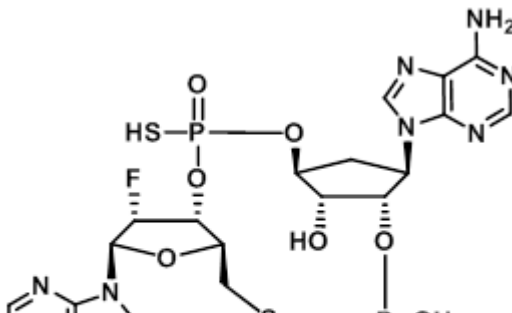
10



El **Ejemplo 12** se hace de forma similar como el **Ejemplo 11** utilizando un paso de desprotección adicional después de
 15 paso 5 del **Esquema C**.

Ejemplo 13

2,9-dióxido de (4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aS*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-
 6,13-bis(6-amino-9*H*-purin-9-yl)-14-fluoro-2-
 20 sulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,9,7,2,8]trioxatidifosfaciclotridecin-9,15-diol



5

El **Ejemplo 13** se hizo de forma similar como el **Ejemplo 1** utilizando el fosfonato ácido de (2S,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-4-fluoro-2-(mercaptometil)tetrahidrofuran-3-ilo (**H-2, Esquema H**) en lugar de **B-4**, tetrazol en lugar de triflato de piridinio (pyTFA) y tBuOOH en lugar de DDT del paso 1 del **Esquema C**.

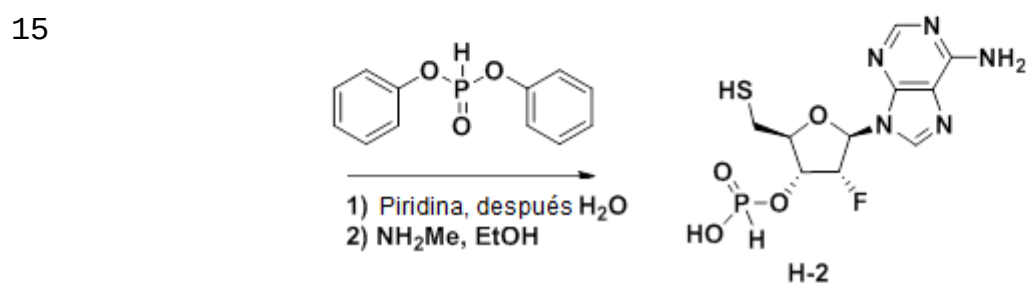
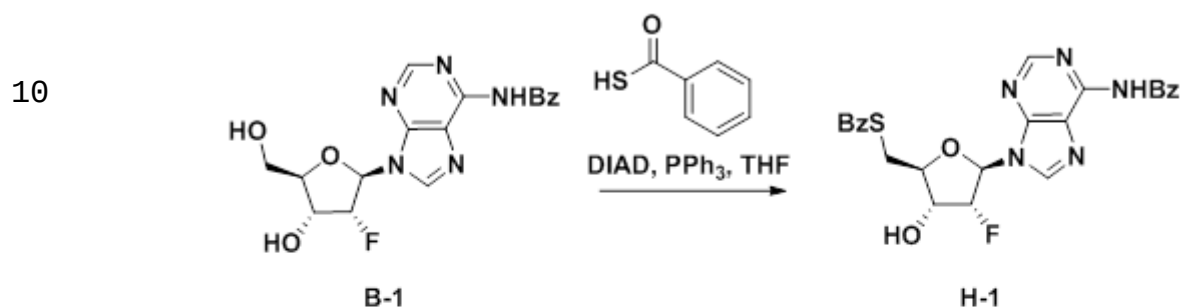
Pico 1: 30 mg, 24%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 8.33 (s, 1 H) 8.23 (s, 1 H) 8.15 (s, 1 H) 8.13 (s, 1 H) 6.15-6.26 (m, 1 H) 5.66-5.85 (m, 1 H) 5.08-5.24 (m, 2 H) 4.98-5.07 (m, 1 H) 4.77 (t, $J=7.40$ Hz, 1 H) 4.35 (br. s., 2 H) 3.42 (d, $J=14.31$ Hz, 1 H) 3.16-3.20 (m, 1 H) 2.84 (br. s., 1 H) 2.57 (q, $J=7.25$ Hz, 1 H) 1.79 (br. s., 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-*d*6, referencia interna de H_3PO_4) δ ppm 51.14 (s, 1 P) 9.89 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm -194.39 (s, 1 F).

20

Pico 2: 18 mg, 15%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6) δ ppm 8.39 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.16 (s, 1 H) 8.13 (s, 1 H) 6.05-

6.26 (m, 2 H) 5.12-5.27 (m, 2 H) 4.93-5.03 (m, 1 H) 4.62 (t, $J=6.30$ Hz, 1 H) 4.31-4.42 (m, 2 H) 3.41 (d, $J=15.04$ Hz, 1 H) 3.10 (t, $J=11.68$ Hz, 1 H) 2.85 (br. s., 1 H) 1.68 (d, $J=5.99$ Hz, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4) δ ppm 48.59 (s, 1 P) 10.51 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ ppm -195.78 (s, 1 F).

Esquema H



20 Paso 1: Síntesis de N-benzoil-5'-S-benzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-5'-tioadenosina (H-1)

A una suspensión de **B-1** (2.00 g, 5.36 mmoles) y ácido

tiobenzoico (1.11 g, 8.04 mmoles) en THF (50 mL) se agregó una solución de DIAD (1.48 mL, 7.50 mmoles) y PPh₃ (1.97 g, 7.50 mmoles) en THF (5 mL). Después de agitar durante la noche, la reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y salmuera.

5 Las capas orgánicas se secaron sobre MgO₄, se filtraron y concentraron. El residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea (80 g de SiO₂, Isco, EtOAc al 0-100%/heptanos) para producir **H-1** (2.1 g, 79%). LCMS [M+H] = 494 observado; ¹H NMR (400 MHz, DMSO- *d*₆) δ ppm = 11.21 (br. s., 1 H) 8.74 (s, 1 H) 8.65 (s, 1 H) 7.98-8.10 (m, 2 H) 7.83-7.93 (m, 2 H) 7.62-7.72 (m, 2 H) 7.50-7.61 (m, 4 H) 6.39 (dd, *J*=19.20, 2.20 Hz, 1 H) 5.97 (d, *J*=6.24 Hz, 1 H) 5.61-5.79 (m, 1 H) 4.61-4.76 (m, 1 H) 4.11-4.22 (m, 1 H) 3.67 (dd, *J*=14.06, 4.28 Hz, 1 H) 3.44 (dd, *J*=13.94, 7.21 Hz, 1 H)

15

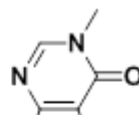
Paso 2: Síntesis de fosfonato ácido de (2S,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-4-fluoro-2-(mercaptometil)tetrahidrofuran-3-ilo (H-2)

20 **H-1** (1.00 g, 2.03 mmoles) se co-evaporó con piridina anhidra (3x), después el residuo se disolvió por última vez en piridina anhidra (20.0 mL). La solución se enfrió en un baño

de agua helada seguido por la adición de fosfonato de difenilo (770 uL, 4.05 mmoles). El baño helado se retiró y la reacción se agitó durante 2.5 horas. Se agregó otro eq de fosfonato de difenilo y después de una hora la reacción se extinguió con TEAB 1 M (evolucionó a gas). Se extrajo con DCM (4x), las capas orgánicas se secaron sobre MgO_4 seco, se filtraron y concentraron. El residuo se disolvió en $MeNH_2$ al 33% en EtOH (10 mL). Después de 30 min, la reacción se concentró y el residuo sin purificar se purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO_2 , Isco, MeOH/DCM al 0-100%) para producir **H-2** (2.1 g, 79%). LCMS $[M+H] = 350$ observado; ^1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = 8.35 (s, 1H), 8.16 (s, 1H), 7.36 (s, 2H), 6.24 (dd, $J=2.6, 18.2$ Hz, 1H), 5.68-5.49 (m, 1H), 4.95-4.81 (m, 1H), 4.16-4.09 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 1H), 2.86 (dd, $J=6.1, 14.1$ Hz, 1H); ^{31}P NMR (162MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = 0.28 (s, 1P); ^{19}F NMR (376MHz, $DMSO-d_6$) δ ppm = -201.15 (s, 1F).

Ejemplo 14

20 **9-[(4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-amino-9H-purin-9-yl)-14-fluoro-2,9,15-trihidroxioctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-**



***d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona**

5

El **Ejemplo 14** se hace de forma similar como el **Ejemplo**
 10 **2** utilizando ETT en lugar de pyTFA, DCM en lugar de THF y ^tBuOOH
 en lugar de DDTT del paso 1 y yodo en lugar de 3H-benzoditiol-3-
 ona del paso 2 del **Esquema E**. El material sin purificar se
 purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex
 Luna, columna Omega de 5 um Polar, Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc
 15 10 mM; Fase móvil B: MeCN) para dar el producto deseado. (11
 mg, 13.8% de rendimiento)

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.32 (s, 1 H), 8.21
 (s, 1 H), 8.16 (s, 1 H), 8.04 (s, 1 H), 6.27 (d, *J*=18.5 Hz, 1
 20 H), 5.59-5.39 (m, 1 H), 5.15-5.07 (m, 1 H), 4.96-4.80 (m, 2
 H), 4.51-4.48 (m, 1 H), 4.31-4.25 (m, 1 H), 4.23-4.17 (m, 1
 H), 4.11-4.05 (m, 2 H), 3.46 (s, 3 H), 2.90-2.76 (m, 1 H),

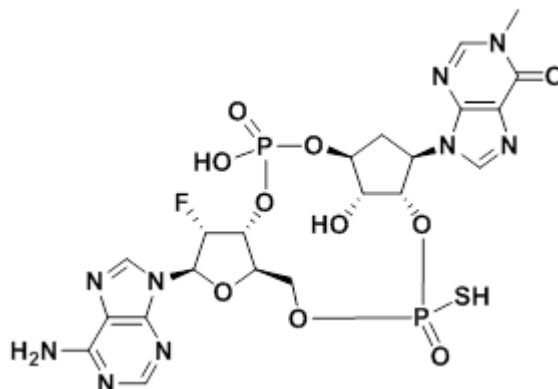
1.75-1.67 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4) δ ppm -3.42 (s, 1 P) -6.58 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ ppm -198.30 (s, 1 F)

5

Ejemplo 15

9-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-
 purin-9-il)-14-fluoro-2,15-dihidroxi-2,9-dióxido-9-
 sulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
 10 1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

15



El **Ejemplo 15** se hace de forma similar como el **Ejemplo 2** utilizando ETT en lugar de pyTFA y DCM en lugar de THF del paso 1 y yodo en lugar de 3*H*-benzoditiol-3-ona del paso 2 del
 20 **Esquema E**. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 3 μm , Fase móvil A: H_2O con NH_4OAc 10 mM, Fase móvil B:

MeCN) para dar los dos productos diastereoméricos.

Pico 1

15 mg, 20 % de rendimiento

5 ^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ ppm 8.49 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 7.80 (s, 1 H), 6.55 (d, $J=16.0$ Hz, 1 H), 5.78-5.66 (m, 1 H), 5.66-5.60 (m, 2 H), 5.18-5.11 (m, 2 H), 4.70-4.59 (m, 1 H), 4.59-4.54 (m, 1 H), 4.43-4.37 (m, 1 H), 4.25-4.17 (m, 1 H), 3.56 (s, 3 H), 3.13-3.03 (m, 1 H), 2.31-
10 2.23 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, referencia interna de H_3PO_4) δ ppm 53.77 (s, 1 P) -6.21 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm -198.24 (s, 1 F)

Pico 2

15 27 mg, 29% de rendimiento

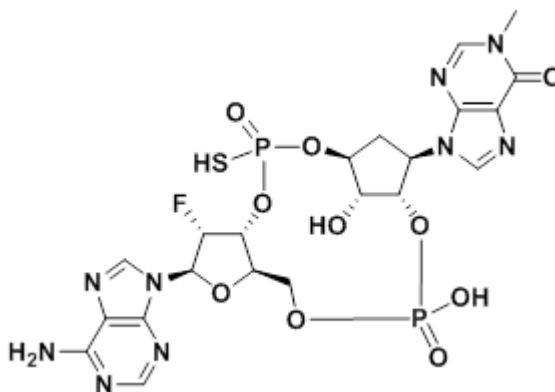
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 8.33 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 8.18 (s, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 6.28 (d, $J=18.1$ Hz, 1 H), 5.55-5.38 (m, 1 H), 5.35-5.24 (m, 1 H), 4.95-4.86 (m, 2 H), 4.86-4.79 (m, 1 H), 4.51-4.47 (m, 1 H), 4.29-4.22 (m, 2 H), 4.12-4.08 (m, 1 H), 3.46 (s, 3 H), 2.87-2.76 (m, 1 H),
20 1.75-1.71 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, $\text{DMSO}-d_6$, referencia interna de H_3PO_4) δ ppm 49.60 (s, 1 P) -6.27 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz,

DMSO-*d*₆) δ ppm -199.37 (s, 1 F)

Ejemplo 16

9-[(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*)-13-(6-amino-9*H*-
 5 purin-9-il)-14-fluoro-9,15-dihidroxi-2,9-dióxido-2-
 sulfaniloctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
 1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

10



15

El **Ejemplo 16** se hace de forma similar como el **Ejemplo 2** utilizando ETT en lugar de pyTFA, DCM en lugar de THF y ^tBuOOH en lugar de DDTT del paso 1 del **Esquema E**. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 3 μ m, Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc 10 mM; Fase móvil B: MeCN) para dar los dos productos diastereoméricos.

20

Pico 1

11 mg, 8.5% de rendimiento

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ ppm 8.36 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.19 (s, 1 H), 7.71 (s, 1 H), 6.53 (d, $J=16.4$ Hz, 1 H), 5.80-5.60 (m, 3 H), 5.25-5.11 (m, 2 H), 4.68 (m, 1 H), 4.59-4.53 (m, 1 H), 4.43 (m, 1 H), 4.20-4.13 (m, 1 H), 3.55 (s, 3 H), 3.14-3.02 (m, 1 H), 2.26-2.18 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4) δ ppm 50.40 (s, 1 P) -3.59 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) ppm -197.41 (s, 1 F)

Pico 2

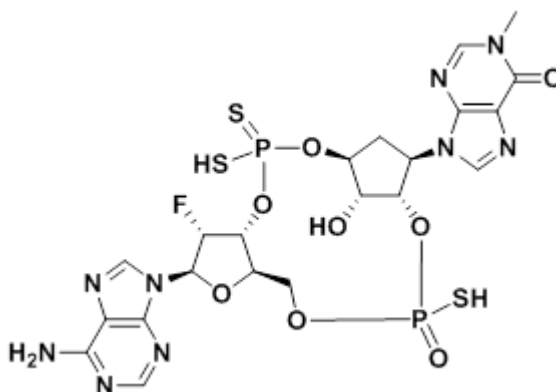
32 mg, 24.3% de rendimiento

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8.35 (s, 1 H), 8.28 (s, 1 H), 8.15 (s, 1 H), 8.13 (s, 1 H), 6.27 (d, $J=17.4$ Hz, 1 H), 6.20-6.01 (m, 1 H), 5.07-4.99 (m, 1 H), 4.98-4.83 (m, 2 H), 4.48-4.37 (m, 2 H), 4.26-4.19 (m, 1 H), 4.17-4.09 (m, 1 H), 4.08-3.99 (m, 1 H), 3.47 (s, 3 H), 2.90-2.79 (m, 1 H), 1.68-1.60 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO- d_6 , referencia interna de H_3PO_4) δ 48.53 (s, 1 P) -3.30 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) -198.19 (s, 1 F)

Ejemplo 17

9 - [(4*S*, 6*R*, 7*S*, 11*aR*, 13*R*, 14*R*, 14*aR*, 15*R*) - 13 - (6-amino-9*H*-
 purin-9-il) - 14-fluoro-15-hidroxi-9-óxido-2,9-disulfanil-2-
 sulfidooctahidro-11*H*-4,7-metanfuro[3,2-
 5 *d*][1,3,7,9,2,8]tetraoxadifosfaciclotridecin-6-il]-1-metil-
 1,9-dihidro-6*H*-purin-6-ona

10



El **Ejemplo 17** se hace de forma similar como el **Ejemplo**
1 utilizando el compuesto **I-1** (*N*-benzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-
 15 3'-*O*-[hidroxi(sulfido)-I⁵-fosfanil]adenosina) en lugar de **B-4**,
 ETT en lugar de pyTFA, DCM en lugar de THF del paso 1 y DPPCl
 en lugar de DMOCP del paso 2 del **Esquema C**.

Purificación: Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 3
 20 um, Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc 10 mM, Fase móvil B: MeCN

Pico 1

7.4 mg, 7.7% de rendimiento

^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ ppm 8.51 (s, 1 H), 8.33 (s, 1 H), 8.21 (s, 1 H), 7.74 (s, 1 H), 6.56 (d, $J=15.6$ Hz, 1 H), 6.47-6.28 (m, 1 H), 5.80-5.69 (m, 1 H), 5.40-5.26 (m, 1 H), 5.22-5.10 (m, 2 H), 4.65-4.62 (m, 1 H), 4.62-4.56 (m, 1 H), 4.46-4.39 (m, 1 H), 4.24-4.16 (m, 1 H), 3.52 (s, 3 H), 3.17-3.03 (m, 1 H), 2.33-2.22 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O , referencia interna de H_3PO_4) δ 108.39 (s, 1 P) 56.07 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, D_2O) -199.57 (s, 1 F)

10

Pico 2

9.4 mg, 8.5% de rendimiento

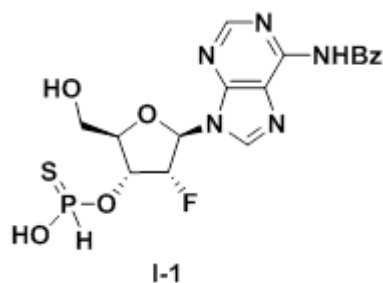
^1H NMR (400 MHz, D_2O) δ ppm 8.36 (s, 1 H), 8.32 (s, 1 H), 8.20 (s, 1 H), 7.69 (s, 1 H), 6.54 (d, $J=16.0$ Hz, 1 H), 6.46-6.30 (m, 1 H), 5.86-5.75 (m, 1 H), 5.34-5.20 (m, 2 H), 5.16-5.10 (m, 1 H), 4.68-4.64 (m, 1 H), 4.63-4.58 (m, 1 H), 4.53-4.45 (m, 1 H), 4.17-4.08 (m, 1 H), 3.52 (s, 3 H), 3.16-2.99 (m, 1 H), 2.27-2.17 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O , referencia interna de H_3PO_4) δ 108.06 (s, 1 P) 51.78 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, D_2O) -199.73 (s, 1 F)

20

Compuesto I-1

***N*-benzoil-2'-desoxi-2'-fluoro-3'-O-[hidroxi(sulfido)-I⁵-fosfanil]adenosina**

5



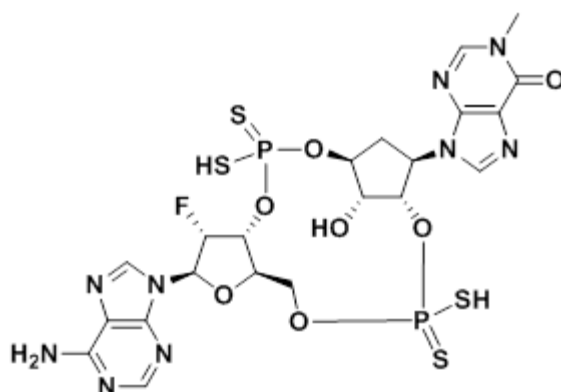
El compuesto **I-1** se hace de forma similar como el ejemplo **B-4** de acuerdo con los procedimientos de la literatura (Jones et al., Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids 2009, 28, 352-378) utilizando fosfonato de difenilo en lugar de fosfonato de dibutilo y Li₂S en lugar de agua del paso 2 del **Esquema B**.

15

Ejemplo 18

9-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-amino-9H-purin-9-yl)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dimercapto-2,9-disulfidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6-yl)-1-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (J-5)

20



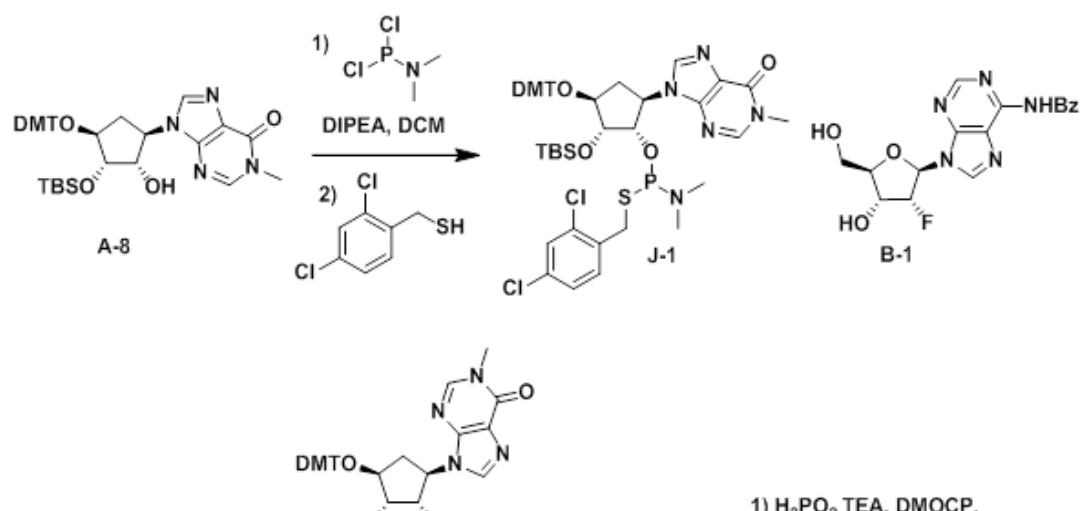
5

10

15

Esquema J

20



5

10

15

Paso 1: Síntesis de *O*-[(1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-3-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi]-2-{[*ter*-butil(dimetil)silil]oxi}-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9*H*-purin-9-il)ciclopentil]*S*-[(2,4-diclorofenil)metil]*N,N*-dimetilfosforamidotioita (J-1)

Todas las soluciones contuvieron tamices moleculares

en polvo. A una solución enfriada (baño de agua helada) de dicloruro *N,N*-dimetilfosforamídico (0.34 mL, 2.9 mmoles) en DCM (10 mL) se agregó una solución de **A-8** (1.0 g, 1.5 mmoles) y DIEA (2.0 mL, 12 mmoles) en DCM (10 mL). Después de 1 hr, se
 5 agregó una solución de (2,4-diclorofenil)metantioil (0.83 mL, 5.9 mmoles) en DCM (5 mL) y se retiró el baño helado. Después de 1 hr, los tamices moleculares se eliminaron mediante filtración y el filtrado se concentró, después se purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO₂, Isco, EtOAc
 10 al 0-100%/heptanos) para producir **J-1** (790 mg, 57%) como un sólido blanco. ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 174.1 2, 169.6

Paso 2: Síntesis de *N*-benzoil-5'-*O*-
([([[(1*S*,2*R*,3*S*,5*R*)-3-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metoxi]-2-
 15 **{[*ter*-butil(dimetil)silil]oxi}-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-**
9*H*-purin-9-il)ciclopentil]oxi}{[(2,4-
diclorofenil)metil]sulfanil}fosforotioil)oxi]{[(2,4-
diclorofenil)metil]sulfanil}fosforotioil)-2'-desoxi-2'-
fluoroadenosina (J-2)

20 Una mezcla de **J-1** (1.3 g, 1.3 mmoles) y tamices moleculares en polvo en DCM (13 mL) se agitó durante 20 min (matraz A). En un matraz separado, una mezcla de **B-1** (540 mg,

1.5 mmoles), ETT (1.3 g, 9.9 mmoles) y tamices moleculares en polvo en DMF (13 mL) se agitó durante 20 min (matraz B). El contenido del matraz B después se agregó al matraz A. Después de 30 min, se agregó DDTT (310 mg, 1.5 mmoles). Después de 15 min, los tamices moleculares se eliminaron mediante filtración y el filtrado se concentró, después se purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO₂, Isco, EtOAc al 0-100%/heptanos) para producir **J-2** (436 mg, no puro). LCMS [M+H] = 1308 observado; ³¹P NMR (162MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 95.8, 94.3; ¹⁹F NMR (376MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 201.49, 201.51

Paso 3: Síntesis de S-fosfonotioato ácido de 0-((2R,3R,4R,5R)-5-(6-benzamido-9H-purin-9-il)-2-((((((1S,2R,3S,5R)-2-((ter-butildimetilsilil)oxi)-3-hidroxi-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9H-purin-9-il)ciclopentil)oxi)((2,4-diclorobencil)tio)fosforotioil)oxi)metil)-4-fluorotetrahidrofuran-3-il) (J-3)

Una mezcla de **J-2** (180 mg, 0.14 mmoles, no puro), azufre (13 mg, 0.42 mmoles) y fosfinato de *N,N*-dietiletanaminio (0.120 mL, 0.83 mmoles) se co-evaporó con piridina. El residuo se disolvió en piridina (1.4 mL), después se agregó DMOCP (77

mg, 0.42 mmoles). Después de ~1 hr, la reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y salmuera y se concentró. Al residuo se agregó DCM (2 mL) seguido por ácido dicloroacético (120 uL) resultando en una solución naranja brillante. Después de 15 min, se extinguió con piridina hasta que se disipó el color naranja, se concentró y se purificó mediante cromatografía instantánea (12 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 0-30%) para producir **J-3** (64 mg). LCMS [M+H] = 1086 observado; ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 96.9, 94.2, 49.4; 48.7; ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 199.6, 199.7, 199.8, 200.1

Paso 4: Síntesis de N-(9-((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-15-((ter-butildimetilsilil)oxi)-9-((2,4-diclorobencil)tio)-14-fluoro-2-mercapto-6-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9H-purin-9-il)-2,9-disulfidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-13-il)-9H-purin-6-il)benzamida(J-4)

J-4 se hace de forma similar como **C-2** utilizando DPPCI en lugar de DMOCP. LCMS [M+H] = 1100 observado; ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 110.4, 110.3, 97.1, 95.5; ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm = 196.0, 196.5

**Paso 5: Síntesis de 9-
((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-13-(6-amino-9H-purin-9-yl)-
14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dimercapto-2,9-disulfidooctahidro-
5 11H-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6-yl)-1-metil-
1,9-dihidro-6H-purin-6-ona (J-5)**

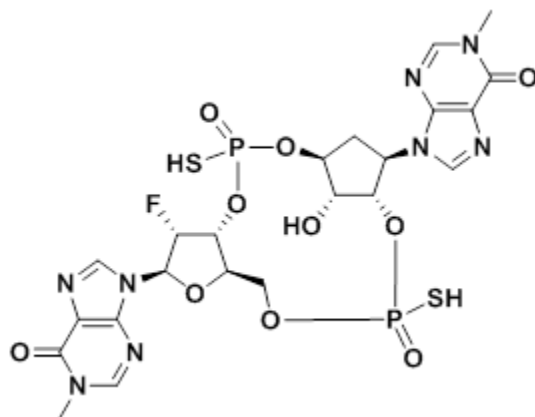
A un matraz que contenía **J-4** (24 mg, 0.022 mmoles) se agregó una solución 1:1 (0.5 mL) de ACN y metilamina al 33% en EtOH. Después de 3 hr, la reacción se concentró y el residuo se disolvió en una solución 1:1:2 (0.2 mL) de tiofenol, TEA y dioxano. Después de 5 hr, la reacción se concentró. Al residuo se agregó una solución 1:1 (0.4 mL) de TEA:piridina seguida por trihidrofluoruro de trietilamina (150 uL). La reacción se calentó a 70°C durante 12 hr, después se extinguió con una solución saturada de bicarbonato de sodio y se concentró. El residuo se trituró con MeOH/DCM al 10%, después con Et₂O (2x), después se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa [Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 5 um de 21 x 150 mm eluida con MeCN/H₂O al 0-80% que contenía NH₄HCO₃ (10 mM)] para dar 5 mg de **J-5**.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 8.54 (s, 1 H) 8.19

(s, 1 H) 8.17 (s, 1 H) 8.04 (s, 1 H) 6.30 (d, $J=16.02$ Hz, 1 H) 6.03-6.20 (m, 1 H) 5.24-5.35 (m, 1 H) 4.94-5.10 (m, 2 H) 4.75-4.81 (m, 1 H) 4.36-4.40 (m, 1 H) 4.29-4.35 (m, 1 H) 4.17-4.25 (m, 1 H) 3.88-3.95 (m, 1 H) 3.49 (s, 3 H) 2.80-2.91 (m, 1 H) 1.61-1.68 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 113.20, 110.74; ^{19}F NMR (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm -198.74 LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 724$ observado

Ejemplo 19

9,9' - ((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R)-14-fluoro-15-hidroxi-2,9-dimercapto-2,9-dióxidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6,13-diil)bis(1-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona



El **Ejemplo 19** se hace de forma similar como el **Ejemplo 17** utilizando el fosfonato ácido de (2R,3R,4R,5R)-4-fluoro-2-(hidroximetil)-5-(1-metil-6-oxo-1,6-dihidro-9H-purin-9-il)tetrahidrofuran-3-ilo **K-4** en lugar de **B-4**. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex Luna, columna Omega de 5 μ m Polar C18 de 4.6 x 50 mm; Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc 10 mM; Fase móvil B: MeCN; elución con un gradiente de B al 0-10% en 2.0 minutos, después una rampa al 10-80% a 5.5 min, mantenida al 80% durante 0.5 minutos después de equilibrar de nuevo; Flujo 2.25 mL/min) para dar los cuatro productos diastereoméricos.

Pico 1: 38 mg, 10.6%; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.45 (s, 1 H) 8.26 (s, 1 H) 8.18 (s, 1 H) 8.16 (s, 1 H) 6.27 (d, J=18.58 Hz, 1 H) 5.51-5.68 (m, 1 H) 5.48 (d, J=2.57 Hz, 1 H) 5.01-5.10 (m, 1 H) 4.95 (td, J=9.75, 5.69 Hz, 2 H) 4.60 (br. s., 1 H) 4.55 (t, J=5.62 Hz, 1 H) 4.20 (br. s., 1 H) 3.95-4.02 (m, 1 H) 3.86-3.94 (m, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.51 (s, 3 H) 2.82 (d, J=11.62 Hz, 1 H) 1.69-1.75 (m, 1 H); ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 53.70 (s, 1 P) 49.98 (s, 1 P); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -196.72 (s., 1 F); LCMS [M+H] = 707.0.

Pico 2: 35 mg, 9.3%; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ

ppm 8.44 (s, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 8.22 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H)
 6.10-6.26 (m, 2 H) 4.89-5.06 (m, 3 H) 4.61 (br. s., 1 H) 4.44
 (t, J=5.32 Hz, 1 H) 4.20 (d, J=8.80 Hz, 1 H) 3.97 (d, J=2.32
 Hz, 2 H) 3.52 (s, 3 H) 3.51 (s, 3 H) 2.75-2.84 (m, 1 H) 1.67
 5 (dd, J=14.73, 5.07 Hz, 1 H) ; ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm
 53.60 (br. s., 1 P) 48.19 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz,
 DMSO-d₆) δ ppm -197.17 (s., 1 F); LCMS [M+H] = 707.0.

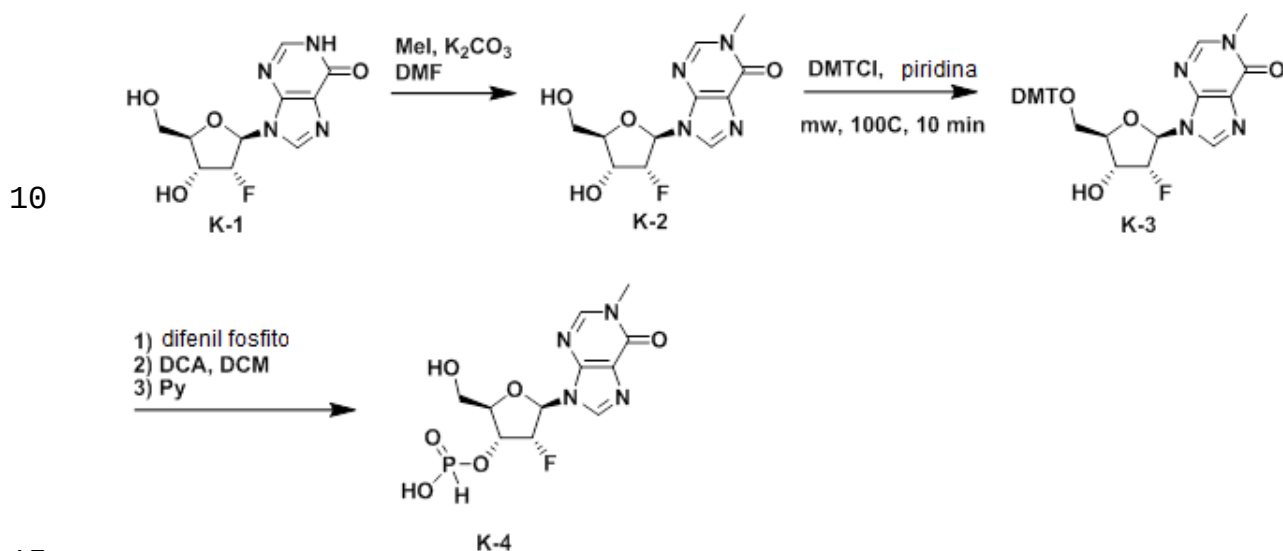
Pico 3: 8 mg, 2%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm
 8.47 (s, 1 H) 8.24 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.10 (s, 1 H) 6.52
 10 (s, 1 H) 6.26 (d, J=17.61 Hz, 1 H) 5.45-5.65 (m, 1 H) 5.12-
 5.25 (m, 2 H) 4.81-4.97 (m, 2 H) 4.51 (t, J=6.30 Hz, 1 H)
 4.45 (br. s., 1 H) 4.23 (d, J=8.56 Hz, 1 H) 3.98-4.13 (m, 2
 H) 3.53 (s, 3 H) 3.50 (s, 3 H) 2.74-2.87 (m, 1 H) 1.67 (dd,
 J=14.67, 6.11 Hz, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 50.04
 15 (s, 1 P) 48.32 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm
 -198.02 (s., 1 F); LCMS [M+H] = 707.0.

Pico 4: 40 mg, 10.9%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ
 ppm 8.46 (s, 1 H) 8.32 (s, 1 H) 8.24 (s, 1 H) 8.16 (s, 1 H)
 6.27 (d, J=17.48 Hz, 1 H) 6.07-6.23 (m, 1 H) 5.19 (td,
 20 J=9.51, 2.63 Hz, 1 H) 4.81-4.96 (m, 3 H) 4.45 (br. s., 1 H)
 4.40 (t, J=5.62 Hz, 1 H) 4.24 (d, J=9.41 Hz, 1 H) 4.12 (d,
 J=11.98 Hz, 1 H) 4.01 (dd, J=11.68, 5.32 Hz, 1 H) 3.53 (s, 3

H) 3.50 (s, 3 H) 2.81 (d, J=7.46 Hz, 1 H) 1.61 (dd, J=14.55, 6.24 Hz, 2 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 49.20 (br. s., 1 P) 48.19 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -198.36 (s., 1 F); LCMS [M+H] = 707.0.

5

Esquema K



Paso 1: Síntesis de 2'-desoxi-2'-fluoro-1-metilinosina (K-2)

El compuesto **K-2** se hace de forma similar como **D-4** utilizando 2'-desoxi-2'-fluoroinosina (K-1) en lugar de **D-3** del paso 3 del Esquema D en 98% de rendimiento.

20

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.44 (s, 1 H) 8.35 (s, 1 H) 6.21 (dd, J=16.75, 2.69 Hz, 1 H) 5.73 (d, J=6.11 Hz,

1 H) 5.25-5.47 (m, 1 H) 5.14 (t, J=5.44 Hz, 1 H) 4.36-4.52
 (m, 1 H) 3.93-4.04 (m, 1 H) 3.75 (ddd, J=12.32, 5.17, 2.81
 Hz, 1 H) 3.59 (ddd, J=12.32, 5.65, 4.03 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3
 H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -204.63 (s, 1 F); LCMS
 5 [M+H] = 285.1.

Paso 2: Síntesis de 5'-O-[bis(4-metoxifenil)(fenil)metil]-2'-desoxi-2'-fluoro-1-metilinosina (K-3)

10 El compuesto **K-3** se hace de forma similar como **B-2**
 utilizando microondas a 100°C durante 10 min en lugar de 25°C
 durante 12 h del paso 1 del Esquema B en 60% de rendimiento.

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.39 (s, 1 H) 8.24
 (s, 1 H) 7.29-7.36 (m, 2 H) 7.15-7.28 (m, 7 H) 6.81 (dd,
 15 J=8.86, 7.64 Hz, 4 H) 6.27 (dd, J=19.44, 1.47 Hz, 1 H) 5.72
 (d, J=6.85 Hz, 1 H) 5.38-5.59 (m, 1 H) 4.55-4.72 (m, 1 H)
 4.10 (dt, J=7.76, 3.94 Hz, 1 H) 3.72 (d, J=1.71 Hz, 6 H) 3.51
 (s, 3 H) 3.20-3.28 (m, 2 H); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm
 -199.30 (s, 1 F); LCMS [M+H] = 587.2.

20

Paso 3: Síntesis de fosfonato ácido de (2R,3R,4R,5R)-4-fluoro-2-(hidroximetil)-5-(1-metil-6-oxo-1,6-

dihidro-9H-purin-9-il)tetrahidrofuran-3-ilo (K-4)

K-3 (1.28 g, 2.19 mmoles) se co-evaporó con piridina anhidra (3x), después el residuo se disolvió por última vez en piridina anhidra (22.0 mL). La solución se agregó por goteo a una solución de fosfonato de difenilo (3.6 g, 15.4 mmoles) en piridina anhidra (22.0 mL) en un matraz secado por horno. La reacción se agitó a rt durante 15 min bajo N₂, se agregó trietilamina-agua (12 mL, 1:1, v/v), se continuó agitando a rt durante 15 min. La mezcla de reacción se concentró al vacío, se disolvió en DCM (22.0 mL), se agregó DCA (5.66 g, 43.9 mmoles), se agitó a rt durante 15 min, después se extinguió por piridina (22.0 mL). La reacción se concentró, se purificó mediante cromatografía instantánea (40 g de SiO₂, Isco, MeOH/DCM al 50%) para producir **K-4** (0.71 g, 93%) como 0.8 eq. de sal de Et₃N.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.60 (br. s., 1 H) 8.44 (s, 1 H) 8.34 (s, 1 H) 7.84 (t, J=7.58 Hz, 0.36 H) 7.61 (s, 0.5 H) 7.38-7.49 (m, 0.75 H) 6.25 (d, J=15.89 Hz, 1 H) 6.01 (s, 0.5 H) 5.75 (s, 0.2 H) 5.43-5.66 (m, 1 H) 4.92-5.09 (m, 1 H) 4.14 (br. s., 1 H) 3.75 (d, J=11.13 Hz, 1 H) 3.64 (d, J=12.72 Hz, 1 H) 3.51 (br. s., 3 H) 3.04-3.13 (m, 1.7 H) 1.17 (t, J=7.15 Hz, 2.5 H); ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm

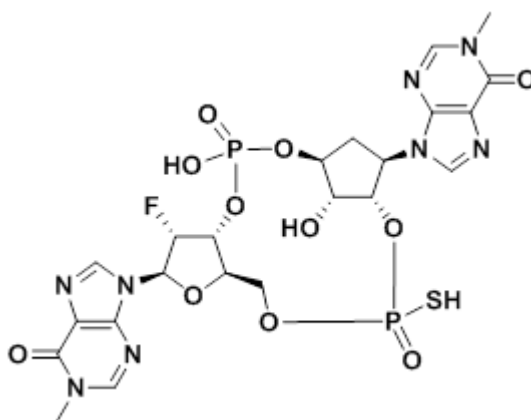
1.88 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ ppm -200.26 (br. s., 1 F). LCMS [M+H] = 350 observado; LCMS [M+H] = 349.0.

5

Ejemplo 20

9,9' - ((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R) -14-fluoro-2,15-dihidroxi-9-mercapto-2,9-dióxidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6,13-diil)bis(1-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona)

10



15

El **Ejemplo 20** se hace de forma similar como el **Ejemplo 15**. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 4.6 x 50 mm, 5 μm ; Fase móvil A: H_2O con NH_4OAc 10 mM, Fase móvil B: MeCN; elución con un gradiente de B al 0-80% en 5.0 minutos, mantenido al 80% durante 0.5 minutos después de equilibrar de nuevo; Flujo 2.25 mL/min) para dar los dos

productos diastereoméricos.

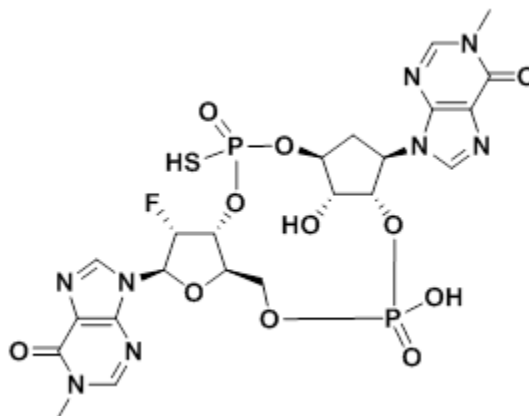
Pico 1: 33 mg, 23%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm
 8.44 (s, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.15 (s, 1 H) 6.25
 (d, $J=18.58$ Hz, 1 H) 5.43-5.67 (m, 2 H) 4.99-5.07 (m, 1 H)
 5 4.89-4.98 (m, 1 H) 4.76-4.88 (m, 1 H) 4.68 (br. s., 1 H) 4.26
 (br. s., 1 H) 4.17 (br. s., 1 H) 3.95-4.03 (m, 1 H) 3.87-3.95
 (m, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.52 (s, 3 H) 2.76 (br. s., 1 H) 1.67
 (dd, $J=14.79$, 5.38 Hz, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO- d_6) δ ppm
 53.57 (s, 1 P) -5.78 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO- d_6)
 10 δ ppm -197.49 (br. s., 1 F); LCMS $[\text{M}+\text{H}] = 691.0$.

Pico 2: 33 mg, 23%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm
 8.47 (s, 1 H) 8.25 (s, 1 H) 8.24 (s, 1 H) 8.15 (s, 1 H) 7.11
 (br. s., 2 H) 6.52 (s, 3 H) 6.25 (d, $J=17.36$ Hz, 1 H) 5.42-
 5.62 (m, 1 H) 5.19 (d, $J=3.42$ Hz, 2 H) 4.88 (td, $J=9.96$, 6.36
 15 Hz, 1 H) 4.68-4.81 (m, 1 H) 4.52 (br. s., 1 H) 4.17-4.27 (m,
 2 H) 3.97-4.14 (m, 2 H) 3.53 (s, 3 H) 3.51 (s, 3 H) 2.72-2.84
 (m, 1 H) 1.61 (dd, $J=14.49$, 6.05 Hz, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz,
 DMSO- d_6) δ ppm 48.70 (br. s., 1 P) -5.56 (br. s., 1 P); ^{19}F
 NMR (376 MHz, DMSO- d_6) δ ppm -196.64 (br. s., 1 F); LCMS
 20 $[\text{M}+\text{H}] = 691.0$.

Ejemplo 21

9,9' - ((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R) -14-fluoro-9,15-dihidroxi-2-mercapto-2,9-dióxidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6,13-diil)bis(1-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona

5



10

El **Ejemplo 21** se hace de forma similar como el **Ejemplo 16**. El material sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase inversa (Phenomenex Gemini, columna NX-15 C18 de 3 μ m de 4.6 x 50 mm; Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc 10 mM, Fase móvil B: MeCN; elución con un gradiente de B al 0-80% en 5.0 minutos, mantenido al 80% durante 0.5 minutos después de equilibrar de nuevo; Flujo 2.25 mL/min) para dar los dos productos diastereoméricos.

20

Pico 1: 7.8 mg, 20%; ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.38 (s, 1 H) 8.31 (s, 1 H) 8.21 (s, 2 H) 6.10-6.30 (m, 2 H) 5.83 (br. s., 1 H) 4.88 (br. s., 3 H) 4.47 (d, J=9.54 Hz, 2 H)

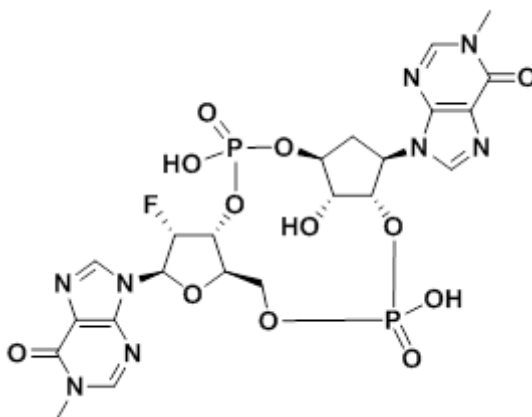
4.16 (d, J=9.17 Hz, 1 H) 3.96-4.11 (m, 2 H) 3.52 (s., 3 H) 3.51 (s., 3 H) 2.80 (m, 1 H) 1.67 (m, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d6) δ ppm 47.81 (s, 1 P) -3.08 (br. s., 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d6) δ ppm -200.26 (br. s., 1 F); LCMS [M+H] = 691.0.

5 Pico 2: 4 mg; 10%; ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ ppm 8.38 (s, 1 H) 8.19 (s, 2 H) 8.15 (s, 1 H) 6.24 (d, J=18.22 Hz, 1 H) 5.78 (d, J=2.69 Hz, 1 H) 5.49-5.65 (m, 1 H) 4.80-4.92 (m, 3 H) 4.55 (s, 1 H) 4.48 (br. s., 1 H) 4.15 (d, J=8.44 Hz, 1 H) 4.08 (d, J=12.35 Hz, 1 H) 3.97 (d, J=8.68 Hz, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.51 (s, 3 H) 2.78 (m, 1 H) 1.72 (d, J=11.13 Hz, 1 H); ^{31}P NMR (162 MHz, DMSO-d6) δ ppm 49.78 (s, 1 P) -3.06 (s, 1 P); ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO-d6) δ ppm -195.17 (s, 1 F); LCMS [M+H] = 691.0.

15 Ejemplo 22

9,9' - ((4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R) -14-fluoro-2,9,15-trihidrox-2,9-dióxidooctahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecin-6,13-diil)bis(1-metil-1,9-dihidro-6H-purin-6-ona)

20

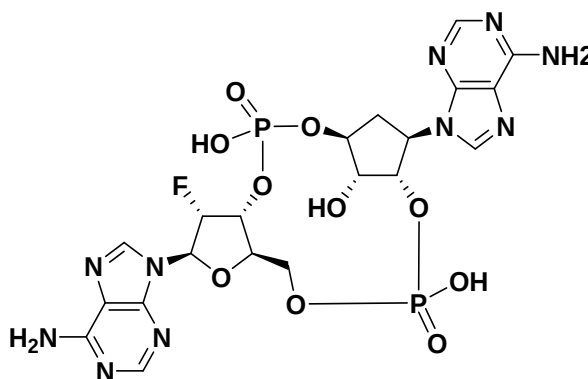


5 El **Ejemplo 22** se hace de forma similar como el **Ejemplo**
14 utilizando el H-fosfonato **K-4** en lugar de **B-4**. El material
sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase
inversa (Phenomenex Gemini, columna NX-C18 de 3 μ m de 4.6 x 50
mm; Fase móvil A: H₂O con NH₄OAc 10 mM, Fase móvil B: MeCN;
10 elución con un gradiente de B al 0-80% en 5.0 minutos, mantenido
al 80% durante 0.5 minutos después de equilibrar de nuevo;
Flujo 2.25 mL/min) para dar el producto deseado.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 8.40 (s, 1 H) 8.21
15 (s, 1 H) 8.21 (s, 1 H) 8.19 (s, 1 H) 6.24 (d, J=17.97 Hz, 1
H) 5.74 (br. s., 1 H) 5.44-5.64 (m, 1 H) 4.83-4.96 (m, 2 H)
4.66-4.81 (m, 1 H) 4.57 (br. s., 1 H) 4.27 (d, J=4.77 Hz, 1
H) 4.06-4.18 (m, 2 H) 3.96-4.04 (m, 1 H) 3.52 (s, 3 H) 3.52
(s, 3 H) 2.71-2.82 (m, 1 H) 1.67 (dd, J=13.94, 5.26 Hz, 1 H);
20 ³¹P NMR (162 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -3.03 (s, 1 P) -5.74 (br. s.,
1 P); ¹⁹F NMR (376 MHz, DMSO-d₆) δ ppm -196.01 (br. s., 1 F);
LCMS [M+H] = 675.0.

Ejemplo 23

**2,9-dióxido de (4S,6R,7S,11aR,13R,14R,14aR,15R) -
6,13-bis(6-amino-9H-purin-9-yl)-14-fluoro-2,9,15-
5 trihidroxiocetahidro-11H-4,7-metanfuro[3,2-
d][1,3,7,9]tetraoxa[2,8]difosfaciclotridecina**



El **Ejemplo 23** se hace de forma similar como el **Ejemplo**
10 **14** utilizando la fosforamidita **A-7** en lugar de **D-8**. El material
sin purificar se purificó mediante cromatografía de fase
inversa utilizando una columna Agela Durashell C18 de 25 x 150
mm al eluir con MeCN/H₂O al 0-10% que contenía NH₄CO₃ (10 mM).

LCMS TOF (ESI+) [M+H]⁺ = 645 observado; ¹H NMR (400
15 MHz, D₂O) δ ppm = 8.31-8.24 (m, 3H), 7.86 (s, 1H), 6.47 (d,
J=16.8 Hz, 1H), 5.76-5.55 (m, 1H), 5.42-5.29 (m, 1H), 5.22-
5.12 (m, 1H), 5.10-4.97 (m, 1H), 4.68 (d, J=0.8 Hz, 1H), 4.52

(d, $J=7.0$ Hz, 2H), 4.37 (d, $J=12.3$ Hz, 1H), 4.13 (dd, $J=5.5$, 12.3 Hz, 1H), 3.12-2.98 (m, 1H), 2.21 (dd, $J=4.9$, 15.4 Hz, 1H); ^{31}P NMR (162 MHz, D_2O) δ ppm = -4.21 (s, 2P); ^{19}F NMR (376 MHz, D_2O) δ ppm = -200.68 (br s, 1F).

5

Ejemplos biológicos

Métodos de análisis bioquímico

Unión por Resonancia de Plasmón Superficial (SPR)

Los estudios de unión del agonista de STING por resonancia de Plasmón Superficial (SPR) se llevaron a cabo utilizando un instrumento Biacore T200 (GE Healthcare) a 4°C en un amortiguador de ejecución en KCl 150 mM, Hepes 25 mM (pH 7.5), TCEP 1 mM, MgCl_2 2.5 mM, glicerol al 5% (v/v), P20 al 0.005% (v/v), DMSO al 1% (v/v). La proteína recombinante inmovilizada en el chip de estreptavidina fue cualquiera de STING de humano de WT o H232R. Un constructo truncado de STING se utilizó en todos los estudios. Los constructos de STING estuvieron compuestos de los residuos 155-341 con truncaciones N- y C-terminales; los dominios transmembranales N-terminales se retiraron (1-154), así como la cola C-terminal (342-379). Se obtuvo de forma enzimática una biotinilación N-terminal altamente específica con la biotina ligasa de *E. coli* (BirA) y

la inclusión del péptido de biotinilación de alta afinidad AviTag™. Se utilizó un dextrano carboximetilado inmovilizado previamente con estreptavidina (serie S del Chip Sensor CM5 de Estreptavidina) para capturar la proteína de STING biotinilada.

5 Las inyecciones del compuesto de prueba se hicieron a una tasa de flujo de 100 μ l por minuto con un tiempo de asociación de 60 segundos y un tiempo de disociación variable. Se utilizaron series de dilución a tres veces a partir de una concentración de partida 10 μ M para todos los compuestos de prueba. El

10 análisis de datos se realizó utilizando el paquete de software de evaluación de datos BiacoreT200 (GE Healthcare). Las inyecciones del compuesto se referenciaron tanto a una superficie testigo como a un testigo amortiguador. Los datos procesados se ajustaron a un equilibrio o modelo cinético para

15 obtener la constante de disociación K_D observada. Los datos de unión SPR se proporcionan en la Tabla 1.

20

Tabla 1		
Unión SPR	K_D media de STING de H232R μM) (N)	K_D media de STING WT μM) (N)
Ejemplo 1 Pico 1	4.1 (2)	4.7 (2)
Ejemplo 1 Pico 2	3.25 (2)	2.75 (2)
Ejemplo 1 Pico 3	1.5 (3)	0.48 (3)
Ejemplo 1 Pico 4	0.58 (3)	0.24 (3)
Ejemplo 2 Pico 1	0.116 (1)	0.023 (1)
Ejemplo 2 Pico 2	0.091 (1)	0.093 (1)
Ejemplo 2 Pico 3	.006 (1)	.00044 (1)
Ejemplo 2 Pico 4	0.011 (1)	0.00078 (1)
Ejemplo 3 Pico 1	0.032 (1)	0.008 (1)
Ejemplo 3 Pico 2	0.039 (1)	0.014 (1)
Ejemplo 3 Pico 3	0.003 (1)	0.001 (1)
Ejemplo 3 Pico 4	0.001 (1)	0.0003 (1)
Ejemplo 3 Pico 5	1.24 (1)	0.000 (1)

5

10

15

Ejemplo 19 Pico 1	0.102 (1)	0.086 (1)
Ejemplo 19 Pico 2	0.750 (1)	0.740 (1)
Ejemplo 19 Pico 3	0.002 (1)	0.003 (1)
Ejemplo 19 Pico 4	0.010 (1)	0.019 (1)
Ejemplo 20 Pico 1	0.447 (1)	0.256 (1)
Ejemplo 20 Pico 2	0.029 (2)	0.046 (2)
Ejemplo 21 Pico 1	0.198 (1)	0.127 (1)
Ejemplo 21 Pico 2	0.048 (1)	0.016 (1)
Ejemplo 22	0.117 (1)	0.449 (1)
Ejemplo 23	5.05 (1)	0.993 (1)

Unión Competitiva por el Ensayo de Proximidad de Centelleo (SPA)

Se desarrolló un ensayo de unión a radioligando para determinar si las interacciones del compuesto eran competitivas

con una versión etiquetada con tritio del ligando de STING natural, monofosfato de (2',5') guanina ^3H -cíclico, monofosfato de adenina (3',5') (^3H -cGAMP). Los constructos de STING (WT y H232R) estuvieron compuestos de los residuos 155-341 con las truncaciones N- y C-terminales; los dominios transmembranales N-terminales se retiraron (1-154), así como la cola C-terminal (342-379). Se obtuvo de forma enzimática una biotinilación N-terminal altamente específica con la biotina ligasa de *E. coli* (BirA) y la inclusión del péptido de biotinilación de alta afinidad AviTagTM. Se inmovilizó la proteína de STING 100 nM en 20 µg de perlas de estreptavidin-polivinil-tolueno (SA-PVT) en NaCl 150 mM, Hepes 25 mM (pH 7.5), EDTA 0.1 mM, DTT 1 mM, Tween-20 al 0.005% (v/v), DMSO al 1% (v/v). ^3H -cGAMP 100 nM y los compuestos se agregaron y se les permitió estar en equilibrio a temperatura ambiente (20 min). Los compuestos se probaron en una dilución en serie tres veces a partir de una concentración inicial 100 µM y se normalizaron a un control positivo del compuesto que bloqueó completamente la unión de ^3H -cGAMP y el control negativo de DMSO. La K_I para la unión competitiva se determinó desde la IC_{50} con la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng y Prusoff, *Biochemical Pharmacology*, 22 (1973), pp. 3099-3108). Los valores K_D para ^3H -cGAMP utilizados en la

ecuación de Cheng-Prusoff se determinaron de forma empírica para ser de 1 nM para STING de WT y de 750 nM para STING de R232H. Los datos SPA de unión competitiva se proporcionan en la Tabla 2.

5

Tabla 2	
Unión competitiva SPA	K_I media de STING de WT (μM) (N)
Ejemplo 1 Pico 3	0.107 (8)
Ejemplo 1 Pico 4	0.042 (8)
Ejemplo 2 Pico 1	0.007 (5)
Ejemplo 2 Pico 2	0.073 (5)

10

15

20

Ejemplo 2 Pico 3	0.002 (9)
Ejemplo 2 Pico 4	0.0002 (9)
Ejemplo 3 Pico 1	0.004 (2)
Ejemplo 3 Pico 2	0.018 (2)
Ejemplo 3 Pico 3	0.001 (1)
Ejemplo 3 Pico 4	0.0002 (4)
Ejemplo 7 Pico 1	0.044 (1)
Ejemplo 7 Pico 2	0.107 (1)
Ejemplo 7 Pico 3	0.013 (1)
Ejemplo 7 Pico 4	0.003 (1)
Ejemplo 13 Pico 1	>1 (2)
Ejemplo 13 Pico 2	>1 (2)
Ejemplo 14	0.008 (3)
Ejemplo 15 Pico 1	0.037 (3)
Ejemplo 15 Pico 2	0.001 (3)
Ejemplo 16 Pico 1	0.001 (3)
Ejemplo 16 Pico 2	0.009 (3)
Ejemplo 17 Pico 1	0.002 (1)
Ejemplo 17 Pico 2	0.0003 (2)
Ejemplo 18	0.00019 (1)
Ejemplo 19 Pico 1	0.022 (1)
Ejemplo 19 Pico 2	>1 (1)
Ejemplo 19 Pico 3	0.002 (1)
Ejemplo 19 Pico 4	0.054 (1)

5

10

**Inducción del interferón β : Línea THP-1 de células
reporteras ISG**

Las células ISG de THP-1 Lucia™ (InvivoGen) expresan el gen reportero de la luciferasa “Lucia” secretada bajo el control de un promotor compuesto inducible por IRF comprendido de cinco elementos de respuesta de interferón. Las células ISG de THP-1 Lucia™ se desarrollaron en un medio RPMI L-glutamina 2 mM, suero fetal de bovino al 10% y Pen-Strep al 0.5%. La Higromicina B y Zeocina estuvieron presentes para mantener una transfección estable. Se sembraron 10^4 células en placas de 96 pozos y se incubaron durante la noche a 37°C, CO₂ al 5%. Estuvieron 50 μ L de los compuestos diluidos en serie en un

medio (final de DMSO al 0.5%) y se incubaron durante 24 horas adicionales. Después de la incubación, las placas se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Se transfirieron 50 μ l del sobrenadante de cultivo celular de cada pozo de una placa blanco opaco de 96 pozos. Se preparó una bolsa de polvo QUANTI-Luc™ (InvivoGen) en 25 mL de agua libre de endotoxinas y se agregaron 100 μ L de una solución QUANTI-Luc caliente preparada en cada pozo que contenía el sobrenadante. La señal de luminiscencia se midió utilizando un lector de microplacas Perkin-Elmer Envision. Los datos se normalizaron al “% de efecto” con un agonista de STING de control positivo que se conoció por maximizar la señal de luciferasa y el control negativo de DMSO. Los datos de inducción de interferón β se proporcionan en la Tabla 3.

15

20

Tabla 3	
Reportero de THP-1 en IFN-β	EC50 media de inducción de IFN β μM(N)
Ejemplo 1 Pico 3	10.12 (6)
Ejemplo 1 Pico 4	8.49 (6)
Ejemplo 2 Pico 1	3.08 (4)
Ejemplo 2 Pico 2	7.9 (4)
Ejemplo 2 Pico 3	0.93 (9)
Ejemplo 2 Pico 4	3.02 (7)
Ejemplo 3 Pico 1	6.52 (3)
Ejemplo 3 Pico 2	22.9 (3)
Ejemplo 3 Pico 3	2.1 (2)
Ejemplo 3 Pico 4	4.5 (3)
Ejemplo 7 Pico 1	13.8 (1)
Ejemplo 7 Pico 2	>30 (1)
Ejemplo 7 Pico 3	4.6 (2)
Ejemplo 7 Pico 4	7.4 (2)
Ejemplo 13 Pico 1	>100 (2)

5

10

15

Ejemplo 19 Pico 3	4.39 (1)
Ejemplo 19 Pico 4	8.82 (2)
Ejemplo 20 Pico 1	80.84 (2)
Ejemplo 20 Pico 2	7.54 (4)
Ejemplo 21 Pico 1	>30 (1)
Ejemplo 21 Pico 2	28.5 (1)
Ejemplo 22	>30 (1)
Ejemplo 23	>100 (1)

**Ensayo del reportero de células THP-1 con diferentes
polimorfismos de STING de humano para medir la actividad del
interferón de tipo I**

El alelo de STING de tipo silvestre (WT) se ha
reportado por tener 4 polimorfismos de nucleótidos simples (SNP)

diferentes adicionales en la población humana que pueden afectar su respuesta. Estos SNP se conocen como R71H-G230A-R293Q (HAQ), R232H, G230A-R293Q (AQ) y R293Q. Con el fin de probar si los compuestos indicados pueden activar los cinco

5 alelos de STING de humano que representan >98% de la población humana, las células KO-STING THP-1-dobles (InvivoGen) se transdujeron de forma individual con un lentivirus que contenía uno de los alelos de STING de humano (Genecopoeia). Las células transducidas se seleccionaron y la expresión de STING se

10 confirmó mediante transferencia Western (datos no mostrados). Las células seleccionadas se cultivaron y cosecharon en tubos cónicos de 50 mL, se contaron utilizando un Vi-flujo BC y se diluyeron a una concentración de 7.4×10^5 células/mL. Se transfirieron 135 μ l de células diluidas en una placa de 96

15 pozos (100,000 células/pozo) y se incubaron a 37°C en una incubadora de CO₂ durante 3 a 4 horas. Después se agregaron 15 μ L del compuesto de prueba diluido en serie en cada pozo para la estimulación, la placa que contenía células y compuestos se incubó aún más a 37°C y CO₂ al 5% durante 24 horas. Después de

20 la incubación, las placas se centrifugaron a 2000 rpm durante 10 min. Se transfirieron 50 μ l del sobrenadante de cultivo celular de cada pozo a una placa blanco opaco de 96 pozos. El

polvo QUANTI-Luc™ (InvivoGen) se preparó en 25 mL de agua libre de endotoxinas y se prepararon 100 uL de una solución QUANTI-Luc caliente que se agregó en cada pozo que contenía el sobrenadante de cultivo y se midió de inmediato la señal de luminiscencia utilizando un lector de microplacas Perkin Elmer Enspire (0.2 seg). Se obtuvo RLU mediante el valor sin procesar. La fecha de ensayo del reportero de las células THP-1 se proporciona en la Tabla 4.

10

15

20

Tabla 4					
Compuesto	EC50 (μM) de ISG de WT con THP-1	EC50 (μM) de ISG de R232H con THP-1	EC50 (μM) de ISG de HAQ con THP-1	EC50 (μM) de ISG de AQ con THP-1	EC50 (μM) de ISG de R293Q con THP-1
Ejemplo 1 Pico 3	>50 (N=2)	>50 (N=3)	32.56 (N=2)	15.38 (N=2)	>50 (N=2)
Ejemplo 1 Pico 4	>50 (N=2)	>50 (N=3)	25.47 (N=2)	23.93 (N=2)	>50 (N=2)
Ejemplo 2 Pico 2	>50 (N=2)	>50 (N=2)	>50 (N=1)	>50 (N=1)	>50 (N=1)
Ejemplo 2 Pico 3	7.58 (N=3)	12.67 (N=3)	16.56 (N=3)	6.52 (N=3)	7.16 (N=3)
Ejemplo 2 Pico 4	5.79 (N=4)	12.92 (N=4)	12.58 (N=4)	5.33 (N=4)	7.57 (N=4)
Ejemplo 2 Pico 1	5.83 (N=2)	3.26 (N=2)	>50 (N=1)	7.32 (N=2)	6.63 (N=2)
Ejemplo 14	27.62 (N=3)	>50 (N=3)	27.13 (N=3)	26.10 (N=3)	>50 (N=2)
Ejemplo 16 Pico 1	23.63 (N=3)	>50 (N=3)	29.32 (N=3)	30.69 (N=3)	>50 (N=3)
Ejemplo 16 Pico 2	16.37 (N=3)	>50 (N=3)	16.84 (N=3)	12.96 (N=3)	27.14 (N=3)
Ejemplo 15 Pico 2	6.48 (N=3)	>50 (N=3)	9.75 (N=3)	6.51 (N=3)	14.40 (N=3)
Ejemplo 15 Pico 1	25.77 (N=2)	>50 (N=3)	18.37 (N=3)	12.58 (N=3)	24.66 (N=3)
Ejemplo 17 Pico 1	9.97 (N=3)	>50 (N=3)	12.80 (N=3)	6.80 (N=3)	19.39 (N=3)
Ejemplo 17 Pico 2	2.22 (N=3)	7.34 (N=3)	4.86 (N=3)	2.67 (N=3)	4.17 (N=3)

Fosforilación de IRF3: ELISA de células THP-1 u OVCAR4

Resultados de activación de STING en la selección de TBK1 y fosforilación del factor de transcripción IRF3 antes de la inducción de los interferones de tipo I. Las células THP-1 (InvivoGen) o células OVCAR4 (Banco Celular de Pfizer) se desarrollaron en un medio RPMI más L-glutamina 2 mM, suero fetal de bovino al 10% y Pen-Strep al 0.5%. Se sembraron 10^4 células en placas de 96 pozos y se incubaron durante la noche a 37°C, CO₂ al 5%. Los compuestos diluidos de los compuestos en serie se agregaron en las células del medio (final de DMSO al 0.5%) y se incubaron durante 3 horas adicionales. Después de la incubación, las placas se centrifugaron a 2000 rpm durante 5 min. Las células después se lisaron en 100 µl de amortiguador RIPA y se revolviaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Entonces se transfirieron 25 µl de lisado a placas de poliestireno transparentes de Alta Unión que se recubrieron previamente con el anticuerpo de captura IRF-3 anti-humano de ratón (BD Pharmigen) y se le dejó incubar a 4°C durante 16 horas. Las placas después se lavaron e incubaron con el anticuerpo de detección anti-fosfo-IRF3 de conejo (Cell Signaling Technologies) durante 1.5 horas a temperatura ambiente. Finalmente, se agregó un anticuerpo secundario enlazado a HRP (Cell Signaling Technologies) durante 30 min

antes de que se utilizara el Reactivo de Sustrato Glo (R&D Systems) para generar la señal luminiscente. La señal se midió utilizando un lector de microplacas Perkin-Elmer Envision. Los datos se normalizaron al “% de efecto” con un agonista de STING de control positivo que se sabía maximiza la señal IRF3 fosforilada y el control negativo fue DMSO. **Los datos de fosforilación de IRF3 se proporcionan en las Tablas 5 y 6.**

10

15

20

Tabla 5	
ELISA de pIRF3 en THP-1	EC50 media de pIRF (μM) (N)
Ejemplo 1 Pico 3	25.6 (5)
Ejemplo 1 Pico 4	39.2 (5)
Ejemplo 2 Pico 1	58.4 (3)
Ejemplo 2 Pico 2	>100 (3)
Ejemplo 2 Pico 3	13.66 (10)
Ejemplo 2 Pico 4	23.68 (5)
Ejemplo 3 Pico 1	>100 (2)
Ejemplo 3 Pico 2	>100 (2)
Ejemplo 3 Pico 3	20.5 (2)
Ejemplo 3 Pico 4	30.69 (3)
Ejemplo 7 Pico 1	ND
Ejemplo 7 Pico 2	ND
Ejemplo 7 Pico 3	ND
Ejemplo 7 Pico 4	ND
Ejemplo 13 Pico 1	>100 (2)
Ejemplo 13 Pico 2	>100 (2)
Ejemplo 14	>100 (3)
Ejemplo 15 Pico 1	>100 (3)
Ejemplo 15 Pico 2	31.6 (3)
Ejemplo 16 Pico 1	>100 (3)
Ejemplo 16 Pico 2	>100 (3)
Ejemplo 17 Pico 1	92.8 (1)
Ejemplo 17 Pico 2	18.54 (3)
Ejemplo 18	9.04 (1)
Ejemplo 19 Pico 1	56.8 (1)
Ejemplo 19 Pico 2	>100 (1)

5

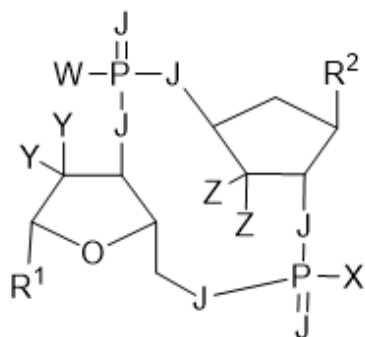
10

Tabla 6	
ELISA de pIRF3 y OVCAR4	EC50 media de pIRF (μM) (N)
Ejemplo 14	39.27 (3)
Ejemplo 15 Pico 1	51.5 (2)
Ejemplo 15 Pico 2	2.76 (3)
Ejemplo 16 Pico 1	57.0 (3)
Ejemplo 16 Pico 2	71.46 (3)
Ejemplo 17 Pico 1	46.37 (2)
Ejemplo 17 Pico 2	8.06 (3)

15

10 donde

15

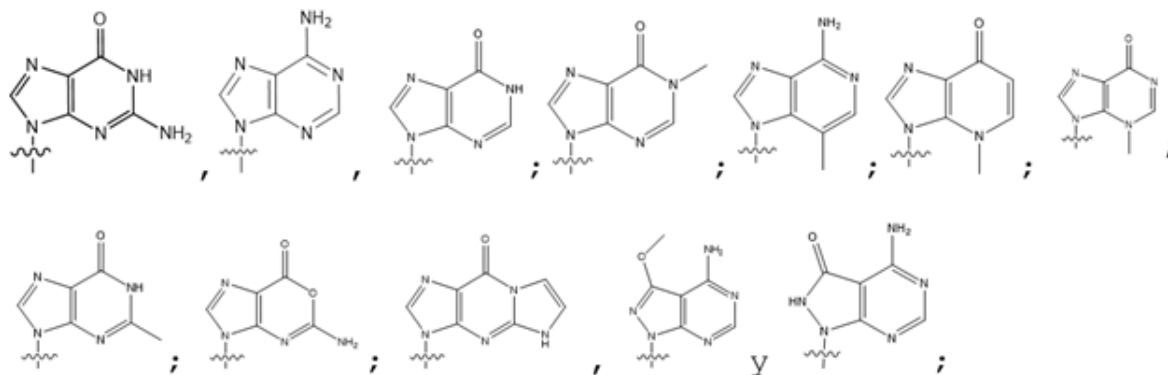


(I)

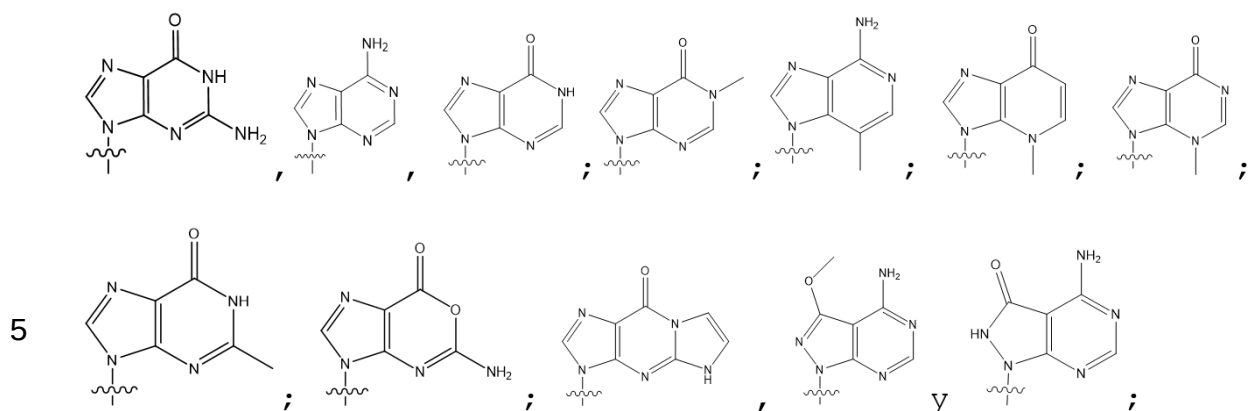
20

cada J es independientemente oxígeno (0) o azufre

15



R^2 se selecciona de:



W es OH, SH, $O^{-}M^{+}$ o $S^{-}M^{+}$, donde M^{+} representa un contra-
ión catiónico;

X es OH, SH, $O^{-}M^{+}$ o $S^{-}M^{+}$, donde M^{+} representa un contra-
10 ión catiónico;

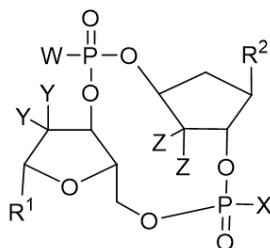
cada Y se selecciona independientemente de hidrógeno,
halógeno, alquilo de $C_1 - C_6$, alquilo de $C_1 - C_6$ sustituido,
 $N(R^3)_2$, y OR^4 , o los dos sustituyentes Y se unen para formar un
sistema de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende
15 0-1 heteroátomos;

cada Z se selecciona independientemente de hidrógeno,
halógeno, alquilo de $C_1 - C_6$, alquilo de $C_1 - C_6$ sustituido,
 $N(R^3)_2$, y OR^4 , o los dos sustituyentes Z se unen para formar un
sistema de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende
20 0-1 heteroátomos; y

R^3 y R^4 son cada uno independientemente hidrógeno o
alquilo de $C_1 - C_6$.

2. Un compuesto de la fórmula (II):

5

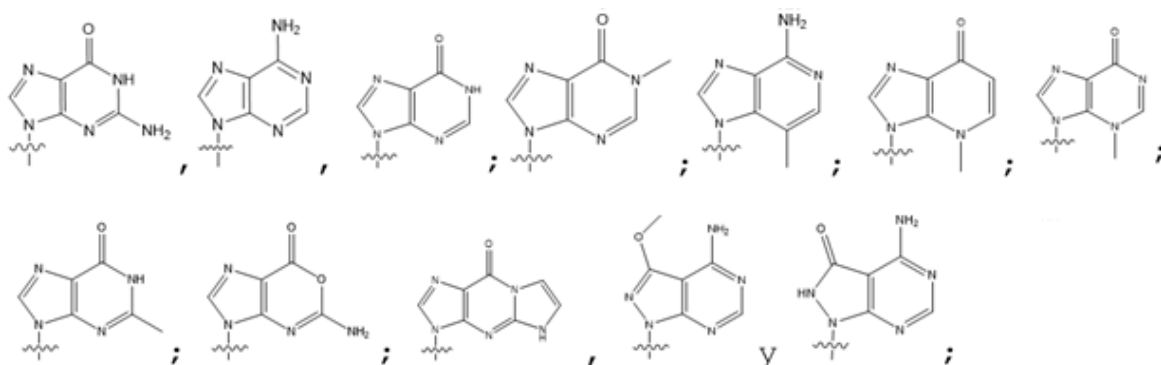


(II)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R^1 se selecciona de:

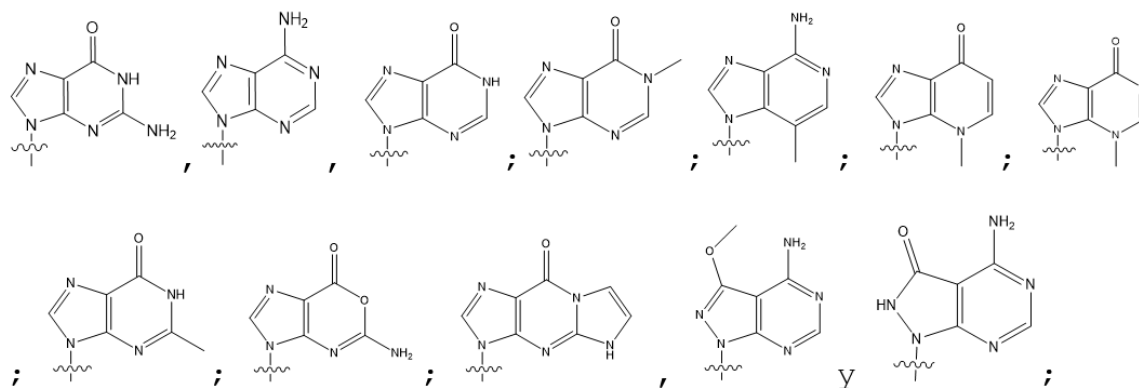
10



15

R^2 se selecciona de:

20



W es OH, SH, O^-M^+ o S^-M^+ , donde M^+ representa un contra-
ión catiónico;

X es OH, SH, O^-M^+ o S^-M^+ , donde M^+ representa un contra-
ión catiónico;

5 cada Y se selecciona independientemente de hidrógeno,
halógeno, alquilo de $C_1 - C_6$, alquilo de $C_1 - C_6$ sustituido,
 $N(R^3)_2$, y OR^4 , o los dos sustituyentes Y se unen para formar un
sistema de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende
0-1 heteroátomos;

10 cada Z se selecciona independientemente de hidrógeno,
halógeno, alquilo de $C_1 - C_6$, alquilo de $C_1 - C_6$ sustituido,
 $N(R^3)_2$, y OR^4 , o los dos sustituyentes Z se unen para formar un
sistema de anillo espirocíclico de 3-5 miembros que comprende
0-1 heteroátomos; y

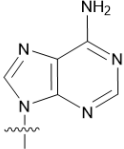
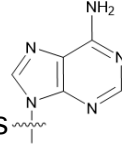
15 R^3 y R^4 son cada uno independientemente hidrógeno o
alquilo de $C_1 - C_6$.

3. El compuesto o sal de cualquiera de las
reivindicaciones 1 y 2, en donde M^+ se selecciona del grupo que
20 consiste de sodio, potasio, calcio, amonio, trietilamonio,
trimetilamonio y magnesio.

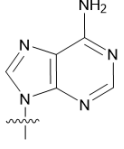
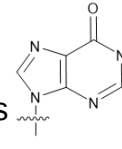
4. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde cada contra-ion M^+ es el mismo.

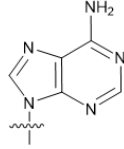
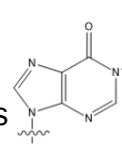
5. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

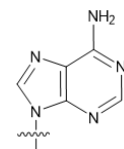
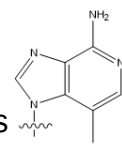
5 6. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

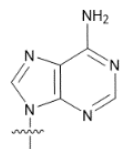
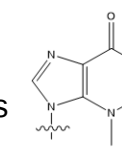
7. El compuesto o sal de cualquiera de las

10 reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

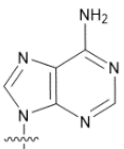
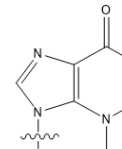
8. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

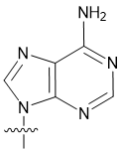
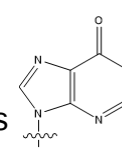
9. El compuesto o sal de cualquiera de las

15 reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

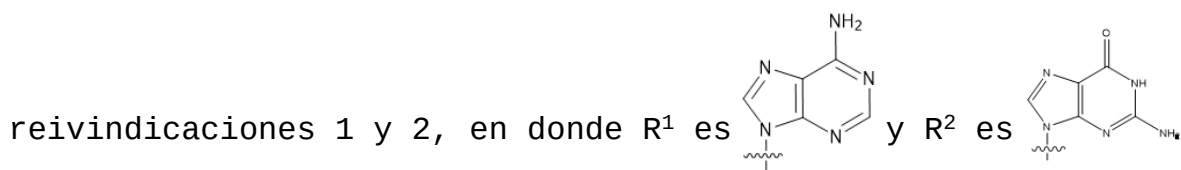
10. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

20 11. El compuesto o sal de cualquiera de las

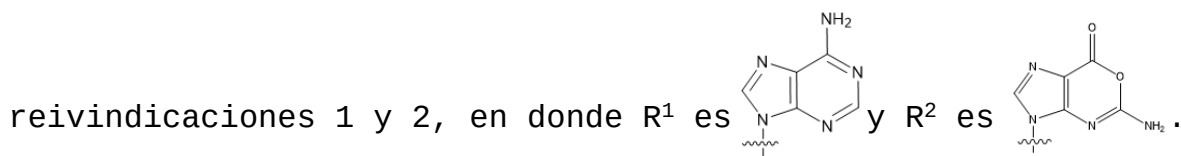
reivindicaciones 1 y 2, en donde R^1 es  y R^2 es .

12. El compuesto o sal de cualquiera de las

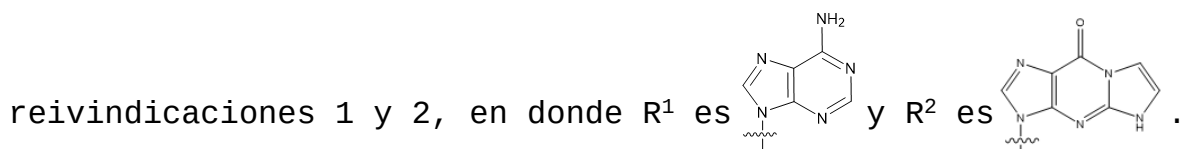


13. El compuesto o sal de cualquiera de las

5

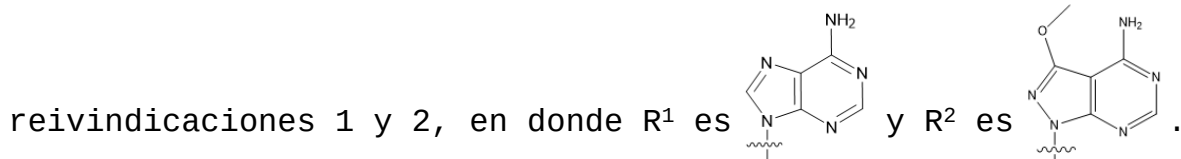


14. El compuesto o sal de cualquiera de las

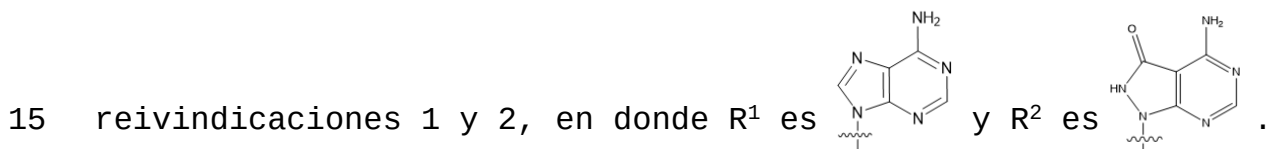


10

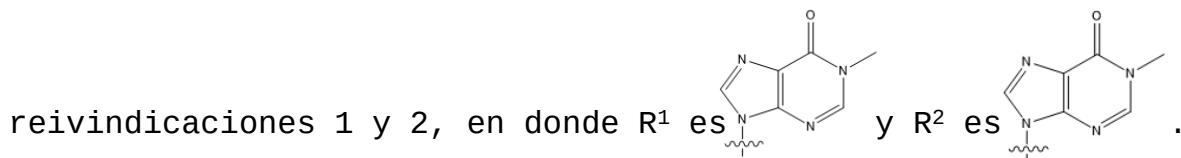
15. El compuesto o sal de cualquiera de las



16. El compuesto o sal de cualquiera de las



17. El compuesto o sal de cualquiera de las



18. El compuesto o sal de cualquiera de las

20 reivindicaciones 1 y 2, en donde uno o ambos Y es halógeno.

19. El compuesto o sal de cualquiera de las

reivindicaciones 1 y 2, en donde un Y es hidrógeno y el otro Y

es un halógeno.

20. El compuesto o sal de la reivindicación 19, en donde el halógeno es flúor.

21. El compuesto o sal de cualquiera de las
5 reivindicaciones 1 y 2, en donde un Z es hidrógeno y el otro Z es OR⁴.

22. El compuesto o sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde W es -SH y X es -SH.

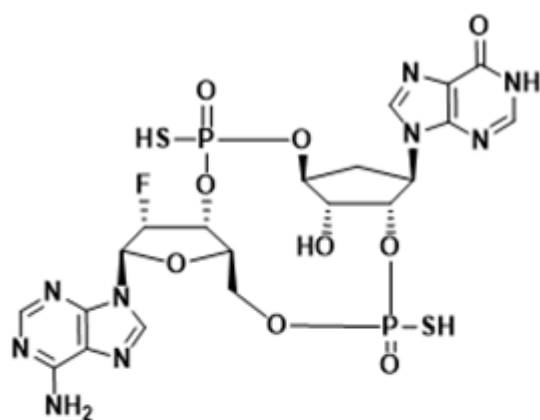
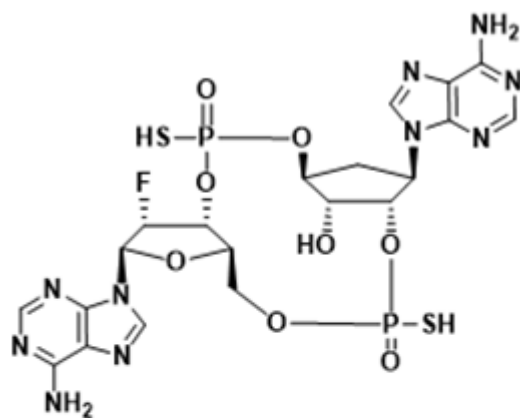
23. El compuesto o sal de cualquiera de las
10 reivindicaciones 1 y 2, en donde W es -OH y X es -OH.

24. El compuesto o sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde W es -SH y X es -OH.

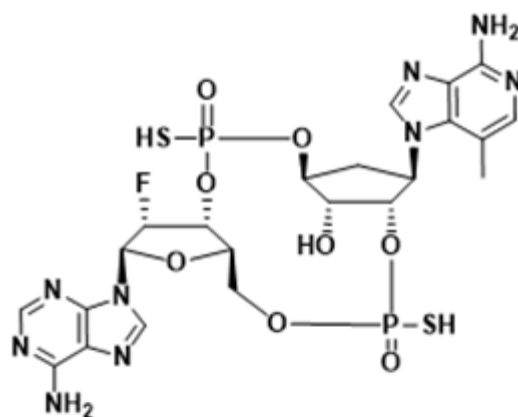
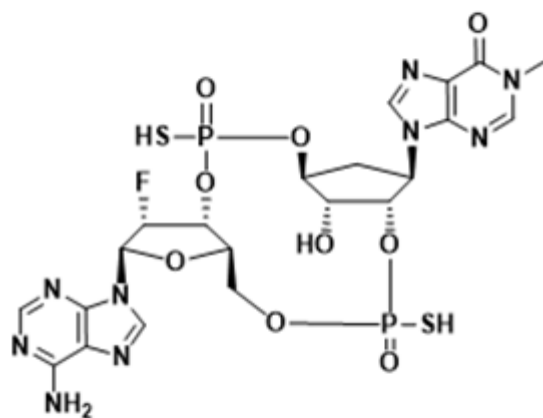
25. El compuesto o sal de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en donde W es -OH y X es -SH.

15 26. Un compuesto seleccionado de:

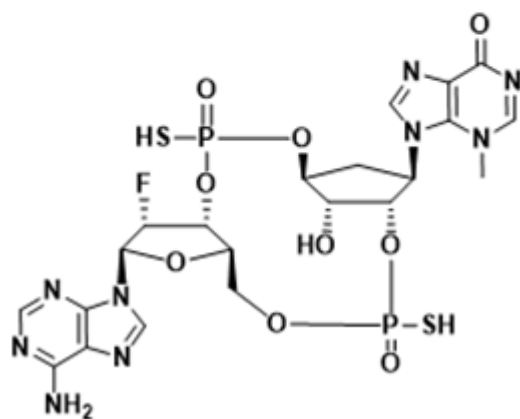
5



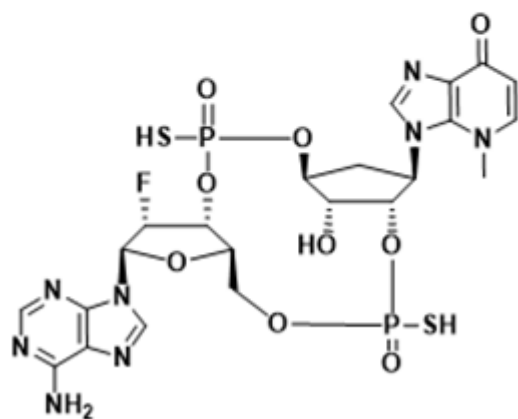
10



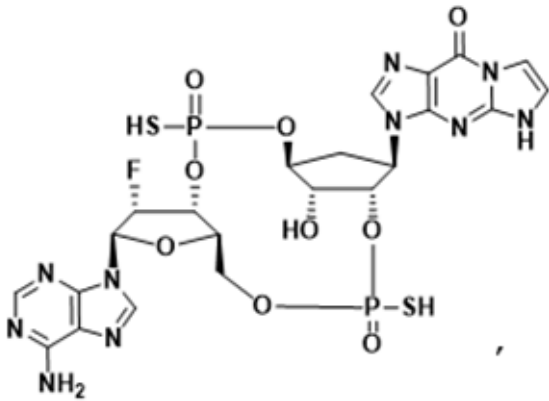
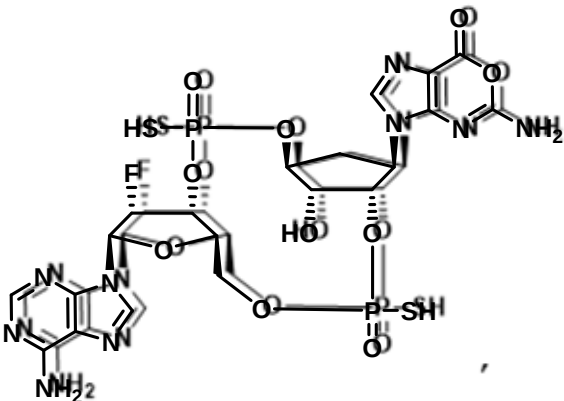
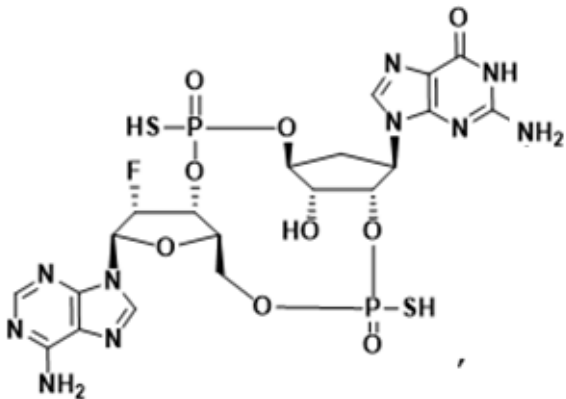
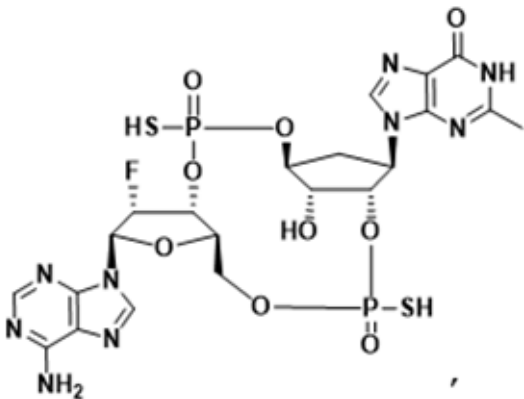
15



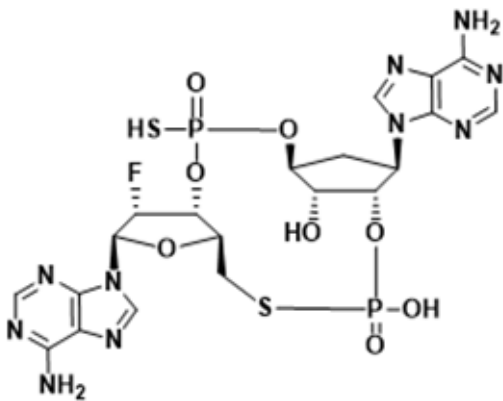
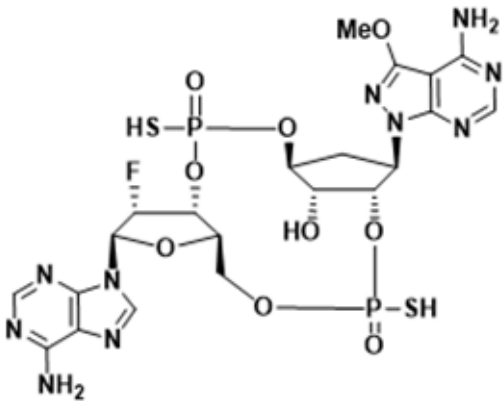
20



5

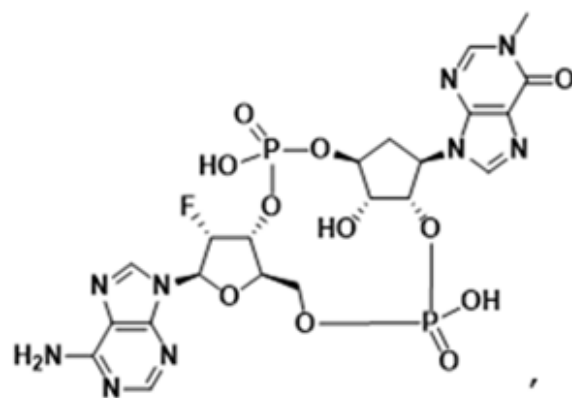
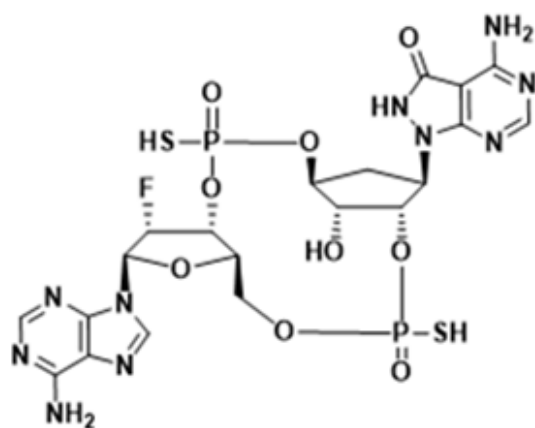


10

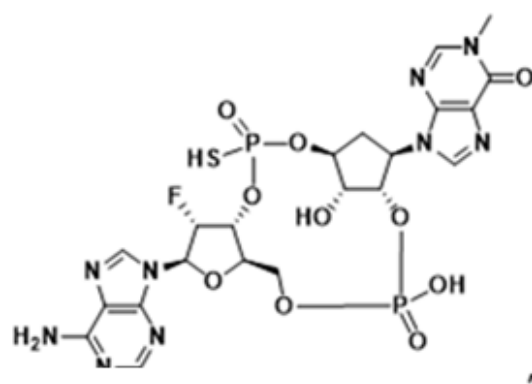
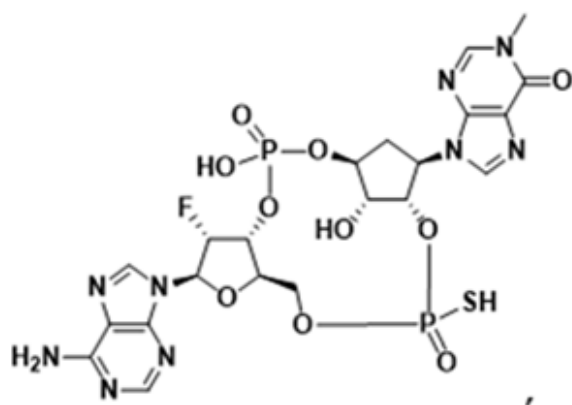


15

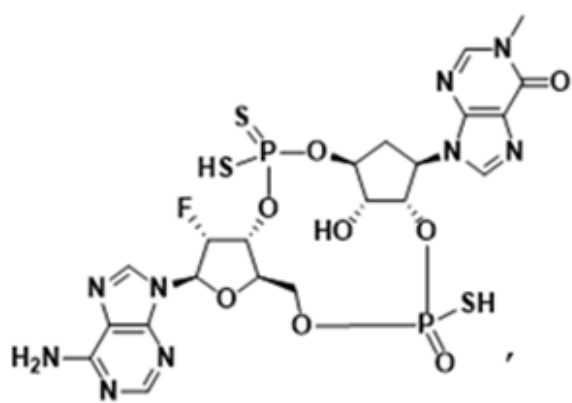
5



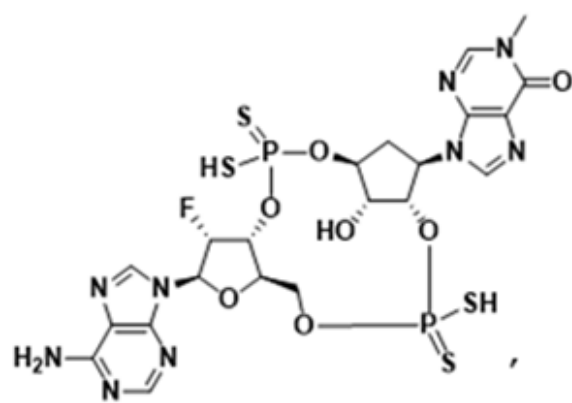
10



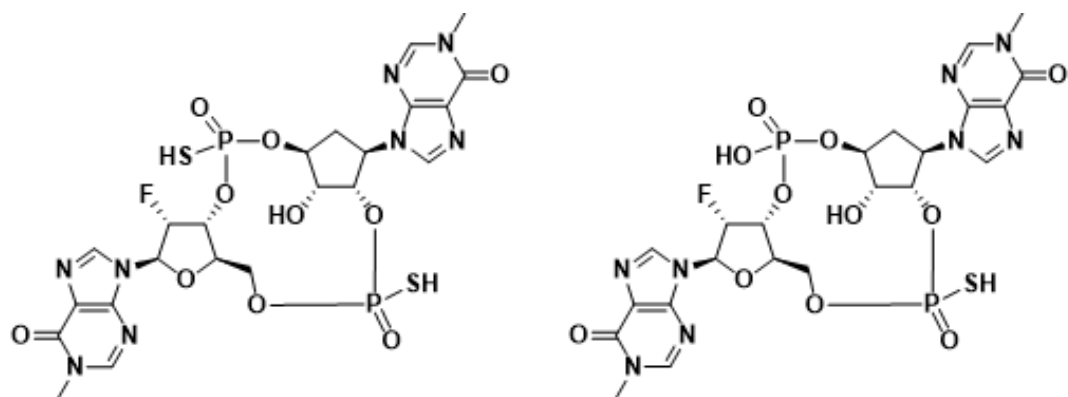
15



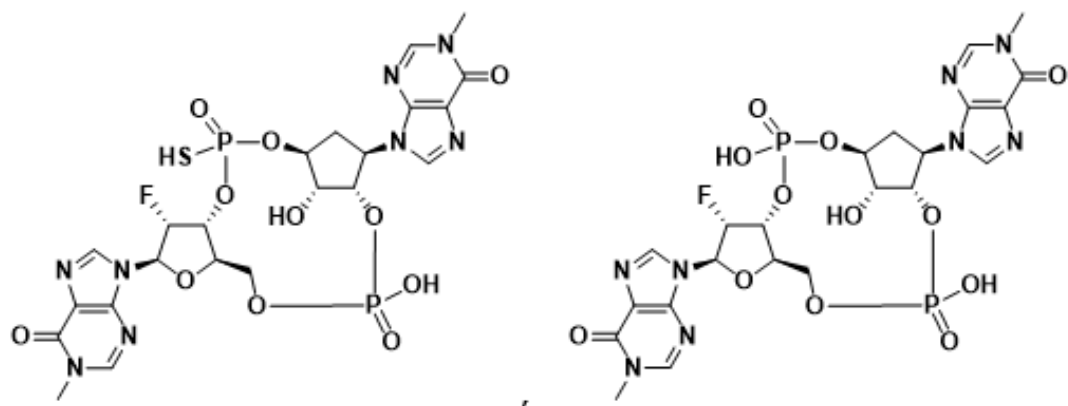
20



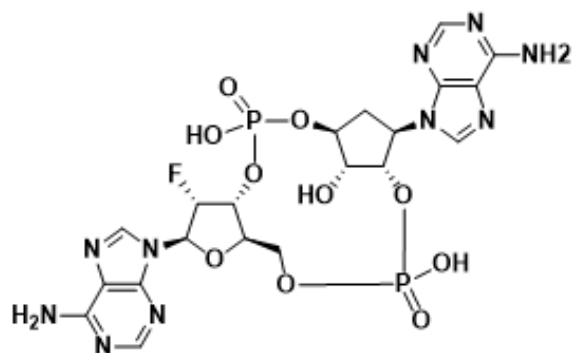
5



10



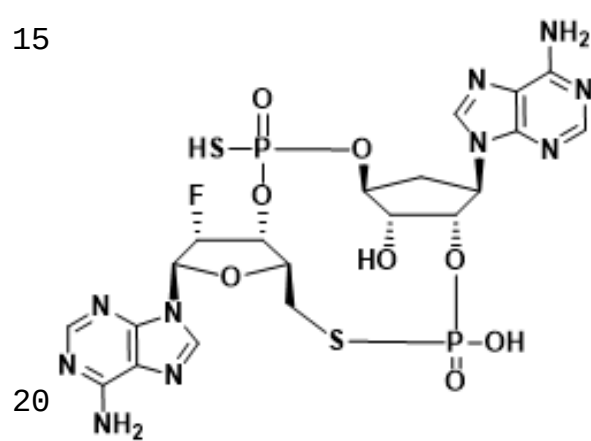
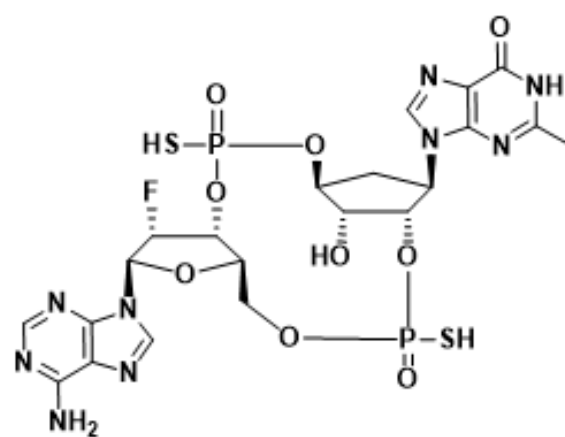
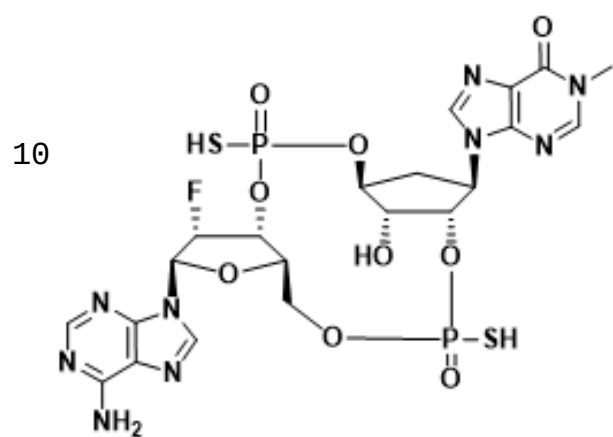
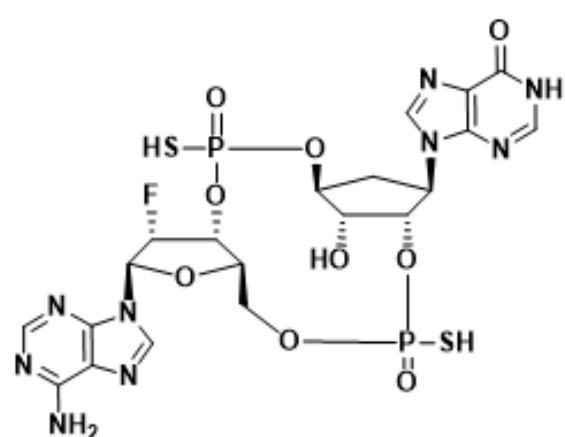
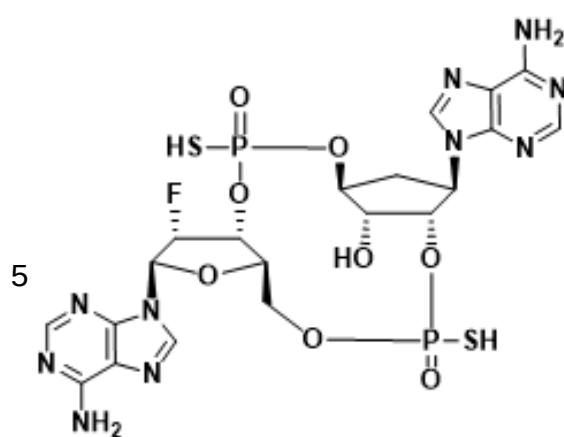
15



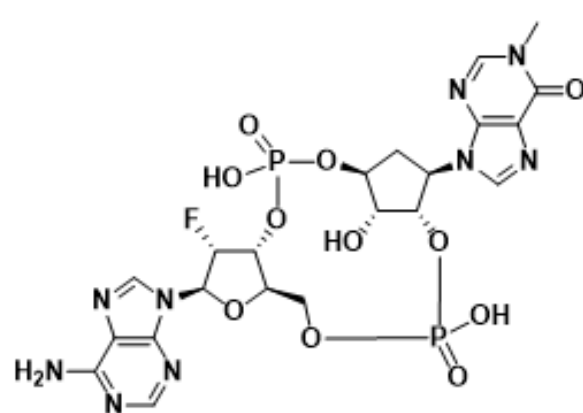
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

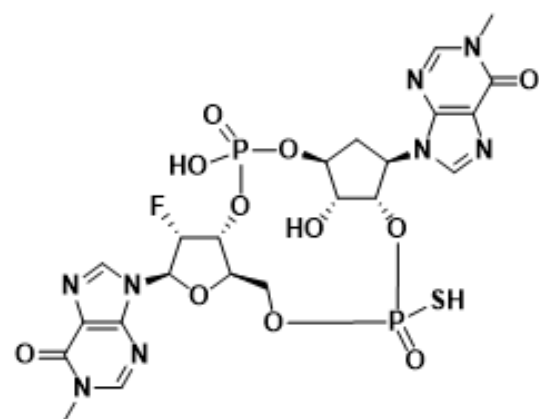
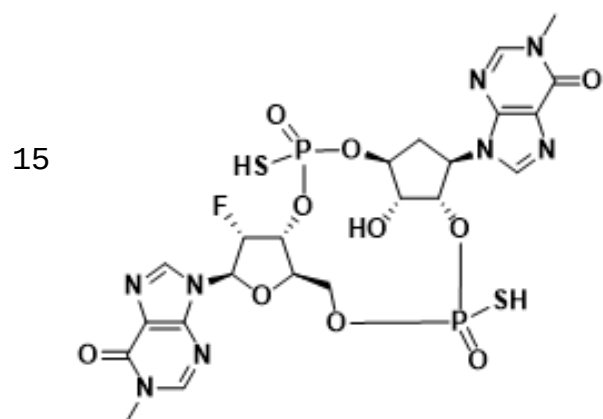
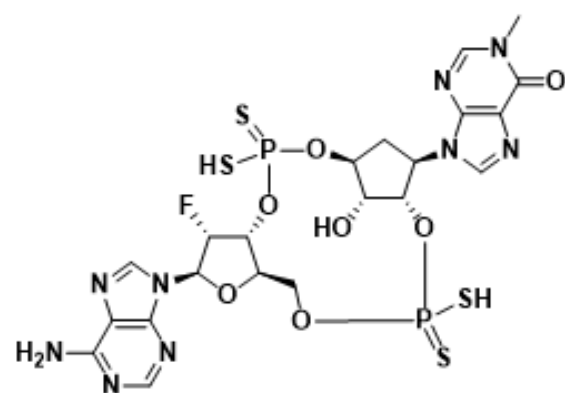
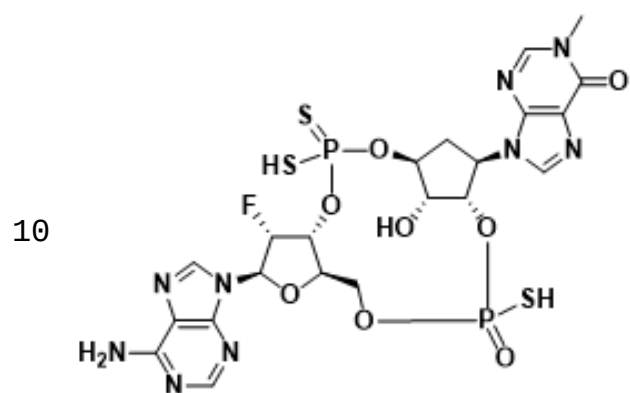
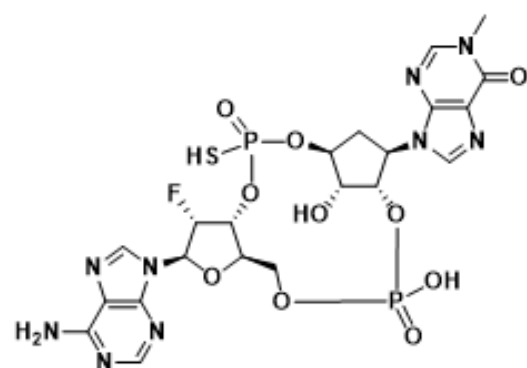
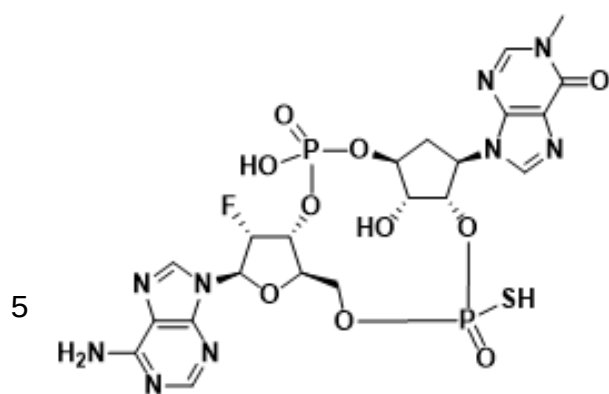
20

27. Un compuesto seleccionado de:

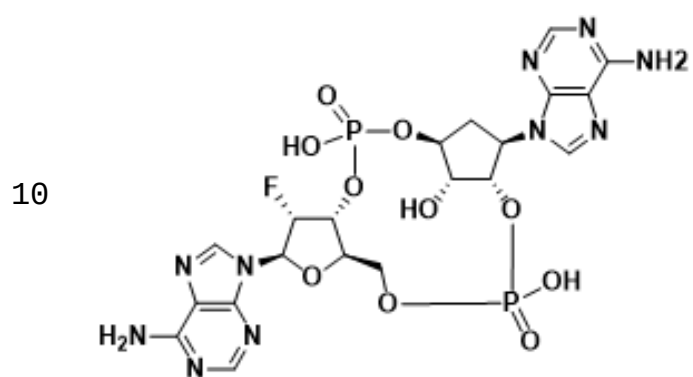
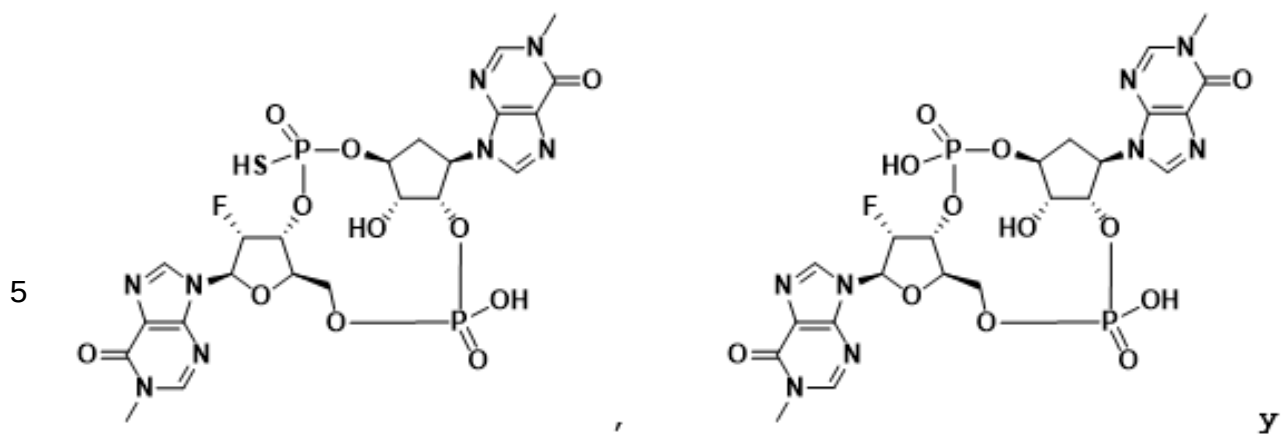


20



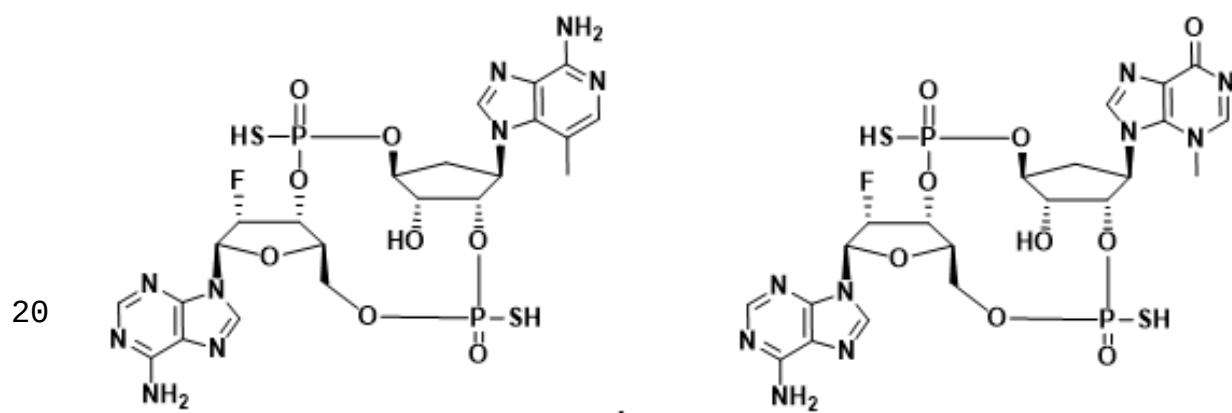


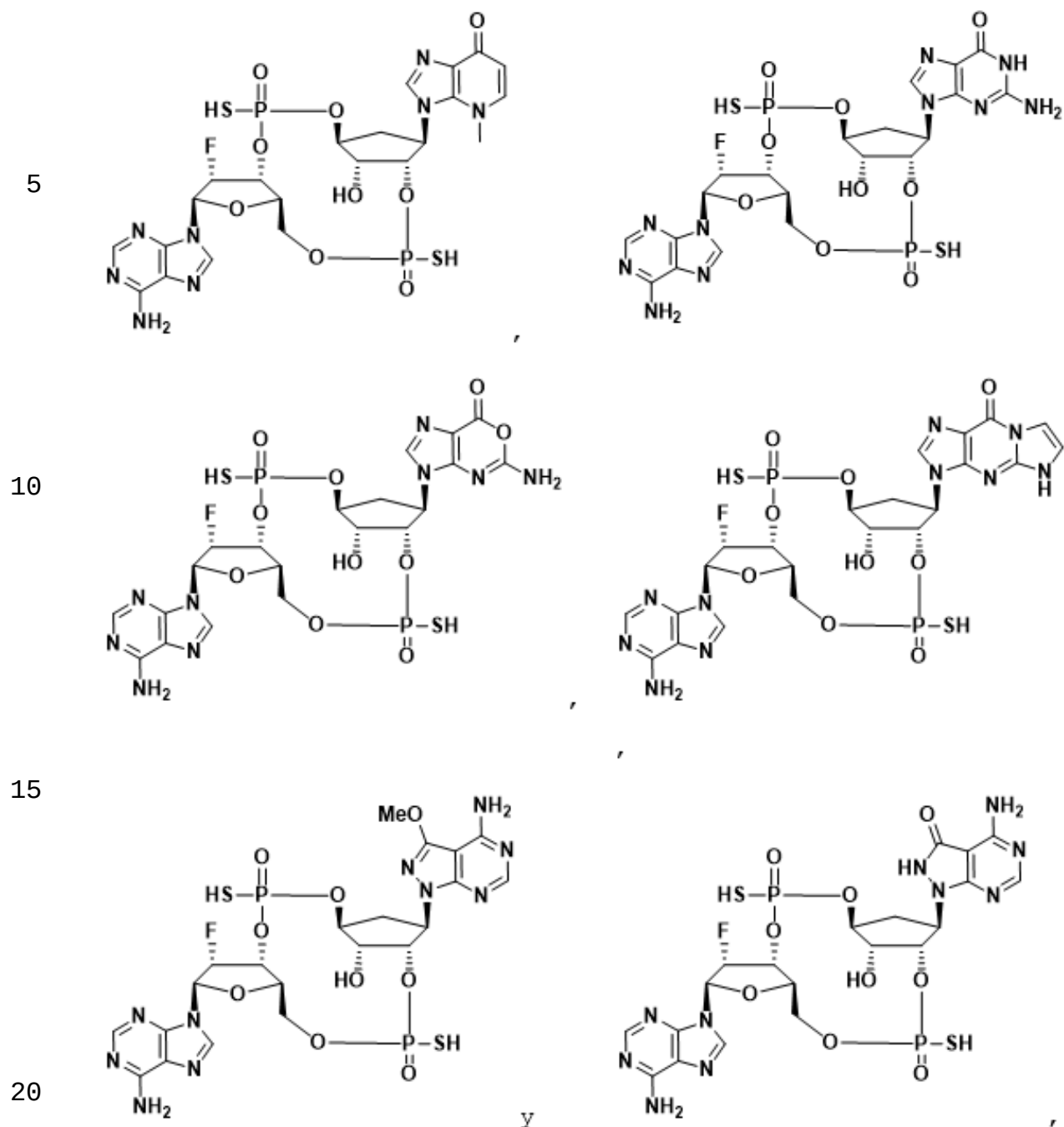
20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 28. Un compuesto seleccionado de:





acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-28.

30. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-27 o una sal farmacéuticamente aceptable
5 del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

31. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el compuesto es un componente de un conjugado anticuerpo-fármaco.

10 32. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-29, en donde el compuesto es un componente de un sistema de administración a base de partículas.

33. Un método para tratar un crecimiento celular
15 anormal en un mamífero, el método comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-29.

34. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto o sal es un componente de un conjugado anticuerpo-
20 fármaco.

35. El método de la reivindicación 33, en donde el compuesto o sal es un componente de un sistema de

administración a base de partículas.

36. El método de la reivindicación 33, en donde el crecimiento celular anormal es cáncer.

37. El método de la reivindicación 36, en donde el
5 cáncer es cáncer de pulmón, cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, cutáneo o melanoma intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de
10 Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cérvix, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula
15 adrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, cáncer de riñón o uréter, carcinoma de célula renal, carcinoma de la pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario
20 del SNC, tumores del eje espinal, glioma del tallo cerebral, o adenoma hipofisiario.

38. El uso de un compuesto o sal de acuerdo con

cualquiera de las reivindicaciones 1-29 para la preparación de un medicamento útil en el tratamiento de crecimiento celular anormal en un mamífero.

39. El uso de acuerdo con la reivindicación 38, en
5 donde el crecimiento celular anormal es cáncer.

40. El uso de acuerdo con la reivindicación 39, en donde el cáncer es cáncer de pulmón, cáncer óseo, cáncer pancreático, cáncer de piel, cáncer de cabeza o cuello, cutáneo o melanoma intraocular, cáncer uterino, cáncer ovárico, cáncer
10 rectal, cáncer de la región anal, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer de mama, cáncer uterino, carcinoma de las trompas de Falopio, carcinoma del endometrio, carcinoma del cérvix, carcinoma de la vagina, carcinoma de la vulva, enfermedad de Hodgkin, cáncer del esófago, cáncer del intestino
15 delgado, cáncer del sistema endócrino, cáncer de la glándula tiroides, cáncer de la glándula paratiroides, cáncer de la glándula adrenal, sarcoma de tejido blando, cáncer de la uretra, cáncer del pene, cáncer de próstata, leucemia crónica o aguda, linfoma linfocítico, cáncer de vejiga, cáncer de riñón
20 o uréter, carcinoma de célula renal, carcinoma de la pelvis renal, neoplasmas del sistema nervioso central (SNC), linfoma primario del SNC, tumores del eje espinal, glioma del tallo

cerebral, o adenoma hipofisiario.

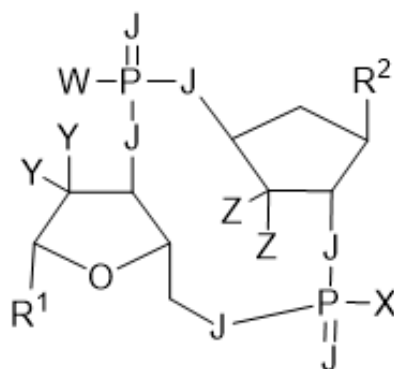
41. Un método para sobre-regular la actividad del STING en un mamífero, que comprende la etapa de administrar al mamífero una cantidad efectiva de un compuesto o sal de acuerdo
5 con cualquiera de las reivindicaciones 1-29.

42. Un método para incrementar los niveles de interferón-beta en un mamífero, que comprende la etapa de administrar al mamífero una cantidad efectiva de un compuesto o sal de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-29.

RESUMEN DE LA INVENCION

Compuestos de la fórmula general (I):

5



(I)

,

10

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, procesos para la preparación de estos compuestos, composiciones que contiene estos compuestos, y los usos de estos compuestos.