

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 801 448**

51 Int. Cl.:

C07H 19/173 (2006.01)

A61K 31/7076 (2006.01)

C07H 19/207 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.05.2017 PCT/GB2017/051549**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.12.2017 WO17207986**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.05.2017 E 17728596 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020 EP 3464309**

54 Título: **Derivados fosforamidata de nucleósidos como agentes anticancerígenos**

30 Prioridad:

01.06.2016 GB 201609601

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

11.01.2021

73 Titular/es:

**NUCANA PLC (100.0%)
3 Lochside Way
Edinburgh EH12 9DT, GB**

72 Inventor/es:

**GRIFFITH, HUGH;
SERPI, MICHAELA y
SLUSARCZYK, MAGDALENA**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 801 448 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados fosforamido de nucleósidos como agentes anticancerígenos

5 Esta invención se refiere a derivados de cladribina. Los compuestos son derivados fosforamido en los que la porción fosforamido se sitúa en el grupo 3'-hidroxilo de la cladribina. La invención también se refiere a formulaciones farmacéuticas de los derivados de cladribina y su uso en métodos de tratamiento. Los compuestos son útiles en el tratamiento del cáncer.

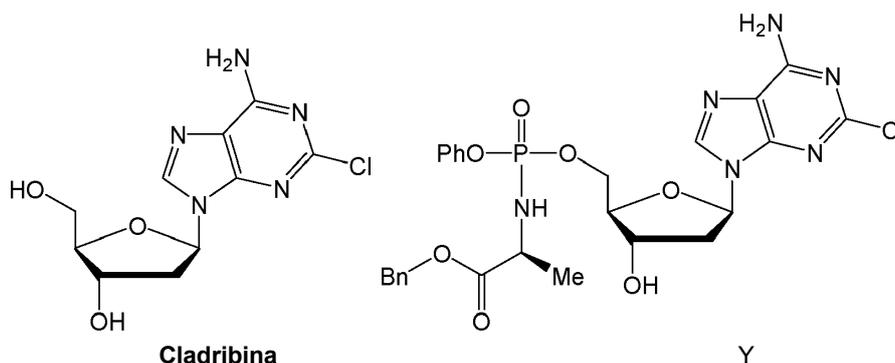
10 Antecedentes

Se sabe que algunos nucleósidos de purina modificados muestran potentes propiedades biológicas, incluyendo el potencial quimioterapéutico. Un ejemplo es la cladribina 1, un medicamento útil pero tóxico. Se administra mediante infusión para el tratamiento de la leucemia y, en particular, la leucemia de células pilosas. También se usa para la leucemia linfocítica crónica en pacientes que no responden a los regímenes estándares con agentes alquilantes.

Como con todos los análogos de nucleósidos, estos agentes requieren la activación mediada por una quinasa intracelular para sus formas 5'-fosfato bioactivas.

20 El documento WO2006100439 describe algunos derivados fosforamido de cladribina y sus actividades anticancerígenas. Los fosforamidos descritos en el documento WO2006100439 se sitúan en el grupo 5'-hidroxilo de la cladribina, por ejemplo, el compuesto Y, y la porción fosforamido actúa como un profármaco del nucleósido monofosfato.

25



35

40 Los fosforamidos como el compuesto Y se conocen como prótidos. Los prótidos puede ofrecer beneficios significativos en términos de aumentar las propiedades anticancerígenas de los nucleósidos, ya sea aumentando la potencia o evitando los mecanismos de resistencia inherentes y adquiridos ('Application of ProTide Technology to Gemcitabine: A Successful Approach to Overcome the Key Cancer Resistance Mechanisms Leads to a New Agent (NUC-1031) in Clinical Development"; Slusarczyk y otros; J. Med. Chem. ; 2014, 57, 1531-1542; *Phosphoramidate ProTides of the anticancer agent FUDR successfully deliver the preformed bioactive monophosphate in cells and confer advantage over the parent nucleoside*; J. Med. Chem.; 2011, 54, 7247-7258; y Vande Voorde y otros; The cytostatic activity of NUC-3073, a phosphoramidate prodrug of 5-fluoro-2'-deoxyuridine, is independent of activation by thymidine kinase and insensitive to degradation by phosphorolytic enzymes; Biochem. Pharmacol.; 2011, 82, 441-452). Otros derivados de nucleósidos para el tratamiento del cáncer también se describen en el documento WO2015/181624 A2.

50 Sin embargo, mientras que los 5'-fosforamidos han mostrado una excelente actividad anticancerígena, este no es típicamente el caso con los 3'-fosforamidos que generalmente muestran solo una baja actividad anticancerígena.

Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar nuevos compuestos contra el cáncer. Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar compuestos que sean compuestos anticancerígenos más efectivos que los compuestos de la técnica anterior.

Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar nuevos compuestos dirigidos contra células madre cancerosas. Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar compuestos que sean más efectivos para atacar células madre cancerosas, que los compuestos de la técnica anterior.

60

Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar compuestos que se afecten menos por la infección por micoplasma que los compuestos de la técnica anterior.

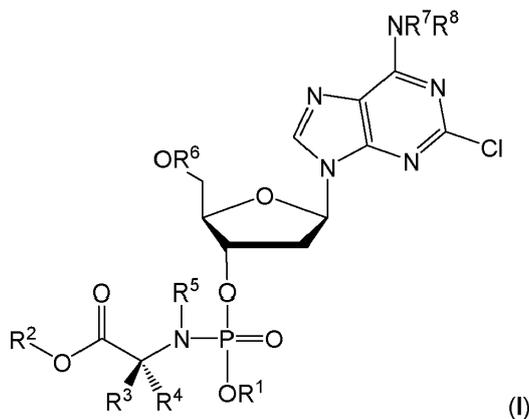
Es un objetivo de determinadas modalidades de esta invención proporcionar compuestos que se afecten menos por los mecanismos de resistencia al cáncer que los compuestos de la técnica anterior.

65

Determinadas modalidades de la invención logran algunos o todos los objetivos mencionados anteriormente.

Breve resumen de la descripción

5 De acuerdo con las presentes invenciones se proporciona un compuesto de la Fórmula (I) o un solvato o sal farmacéuticamente aceptable de éste:



25 R¹ es arilo;

R² se selecciona de C₁-C₂₄-alquilo, C₃-C₂₄-alquenilo, C₃-C₂₄-alquinilo, C₀-C₄-alquilen-C₃-C₇-cicloalquilo o C₀-C₄-alquilen-arilo;

30 R³ y R⁴ cada uno se selecciona independientemente de H, C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquilen-R⁹; o en donde R³ y R⁴ junto con el átomo al que están unidos forman un grupo cicloalquilo o heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros;

R⁵ y R⁷ cada uno se selecciona independientemente de H y C₁-C₄-alquilo;

35 R⁶ se selecciona independientemente de H y C(O)R¹⁰;

R⁸ se selecciona independientemente de H, C(O)OR¹⁰ y C(O)R¹⁰;

40 R⁹ se selecciona independientemente de arilo (por ejemplo, fenilo), imidazol, indol, SR^a, OR^a, CO₂R^a, CO₂NR^aR^a, NR^aR^b y NH(=NH)NH₂;

R¹⁰ se selecciona independientemente en cada caso de C₁-C₂₄-alquilo, C₃-C₂₄-alquenilo, C₃-C₂₄-alquinilo, C₀-C₄-alquilen-C₃-C₇-cicloalquilo o C₀-C₄-alquilen-arilo;

45 en donde cualquier grupo arilo es fenilo, naftilo o tetrahidronaftilo y en donde cualquier fenilo, alquilo, alquino, alqueno, alquilen, cicloalquilo, grupo naftilo o tetrahidronaftilo está opcionalmente sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de: halo, nitro, ciano, NR^aR^aNR^aS(O)₂R^aNR^aC(O)R^aNR^aCONR^aR^aNR^aCO₂R^a, O^a; SR^a, SOR^a, SO₃R^a, SO₂R^a, SO₂NR^aR^aCO₂R^aC(O)R^a, CONR^aR^a, CR^aR^aNR^aR^a, C₁-C₄-alquilo, C₂-C₄-alquenilo, C₂-C₄-alquinilo y C₁-C₄-haloalquilo;

50 en donde R^a se selecciona independientemente en cada caso de: H y C₁-C₄-alquilo; y R^b se selecciona independientemente en cada caso de: H y C₁-C₄-alquilo, C(O)-C₁-C₄-alquilo, S(O)₂-C₁-C₄-alquilo.

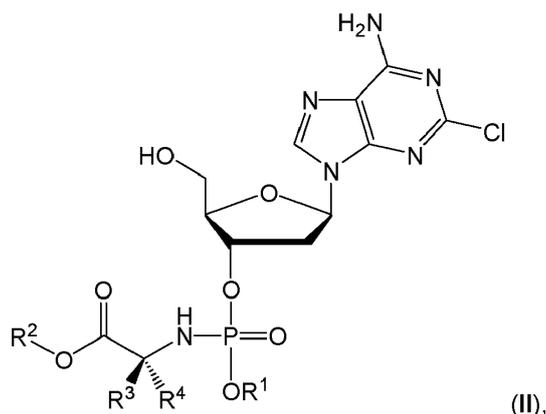
Sorprendentemente, los 3'-cladribina fosforamidatos de la invención tienden a ser más potentes que los correspondientes prótidos de 5'-cladribina. Esto es contrario a la tendencia que se observa generalmente para otros nucleósidos.

55 Se demostró que determinados 3'-cladribina fosforamidatos de la invención se dirigen a células madre cancerosas.

La potencia de los 3'-cladribina fosforamidatos de la invención en las células infectadas con micoplasma se reduce en una cantidad menor que la cladribina y los prótidos de 5'-cladribina.

60 En una modalidad, el compuesto de la Fórmula (I) es un compuesto de la Fórmula (II):

65



en donde R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se describió anteriormente para los compuestos de la fórmula (I).

20 Las siguientes declaraciones se aplican a los compuestos de la fórmula (I) o (II). Estas declaraciones son independientes e intercambiables. En otras palabras, cualquiera de las características descritas en cualquiera de las siguientes declaraciones puede (cuando sea químicamente permitido) combinarse con las características descritas en una o más de las siguientes declaraciones. En particular, cuando un compuesto se ejemplifica o ilustra en esta descripción, dos o más de las siguientes declaraciones que describen una característica de ese compuesto, expresada en cualquier nivel de generalidad, pueden combinarse para representar el tema que se contempla como formando parte de la divulgación de esta invención en esta descripción.

R^1 puede ser fenilo sustituido o no sustituido. R^1 puede ser naftilo sustituido o no sustituido (por ejemplo, 1-naftilo).

30 Preferentemente R^1 no está sustituido. Por lo tanto, R^1 puede ser fenilo no sustituido o naftilo no sustituido (por ejemplo, 1-naftilo). Por lo tanto, R^1 puede ser fenilo no sustituido. Alternativamente, R^1 puede ser naftilo no sustituido (por ejemplo, 1-naftilo). R^1 puede ser tetrahidronaftilo.

35 R^2 puede seleccionarse de C_2 - C_{10} -alquilo, C_5 - C_7 -cicloalquilo o CHR^{11} -fenilo; en donde R^{11} se selecciona de H y C_1 - C_4 -alquilo. Los grupos R^2 pueden estar no sustituidos.

40 R^2 se selecciona preferentemente de manera que comprenda cinco o más átomos de carbono. R^2 por lo tanto, puede seleccionarse de manera que incluya seis o más átomos de carbono. R^2 se selecciona preferentemente de manera que comprenda solo átomos de carbono e hidrógeno. R^2 puede seleccionarse de C_5 - C_7 -cicloalquilo, C_5 - C_8 -alquilo y bencilo, opcionalmente en donde dichos grupos no están sustituidos.

R^2 puede ser C_2 - C_{10} -alquilo. R^2 puede ser C_4 - C_8 -alquilo. Por lo tanto, R^2 puede seleccionarse de isobutilo, terc-butilo, n-butilo, n-pentilo, $CH_2C(Me)_3$ o n-hexilo.

45 R^2 puede ser C_5 - C_7 -cicloalquilo. Por lo tanto, R^2 puede ser ciclohexilo.

R^2 puede ser CHR^{11} -fenilo; en donde R^{11} se selecciona de H y C_1 - C_4 -alquilo. R^2 puede ser bencilo.

R^2 está preferentemente no sustituido.

50 Puede ser que uno de R^3 y R^4 es H y el otro se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, metionina, histidina, serina, cisteína, ácido glutámico, ácido aspártico, asparagina, glutamina, arginina, lisina, treonina, tirosina y triptófano. Puede ser que uno de R^3 y R^4 es H y el otro se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina. Puede ser que uno de R^3 y R^4 es H y el otro se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: alanina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina.

60 Puede ser que R^4 es H y R^3 se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, metionina, histidina, serina, cisteína, ácido glutámico, ácido aspártico, asparagina, glutamina, arginina, lisina, treonina, tirosina y triptófano. Puede ser que R^4 es H y R^3 se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina. Puede ser que R^4 es H y R^3 se selecciona de manera que sea una cadena lateral de un aminoácido seleccionado de: alanina, valina, leucina, isoleucina y fenilalanina. Así, el aminoácido ($NH_2CR^3R^4CO_2H$) del que se deriva la porción fosforamidato puede ser el L-aminoácido.

65

- Puede ser que R⁴ es H. Puede ser que R³ se selecciona de H, C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquileno-R⁹. Puede ser que R³ se selecciona de C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquileno-R⁹. Puede ser que R⁹ es fenilo.
- 5 Puede ser que uno de R³ y R⁴ es H y el otro se selecciona de: H, metilo, isopropilo, isobutilo y bencilo. Puede ser que uno de R³ y R⁴ es H y el otro se selecciona de: metilo, isopropilo, isobutilo y bencilo. Puede ser que uno de R³ y R⁴ es H y el otro es metilo.
- 10 Puede ser que R⁴ es H y R³ se selecciona de: H, metilo, isopropilo, isobutilo y bencilo. Puede ser que R⁴ es H y R³ se selecciona de: metilo, isopropilo, isobutilo y bencilo. Puede ser que R⁴ es H y R³ es metilo.
- 15 Puede ser que R³ es C₁-C₄-alquilo. Puede ser que R³ se selecciona de isopropilo, isobutilo y metilo. Puede ser que R³ es CH₂-fenilo.
- Puede ser que R³ es H. Puede ser que R⁴ se selecciona de H, C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquileno-R⁹. Puede ser que R⁴ se selecciona de C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquileno-R⁹. Puede ser que R⁹ es fenilo.
- 20 Puede ser que R⁴ es C₁-C₄-alquilo. Puede ser que R⁴ se selecciona de isopropilo, isobutilo y metilo. Puede ser que R⁴ es CH₂-fenilo.
- Puede ser que R⁴ y R³ son cada uno metilo.
- Puede ser que R⁴ es H, R³ es metilo y R² es bencilo.
- 25 Puede ser que R⁵ es C₁-C₄-alquilo. Preferentemente, sin embargo, R⁵ es H.
- Puede ser que R⁶ es C(O)R¹⁰. En esta modalidad, R¹⁰ puede ser C₁-C₄-alquilo. Preferentemente, sin embargo, R⁶ es H.
- Puede ser que R⁷ es C₁-C₄-alquilo. Preferentemente, sin embargo, R⁷ es H.
- 30 Puede ser que R⁸ es C(O)R¹⁰. Puede ser que R⁸ es C(O)O¹⁰. En estas modalidades, R¹⁰ puede ser C₈-C₂₄-alquilo. Preferentemente, sin embargo, R⁸ es H.
- Preferentemente, R⁷ y R⁸ son cada uno H. Preferentemente, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ son cada uno H.
- 35 El compuesto de la fórmula (I) puede ser un compuesto seleccionado de:
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-L-alaninil)]-fosfato,
- 40 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(terc-butoxi-L-alaninil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-D-alaninil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-glicinil)]-fosfato,
- 45 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-leucinil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)] fosfato,
- 50 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(pentoxi-L-leucinil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(ciclohexoxi-L-alaninil)]-fosfat
o,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(ciclohexoxi-L-alaninil)]-fosfato,
- 55 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-2,2-dimetilglicinil)]-fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-fenilalaninil)] fosfato,
- 60 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-fenilalaninil)] fosfato,
- 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-valinil)] fosfato,
- 65 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil(iso-propoxi-L-alaninil)] fosfato,

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2-butoxi-L-alaninil)] fosfato,

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-((S)-1-feniletoksi-L-alaninil)-fosfato,

5 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-alaninil) fosfato y

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato.

El compuesto de la fórmula (I) puede ser un compuesto seleccionado de:

10

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato y

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato.

15 Puede ser que el compuesto de la fórmula (I) sea una base libre.

Los compuestos de la invención comprenden un centro quiral en el átomo de fósforo. El compuesto puede estar presente como una mezcla de diastereoisómeros de fosfato, como el epímero (S) en el átomo de fósforo en forma diastereomérica sustancialmente pura o como el epímero (R) en el átomo de fósforo en forma diastereomérica sustancialmente pura.

20

'Diastereomérica sustancialmente pura' se define para los propósitos de esta invención como una pureza diastereomérica de más de aproximadamente 90 %. Si está presente como una forma diastereomérica sustancialmente pura, el compuesto puede tener una pureza diastereoisomérica superior al 95 %, 98 %, 99 %, o incluso 99,5 %. Alternativamente, el compuesto puede estar presente como una mezcla de diastereoisómeros de fosfato.

25

Los epímeros (R)- y/o (S)- de los compuestos se pueden obtener en forma diastereomérica sustancialmente pura mediante cromatografía, por ejemplo, HPLC mediante el uso opcionalmente de una columna quiral. Alternativamente, los epímeros (R)- y/o (S)- de los compuestos pueden obtenerse en forma diastereomérica sustancialmente pura mediante cristalización a partir de un solvente o sistema de solvente apropiado. En una alternativa adicional, los epímeros (R)- y/o (S) de los compuestos pueden obtenerse en forma diastereomérica sustancialmente pura mediante el acoplamiento de un derivado de cladribina adecuadamente protegido con un precursor de fosforamidato enriquecido diastereoméricamente y desprotegiéndolo subsecuentemente. Los (R)- y/o (S)- epímeros de los compuestos pueden obtenerse en forma diastereomérica sustancialmente pura mediante síntesis directa, por ejemplo, mediante el uso de los métodos descritos en los documentos WO2014/076490.

30

35

De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto del primer aspecto para su uso en un método para el tratamiento.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, se proporciona un compuesto del primer aspecto para su uso en la profilaxis o el tratamiento del cáncer.

40

De acuerdo con un cuarto aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto del primer aspecto en la fabricación de un medicamento para la profilaxis o el tratamiento del cáncer.

45

De acuerdo con un quinto aspecto de la presente invención, se proporciona un método para la profilaxis o tratamiento del cáncer que comprende administrar a un paciente que necesita de dicho tratamiento, una dosis efectiva de un compuesto de la presente invención.

50

Cada uno de los aspectos tercero, cuarto y quinto de la invención puede comprender modalidades para tratar el cáncer empleado en combinación con otra terapia contra el cáncer. Los ejemplos de otra terapia contra el cáncer incluyen radioterapia y/u otra quimioterapia.

55

Con respecto a cada uno de los aspectos tercero, cuarto y quinto de la presente invención, las modalidades de la invención comprenden un cáncer seleccionado entre tumores hematológicos y sólidos. En particular, el cáncer puede seleccionarse del grupo que consiste en leucemia, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, cáncer de piel (incluyendo el melanoma), carcinoma oral de células escamosas, cáncer urinario de vejiga, tumor de células de Leydig, cáncer de colon, cáncer colorrectal y cánceres ginecológicos, incluyendo el cáncer de ovario, cáncer uterino y cáncer de cuello uterino, incluyendo el carcinoma epitelial de cuello uterino. En modalidades preferidas, el cáncer es leucemia y puede seleccionarse del grupo que consiste en leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mielóide aguda o leucemia no linfocítica aguda), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica (también conocido como leucemia mielóide crónica, leucemia mielocítica crónica o leucemia granulocítica crónica), leucemia linfocítica crónica, leucemia monoblástica y leucemia de células pilosas. En modalidades preferidas adicionales, el cáncer es leucemia linfoblástica aguda.

60

65

Se encontró que determinados compuestos que incorpora la presente invención tienen una actividad anticancerígena mejorada, en comparación con los prótidos de 5'-cladribina, en el tratamiento de tumores sólidos, así como la leucemia.

5 Los ejemplos de tumores sólidos adecuados para su tratamiento con compuestos de la presente invención incluyen cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de cuello uterino y linfomas. Los ejemplos de linfomas adecuados para su tratamiento con compuestos de la invención incluyen el linfoma de Hodgkin y el linfoma no Hodgkin. Los ejemplos de leucemia adecuados para el tratamiento con compuestos de la presente invención incluyen leucemia mieloide, mieloma múltiple, leucemia mielógena crónica, leucemia mielógena aguda y leucemia linfocítica aguda.

10 El compuesto de la invención puede usarse para tratar el cáncer en un paciente con células infectadas con micoplasma. Por lo tanto, la invención puede proporcionar un método para tratar el cáncer en un paciente con células infectadas con micoplasma. Típicamente, las células infectadas con micoplasma serán células cancerosas infectadas con micoplasma.

15 La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas.

La invención proporciona el uso de un compuesto de la invención en la elaboración de un medicamento para atacar células madre cancerosas.

20 La invención proporciona un método para atacar células madre cancerosas, el método comprende proporcionar a una población de células madre cancerosas una cantidad de un compuesto de la invención suficiente para atacar tales células madre cancerosas.

El ataque a las células madre cancerosas a las que se hace referencia en la presente invención puede emplearse en la prevención o el tratamiento del cáncer. En tales modalidades, la población de células madre cancerosas puede estar en una afección cancerosa o precancerosa en un paciente que necesita tal tratamiento, y el método puede comprender administrar al paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención.

25 La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso como un medicamento para el cáncer de células madre. Este uso de un compuesto de la invención también puede emplearse en la prevención o el tratamiento del cáncer.

30 La invención proporciona un método para determinar si un paciente con cáncer o una afección precancerosa se beneficiará de la prevención o el tratamiento del cáncer con un compuesto de la invención, el método comprende: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o una afección precancerosa en el paciente para detectar la presencia de células madre cancerosas; en donde la presencia de células madre cancerosas en la muestra biológica indica que el paciente se beneficiará del tratamiento con un compuesto de la invención.

35 La invención proporciona un método para determinar un régimen de tratamiento adecuado para un paciente con cáncer o una afección precancerosa, comprendiendo el método: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o una afección precancerosa en el paciente para detectar la presencia de células madre cancerosas; en donde la presencia de células madre cancerosas en la muestra biológica indica que un régimen de tratamiento adecuado comprenderá el tratamiento del paciente con un compuesto de la invención.

40 La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en la prevención o el tratamiento del cáncer en un paciente seleccionado para dicho tratamiento mediante un método que comprende: analizar una muestra biológica representativa de cáncer o una afección precancerosa en el paciente para detectar la presencia de células madre cancerosas; en donde la presencia de células madre cancerosas en la muestra biológica indica que el paciente es adecuado para el tratamiento con un compuesto de la invención.

45 Los métodos expuestos anteriormente pueden comprender además una etapa de prevención o tratamiento del cáncer o afección precancerosa mediante el uso de un compuesto de la invención.

50 En modalidades adecuadas de los métodos de la invención, el cáncer es cáncer recurrente o refractario. Un compuesto de la invención puede usarse para el tratamiento de dicho cáncer recurrente o refractario.

55 La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento del cáncer refractario en un sujeto. El sujeto es un paciente humano.

La invención proporciona el uso de un compuesto de la invención en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un cáncer recurrente o refractario en un paciente humano.

60 La invención proporciona un método para tratar el cáncer recurrente o refractario en un sujeto, el método comprende proporcionar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención a un sujeto que necesita dicho tratamiento.

65 De acuerdo con aspectos adicionales de la presente invención, se proporciona un compuesto de la presente invención para su uso en un método de profilaxis o tratamiento, un uso de un compuesto de la presente invención en la elaboración de medicamentos para su uso en un método de profilaxis o tratamiento y un método de profilaxis o tratamiento de un paciente que comprende la administración de un compuesto de la presente invención a un paciente que lo necesita, en

donde, en cada caso, el método de profilaxis o tratamiento comprende un método de profilaxis o tratamiento del síndrome mielodisplásico.

5 De acuerdo con un sexto aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprenden un compuesto del primer aspecto, en combinación con un excipiente aceptable farmacéuticamente.

10 De acuerdo con un séptimo aspecto de la presente invención, se proporciona un método para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de combinar un compuesto del primer aspecto con un excipiente aceptable farmacéuticamente.

15 Varios aspectos de la invención se basan en el hallazgo de que un compuesto de la invención puede reducir el número de células madre cancerosas de manera preferencial. Este hallazgo es sorprendente porque se sabe que las células madre cancerosas son resistentes a muchos agentes quimioterapéuticos, y no se sugirió previamente que un compuesto de la invención o cladribina, el compuesto original del que se deriva un compuesto de la invención, fueran capaces de atacar las células madre cancerosas. Por lo tanto, el hallazgo de que un compuesto de la invención puede atacar las células madre cancerosas y, por lo tanto, reducir su número, un hallazgo que los inventores confirmaron que es aplicable en una amplia gama de cánceres, representa un avance sorprendente que permite una gama de nuevas aplicaciones terapéuticas de un compuesto de la invención.

20 Descripción detallada

25 Los compuestos en las formulaciones de la invención pueden obtenerse, almacenarse y/o administrarse en forma de una sal aceptable farmacéuticamente. Las sales aceptables farmacéuticamente adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos inorgánicos aceptables farmacéuticamente tales como los ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, nítrico, carbónico, bórico, sulfámico, y bromhídrico, o sales de ácidos orgánicos aceptables farmacéuticamente tales como los ácidos acético, propiónico, butírico, tartárico, maleico, hidroximaleico, fumárico, málico, cítrico, láctico, mícico, glucónico, benzoico, succínico, oxálico, fenilacético, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, sulfanílico, aspártico, glutámico, edético, esteárico, palmítico, oleico, láurico, pantoténico, tánico, ascórbico y valérico. Las sales básicas adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatrina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y zinc. También pueden formarse hemisales de ácidos y bases, por ejemplo, sales de hemisulfato y hemicálcico. Preferentemente, los compuestos de la invención no están en forma de una sal, es decir, están en forma de la base libre/ácido libre.

35 El término C_m-C_n se refiere a un grupo con m a n átomos de carbono.

El término "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado saturado lineal o ramificado. Un grupo alquilo es monovalente. Por ejemplo, C_1-C_6 -alquilo puede referirse a metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo. Los grupos alquilo están preferentemente no sustituidos.

40 El término "cicloalquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático saturado cíclico. Un grupo alquilo es monovalente. Por ejemplo, C_5-C_7 -cicloalquilo puede referirse ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Los grupos cicloalquilo están preferentemente no sustituidos.

45 El término "alquilenilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada lineal. Un grupo alquilenilo es divalente. Por ejemplo, C_1 -alquilenilo puede referirse a un grupo CH_2 . C_2 -alquilenilo puede referirse a un grupo $-CH_2CH_2-$. Los grupos alquilenilo están preferentemente no sustituidos.

50 El término "alqueniilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que contiene al menos un enlace doble carbono-carbono. El(los) enlace(s) doble(s) puede(n) estar presente(s) como el isómero *E* o *Z*. El enlace doble puede estar en cualquier posición posible de la cadena de hidrocarburo. Por ejemplo, " C_2-C_4 -alqueniilo" puede referirse a etenilo, alilo y butenilo. Los grupos alqueniilo están preferentemente no sustituidos.

55 El término "alquinilo" se refiere a una cadena de hidrocarburo lineal o ramificada que contiene al menos un enlace triple carbono-carbono. El enlace triple puede estar en cualquier posición posible de la cadena de hidrocarburo. Por ejemplo, " C_2-C_6 -alquinilo" puede referirse a etinilo, propinilo, butinilo. Los grupos alquinilo están preferentemente no sustituidos.

60 El término "arilo" se refiere a grupos fenilo, grupos naftilo y grupos tetrahidronaftilo. El término "arilo" puede referirse a grupos fenilo o grupos naftilo. Los grupos arilo (por ejemplo, los grupos naftilo o fenilo) pueden estar no sustituidos.

La presente invención también incluye todas las formas de los compuestos de la invención marcados con isótopos aceptables farmacéuticamente en donde uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o número de masa atómica diferente de la masa atómica o número de masa atómica encontrado más comúnmente en la naturaleza.

65

Los ejemplos de isótopos adecuados para su inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^2H y ^3H , carbono, tal como ^{11}C , ^{13}C y ^{14}C , cloro, tal como ^{36}Cl , flúor, tal como ^{18}F , yodo, tal como ^{123}I y ^{125}I , nitrógeno, tal como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tal como ^{15}O , ^{17}O y ^{18}O , fósforo, tal como ^{32}P y azufre, tal como ^{35}S .

5 Determinados compuestos marcados con isótopos, por ejemplo, los que incorporan un isótopo radiactivo, son útiles en los estudios de distribución de fármacos y/o sustratos en los tejidos. Los isótopos radioactivos de tritio, es decir, ^3H , y carbono-14, es decir ^{14}C , ^{18}F son particularmente útiles para este propósito en vistas de su fácil incorporación y rápidos medios de detección.

10 La sustitución con isótopos más pesados tal como el deuterio, es decir, ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas como resultado de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, un incremento de la vida media *in vivo* o reducción de los requerimientos de dosificación, y de ahí que pueden preferirse en algunas circunstancias.

15 Los compuestos marcados con isótopos generalmente pueden prepararse mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos mediante el uso de un reactivo marcado con isótopo apropiado en lugar del reactivo no marcado que se empleó previamente.

20 Los compuestos de la presente invención pueden usarse en el tratamiento del cuerpo humano. Pueden usarse en el tratamiento del cuerpo de un animal. En particular, los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar animales comerciales tales como ganado. Alternativamente, los compuestos de la presente invención pueden usarse para tratar animales de compañía tales como gatos, perros, etcétera.

25 Los compuestos de la invención pueden existir en una forma cristalina única o en una mezcla de formas cristalinas o pueden ser amorfos. Por lo tanto, los compuestos de la invención destinados a uso farmacéutico pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos. Estos pueden obtenerse, por ejemplo, como películas, polvos o tapones sólidos por métodos tales como la precipitación, cristalización, liofilización, o secado por pulverización, o secado por evaporación. El secado por microondas o radio frecuencia puede usarse para este propósito.

30 Para los compuestos de la invención mencionados anteriormente, la dosis administrada variará, por supuesto, con el compuesto empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado y el trastorno indicado. Por ejemplo, si el compuesto de la invención se administra por vía parenteral, entonces la dosificación del compuesto de la invención puede estar en el intervalo de 0,1 a 5 g/m², por ejemplo de 0,5 a 2 g/m². El tamaño de la dosis para fines terapéuticos de los compuestos de la invención variará naturalmente de acuerdo con la naturaleza y la gravedad de las afecciones, la edad y el sexo del animal o el paciente y la vía de administración, de acuerdo con los principios bien conocidos de la medicina.

35 Se espera que los niveles de dosificación, la frecuencia de la dosis y la duración del tratamiento de los compuestos de la invención difieran en dependencia de la formulación y la indicación clínica, la edad y las condiciones médicas comórbidas del paciente.

40 Un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, puede usarse por sí solo, pero generalmente se administrará en forma de una composición farmacéutica en la que los compuestos de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, se asocian a un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de formulaciones farmacéuticas adecuadas se describen en, por ejemplo, "Pharmaceuticals - The Science of Dosage Form Designs", M. E. Aulton, Churchill Livingstone, 1988.

45 En dependencia del modo de administración de los compuestos de la invención, la composición farmacéutica que se usa para administrar los compuestos de la invención comprenderá preferentemente de 0,05 a 99 % en peso (porcentaje en peso) de compuestos de la invención, con mayor preferencia de 0,05 % a 80 % en peso de compuestos de la invención, aún más preferentemente de 0,10 a 70 % en peso de compuestos de la invención, aún con mayor preferencia de 0,10 a 50 % en peso de los compuestos de la invención, todos los porcentajes en peso se basan en la composición total.

50 Para la administración oral, los compuestos de la invención pueden mezclarse con un adyuvante o un portador, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol; un almidón, por ejemplo, almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina; un derivado de celulosa; un aglutinante, por ejemplo, gelatina o polivinilpirrolidona; y/o un lubricante, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de calcio, polietilenglicol, cera, parafina y similares, y a continuación se comprimen en tabletas. Si se requieren tabletas recubiertas, los núcleos, preparados como se describió anteriormente, pueden recubrirse con una solución de azúcar concentrada que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco y dióxido de titanio. Alternativamente, la tableta puede recubrirse con un polímero adecuado disuelto en un solvente orgánico fácilmente volátil.

55 Para la preparación de cápsulas de gelatina blanda, los compuestos de la invención pueden mezclarse, por ejemplo, con un aceite vegetal o polietilenglicol. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos del compuesto mediante el uso de los excipientes mencionados anteriormente para tabletas. También las formulaciones líquidas o semisólidas del compuesto de la invención se pueden rellenar en cápsulas de gelatina dura.

60

Las preparaciones líquidas para aplicación oral pueden estar en forma de jarabes o suspensiones, por ejemplo, soluciones que contienen el compuesto de la invención, la porción es azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerol y propilenglicol. Opcionalmente dichas preparaciones líquidas pueden contener agentes colorantes, agentes aromatizantes, agentes edulcorantes (como la sacarina), agentes conservantes y/o carboximetilcelulosa como agente espesante u otros excipientes conocidos por los expertos en la técnica.

Para la administración parenteral (por ejemplo intravenosa) los compuestos de la invención pueden administrarse como una solución acuosa u oleosa estéril. Los compuestos de la invención son muy lipofílicos. Las formulaciones acuosas pueden, por lo tanto, también contener un solvente orgánico polar aceptable farmacéuticamente.

El tamaño de la dosis para fines terapéuticos de los compuestos de la invención variará naturalmente de acuerdo con la naturaleza y la gravedad de las afecciones, la edad y el sexo del animal o el paciente y la vía de administración, de acuerdo con los principios bien conocidos de la medicina.

Se espera que los niveles de dosificación, la frecuencia de la dosis y la duración del tratamiento de los compuestos de la invención difieran en dependencia de la formulación y la indicación clínica, la edad y las condiciones médicas comórbidas del paciente.

El método de tratamiento o el compuesto a usar en el tratamiento del cáncer puede implicar, además del compuesto de la invención, cirugía convencional o radioterapia o quimioterapia. Tal quimioterapia puede incluir la administración de uno o más de otros agentes activos.

Cuando se administra un agente activo adicional como parte de un método de tratamiento de la invención, dicho tratamiento combinado puede lograrse mediante la dosificación simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Dichos productos de combinación emplean los compuestos de esta invención dentro de un intervalo de dosificación terapéuticamente efectivo descrito anteriormente en la presente y el otro agente farmacéuticamente activo dentro de su intervalo de dosificación aprobado.

Por lo tanto, las formulaciones farmacéuticas de la invención pueden comprender otro agente activo.

El uno o más agentes activos adicionales pueden ser una o más de las siguientes categorías de agentes antitumorales:

(i) fármacos antiproliferativos/antineoplásicos y sus combinaciones, tal como agentes alquilantes (por ejemplo, ciclofosfamida, mostaza de nitrógeno, bendamustina, melfalan, clorambucilo, busulfan, temozolamida y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo, gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo y tegafur, raltitrexed, metotrexato, pemetrexed, citocina arabinosida, e hidroxiaurea); antibióticos (por ejemplo, antraciclinas como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomomicina y mitramicina); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina y taxoides como taxol y taxotere e inhibidores de poloquinasa); inhibidores del proteasoma, por ejemplo, carfilzomib y bortezomib; terapia de interferón; platinos (tal como cisplatino y carboplatino); e inhibidores de la topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecán, mitoxantrona y camptotecina);

(ii) agentes citostáticos como los antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno y yodoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo, goserelina, leuprorelina y buserelina), progestágenos (por ejemplo, acetato de megestrol), inhibidores de aromataza (por ejemplo, como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano) e inhibidores de 5 α -reductasa tal como finasteride;

(iii) agentes anti-invasión, por ejemplo, dasatinib y bosutinib (SKI-606), e inhibidores de la función del receptor del activador del plasminógeno de la uroquinasa o anticuerpos contra la heparanasa;

(iv) inhibidores de la función del factor de crecimiento: por ejemplo, tales inhibidores incluyen anticuerpos contra el factor de crecimiento y anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento, por ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab, inhibidores de la tirosina quinasa, por ejemplo, inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, inhibidores de la tirosina quinasa de la familia EGFR tal como gefitinib, erlotinib y 6-acrilamido-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)-quinazolin-4-amina (CI 1033), inhibidores de la tirosina quinasa erbB2 tales como lapatinib); inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos; inhibidores de la familia del factor de crecimiento de la insulina; moduladores de proteínas reguladoras de la apoptosis celular (por ejemplo, inhibidores de Bcl-2); inhibidores de la familia del factor de crecimiento derivado de las plaquetas tal como imatinib y/o nilotinib (AMN107); inhibidores de serina/treonina quinasas (por ejemplo, inhibidores de señalización de Ras/RAF tales como inhibidores de la farnesilo transferasa, por ejemplo, sorafenib, tipifarnib y lonafarnib), inhibidores de la señalización celular a través de MEK y/o AKT quinasas, inhibidores de c-kit, inhibidores de quinasa abl, inhibidores de la quinasa PI3, inhibidores de la quinasa PI3, inhibidores de la quinasa CSF-1R, receptor de IGF, inhibidores de la quinasa; inhibidores de la aurora quinasa e inhibidores de quinasa dependiente de ciclina tales como inhibidores de CDK2 y/o CDK4;

- (v) agentes antiangiogénicos, tales como los que inhiben los efectos del factor de crecimiento vascular endotelial, [por ejemplo, el anticuerpo anti-factor de crecimiento de células endoteliales vasculares bevacizumab (Avastin™); talidomida; lenalidomida; y, por ejemplo, un inhibidor del receptor tirosina quinasa de VEGF tal como vandetanib, vatalanib, sunitinib, axitinib y pazopanib;
- (vi) enfoques de terapia génica, que incluye, por ejemplo, enfoques para reemplazar genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante;
- (vii) enfoques de inmunoterapia, incluyendo, por ejemplo terapia de anticuerpos tales como alemtuzumab, rituximab, ibritumomab tiuxetan (Zevalin®) y ofatumumab; interferones tal como interferón α ; interleucinas tal como IL-2 (aldesleucina); inhibidores de interleucina, por ejemplo, inhibidores de IRAK4; vacunas contra el cáncer que incluyen vacunas profilácticas y de tratamiento tales como vacunas HPV, por ejemplo, Gardasil, Cervarix, Oncophage y Sipuleucel-T (Provenge); y moduladores de receptores tipo toll, por ejemplo, agonistas de TLR-7 o TLR-9; y
- (viii) agentes citotóxicos, por ejemplo, fludaribina (fludara), cladribina, pentostatina (Nipent™);
- (ix) esteroides tales como corticosteroides, incluyendo glucocorticoides y mineralocorticoides, por ejemplo, aclometasona, dipropionato de aclometasona, aldosterona, amcinonida, beclometasona, dipropionato de beclometasona, betametasona, dipropionato de betametasona, fosfato de sodio de betametasona, valerato de betametasona, budesonida, clobetasona, butirato de clobetasona, propionato de clobetasol, cloprednol, cortisona, acetato de cortisona, cortivazol, deoxicortona, desonida, desoximetasona, dexametasona, fosfato de sodio de dexametasona, isonicotinato de dexametasona, difluorocortolona, fluciclorolona, flumetasona, flunisolida, fluocinolona, acetónido de fluocinolona, fluocinonida, fluocortin butilo, fluorocortisona, fluorocortolona, caproato de fluocortolona, pivalato de fluocortolona, fluorometolona, fluprednido, acetato de fluprednido, flurandrenolona, fluticasona, propionato de fluticasona, halcinonida, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, aceponato de hidrocortisona, buprato de hidrocortisona, valerato de hidrocortisona, icometasona, embutato de icometasona, meprednisona, metilprednisolona, mometasona parametasona, furoato de mometasona monohidrato, prednicarbato, prednisolona, prednisona, tixocortol, pivalato de tixocortol, triamcinolona, acetónido de triamcinolona, alcohol triamcinolona y sus respectivos derivados aceptables farmacéuticamente. Puede usarse una combinación de esteroides, por ejemplo, una combinación de dos o más esteroides mencionados en este párrafo;
- (x) terapias dirigidas, por ejemplo, inhibidores de PI3Kd, por ejemplo, idelalisib y perifosina; o compuestos que inhiben PD-1, PD-L1 y CAR T.

El uno o más de otros agentes activos también pueden ser antibióticos.

"Células madre cancerosas"

Las células madre cancerosas, que a veces se denominan "células iniciadoras de tumores", se conocen bien por los expertos en la técnica. Como se usa en la presente descripción, el término "célula madre cancerosa" debe interpretarse de acuerdo con su significado ampliamente aceptado, que es una célula que posee la capacidad de autorrenovarse a través de la división asimétrica, iniciar la formación de tumores y dar lugar a más progenie de células cancerosas maduras que no son células madre, por diferenciación.

Las células madre cancerosas juegan un papel importante en el desarrollo, progresión, recurrencia y propagación de los cánceres. En consecuencia, el hallazgo de que los compuestos de la invención pueden atacar células madre cancerosas y, de esta manera, reducir su número, ofrece posibilidades terapéuticas para prevenir o tratar estas actividades.

Como se discutió con más detalle en otra parte de la descripción, las células madre cancerosas se encuentran en afecciones precancerosas, donde se cree que su presencia contribuye al desarrollo de tales afecciones a cánceres. En consecuencia, los métodos de tratamiento y usos médicos de la invención, en los que se usa un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas, pueden usarse para reducir el número de células madre cancerosas en afecciones precancerosas (tales como el síndrome mielodisplásico u otras afecciones) considerado en otra parte de la descripción) y, por lo tanto, para prevenir la progresión de tales afecciones precancerosas a cáncer.

Como se mencionó anteriormente, la división celular asimétrica de las células madre cancerosas da lugar a células cancerosas diferenciadas que no son células madre. Por lo tanto, las células madre cancerosas son responsables de la formación y el mantenimiento de la mayor parte del tumor.

La acumulación de estas células cancerosas que no son células madre desempeña un papel importante en la progresión de los cánceres. El tratamiento de las células madre cancerosas mediante un compuesto de la invención puede reducir el número de células madre cancerosas, lo que a su vez reduce el número de progenie de células cancerosas que no son células madre. Por lo tanto, los métodos de tratamiento y los usos médicos de un compuesto de la invención de acuerdo con la presente invención son beneficiosos en el tratamiento del cáncer al prevenir la progresión del cáncer. Dichas modalidades se describen con más detalles en otra parte de la presente descripción.

Las células madre cancerosas también pueden actuar como una fuente de células cancerosas que pueden causar la recurrencia del cáncer después de la remisión. Incluso en el caso de que la mayoría de las células cancerosas de un paciente se hayan extirpado (por ejemplo, mediante cirugía, radioterapia o quimioterapia, solas o combinadas), de modo que no queden signos observables de cáncer, la presencia continua de células madre cancerosas puede iniciar la recurrencia del cáncer con el tiempo. El tratamiento de las células madre cancerosas por un compuesto de la invención proporciona un nuevo modo por el cual puede reducirse el número de células madre cancerosas y eliminar células madre cancerosas. Por consiguiente, y como se discute con más detalle en otra parte de la descripción, en modalidades adecuadas, la presente invención proporciona métodos y usos médicos en los que un compuesto de la invención previene o retrasa la recurrencia del cáncer.

Además, el movimiento de células madre cancerosas desde el sitio de un cáncer a otra ubicación dentro del cuerpo puede contribuir a la propagación del cáncer, por ejemplo, dando lugar a metástasis. En consecuencia, la capacidad de un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas proporciona, por lo tanto, nuevos métodos de tratamiento y usos médicos para prevenir o tratar la propagación del cáncer.

Además de sus actividades biológicas, las células madre cancerosas pueden identificarse por su expresión de determinados marcadores característicos de la superficie celular. Las células madre cancerosas identificadas en neoplasias hematológicas son típicamente CD34⁺, mientras que en tumores sólidos, CD44⁺, CD133⁺ y CD90⁺ se han identificado como marcadores de células madre cancerosas. La siguiente tabla resume ejemplos de fenotipos conocidos de la superficie de células madre cancerosas. Se espera que cada una de estas formas de células madre cancerígenas pueda atacarse mediante el uso de un compuesto de la invención de acuerdo con la invención, por lo que los métodos o usos que emplean un compuesto de la invención pueden usarse en la prevención o el tratamiento de cánceres asociados con células madre cancerosas que expresan cualquiera de estos conjuntos de marcadores.

Tipo de tumor	Marcadores de superficie celular reportados para células madre cancerosas
<i>Tumores sólidos</i>	
Mama	CD44 ⁺ / CD24 ⁻ / ^{bajo} /Linaje ⁻ / ESA ⁺
CNS	CD133 ⁺
Colon	CD133 ⁺
Colon	ESA ^{alto} / CD44 ⁺ /Linaje ⁻ / (CD166 ⁺)
De Ewing	CD133 ⁺
Cabeza y Cuello	CD44 ⁺ /Linaje ⁻
Melanoma	ABCB5 ⁺
Hígado	CD90 ⁺ / CD45 ⁻ / (CD44 ⁺)
Colangiocarcinoma	CD44 ⁺ / GLI1 ⁺ (Oncogén homólogo-1 asociado a glioma)
Ovario	CD44 ⁺ /CD117 ⁺
Páncreas	CD44 ⁺ / CD24 ⁺ / ESA ⁺
Páncreas	CD133 ⁺
Cáncer de pulmón de células no pequeñas	CD44 ⁺ / Ber-EP4 ⁺
Cáncer de vejiga	CD44 ⁺ / ALDH1A1 ⁺
<i>Tumores hematológicos</i>	
Leucemia mieloide aguda	Lin ⁻ /CD34 ⁺ /CD38 ⁻ /CD123 ⁺
Leucemia linfoblástica aguda-B	CD34 ⁺ /CD10 ⁻ o CD34 ⁺ /CD19 ⁻
Leucemia linfoblástica aguda-B	CD34 ⁺ / CD38 ⁻ / CD19 ⁺
Mieloma múltiple	CD34 ⁻ /CD138 ⁻
Leucemia linfoblástica aguda-T	CD34 ⁺ /CD4 ⁻ o CD34 ⁺ /CD7 ⁻

5 Los datos presentados en los Ejemplos demuestran que un compuesto de la invención puede atacar a células madre cancerosas de líneas de células madre leucémicas, específicamente células madre cancerosas presentes en la línea celular de leucemia mieloide aguda KG1a. Esta línea celular manifiesta un menor compartimento de células madre con un inmunofenotipo distinto (Lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/ CD123⁺) que puede atacarse con un compuesto de la invención. Por consiguiente, los métodos de tratamiento o usos médicos de un compuesto de la invención de acuerdo con la presente invención pueden usarse para prevenir o tratar la leucemia u otros cánceres asociados con células madre cancerosas que expresan estos marcadores característicos.

10 La presente invención también proporciona métodos y usos médicos en los que los pacientes se seleccionan para la prevención o el tratamiento del cáncer, utilizando un compuesto de la invención, sobre la base de la identificación de la presencia de células madre cancerosas en una muestra biológica representativa del cáncer del paciente o la afección precancerosa. Los marcadores expuestos anteriormente proporcionan ejemplos adecuados que pueden usarse para identificar la presencia de células madre cancerosas de acuerdo con tales modalidades de la invención. Las técnicas adecuadas mediante las cuales puede investigarse la expresión de estos marcadores en una muestra biológica se consideran adicionalmente en otra parte en esta descripción.

"Tratamiento de células madre cancerosas"

20 La presente invención proporciona la primera indicación de que los compuestos de la invención pueden usarse para atacar células madre cancerosas. La capacidad de los compuestos de la invención para atacar células madre cancerosas se ilustra en los ejemplos descritos en esta descripción.

25 Puede verse en los ejemplos que cuando se proporciona un compuesto de la invención a poblaciones de células cancerosas que contienen células madre cancerosas, se atacan las células madre cancerosas presentes, lo que conduce a una reducción en el número total de células cancerosas y en la proporción del total células cancerosas que exhiben marcadores fenotípicos de células madre cancerosas.

30 Si bien el compuesto profármaco original, la cladribina, puede atacar células madre cancerosas a determinadas concentraciones más altas, los compuestos de la invención demuestran la capacidad de lograr dicho objetivo en un intervalo más amplio de concentraciones. Notablemente, los estudios *in vitro*, cuyos resultados se informan en la presente solicitud, demuestran que los compuestos de la invención son capaces de atacar las células madre cancerosas a bajas concentraciones de manera más efectiva que la cladribina. A determinadas concentraciones, la mejora en la selección de células madre cancerosas es tal que la proporción de células madre cancerosas que permanecen en una población de células tratadas con un compuesto de la invención es significativamente menor que para una población de células tratadas con cladribina. Se apreciará que la capacidad de lograr un tratamiento efectivo a las células madre cancerosas a bajas concentraciones de agentes citotóxicos generalmente será conveniente ya que esto reduce la posibilidad de efectos secundarios no deseados.

40 Se cree que los compuestos de la invención poseen una mayor permeabilidad en la membrana celular (en comparación con la cladribina), y que esto contribuye a la potencia anticancerígena mejorada de los compuestos de la invención en comparación con el nucleósido original del que derivan.

45 Sin desear limitarse a ninguna hipótesis, los inventores creen que la reducción en el número de células madre cancerosas surge como resultado de la eliminación selectiva de las células madre cancerosas entre la población de células cancerosas. Es decir, que los compuestos de la invención parecen eliminar células madre cancerosas preferentemente en comparación con la eliminación de células no cancerosas, lo que provoca la muerte de las células madre cancerosas y una reducción de la proporción de células madre cancerosas entre el total de la población de células cancerosas.

50 Si bien los inventores creen que los compuestos de la invención eliminan preferentemente las células madre cancerosas en comparación con las células cancerosas que no son células madre, otros mecanismos también pueden contribuir a la reducción en la proporción de células madre cancerosas causada por un compuesto de la invención como que ataca estas células.

55 Simplemente a manera de ejemplo, el tratamiento con un compuesto de la invención puede causar un aumento en la diferenciación de células madre cancerosas, reduciendo de esta manera el número de células madre cancerosas y también la proporción que representan las células madre cancerosas del total de células cancerosas. Alternativamente, un compuesto de la invención puede hacer que las células madre cancerosas pierdan su fenotipo de células madre, por ejemplo, pierdan su capacidad de autorrenovarse, reduciendo de esta manera el número de células madre cancerosas.

60 Las referencias al tratamiento de las células madre cancerosas en la presente descripción deben interpretarse en consecuencia. Para los propósitos de la presente descripción, puede considerarse que el "tratamiento" de células madre cancerosas abarca cualquier mecanismo por el cual un compuesto de la invención reduce la proporción de células madre cancerosas presentes en una población de células, ya sea *in vitro* o *in vivo*. En particular, el tratamiento de las células madre cancerosas puede considerarse que abarca la eliminación preferencial de las células madre cancerosas en comparación con otros tipos de células, particularmente en comparación con las células cancerosas que no son células madre.

"Prevención o tratamiento del cáncer"

La invención proporciona usos médicos y métodos de tratamiento en los que se usa un compuesto de la invención para la prevención o el tratamiento del cáncer. En el contexto de la presente invención, la "prevención" del cáncer debe considerarse relacionada con aplicaciones profilácticas de un compuesto de la invención usado antes del desarrollo del cáncer, y con el objetivo de detener el desarrollo del cáncer. Por otro lado, se considera que el "tratamiento" del cáncer se refiere al uso de un compuesto de la invención después de que se produjo el cáncer, con el fin de mejorar el cáncer disminuyendo o deteniendo la proliferación de células cancerosas y el crecimiento tumoral. Ventajosamente, el tratamiento del cáncer puede causar una reducción parcial o total en el número de células cancerosas y el tamaño del tumor. El tratamiento efectivo del cáncer puede provocar una enfermedad que "estabiliza" o "responde" de acuerdo con las reglas RECIST (Criterios de evaluación de respuesta en tumores sólidos).

Como se describe con más detalle a continuación, la prevención del cáncer de acuerdo con la presente invención puede ser de beneficio particular en pacientes que tienen una afección precancerosa que aumenta su posibilidad de desarrollar cáncer.

"Prevención del cáncer"

La prevención del cáncer de acuerdo con la presente invención puede efectuarse mediante el tratamiento de una afección precancerosa mediante el uso de un compuesto de la invención de acuerdo con los diversos aspectos o modalidades de la invención descritos en la presente descripción.

En particular, la prevención del cáncer, en el contexto de la presente invención, puede lograrse mediante los métodos o usos médicos de la invención en los que se proporciona un compuesto de la invención a un paciente con una afección precancerosa. Los métodos de tratamiento o usos médicos de acuerdo con esta modalidad pueden prevenir el desarrollo a cáncer de la afección precancerosa tratada, proporcionando de esta manera una prevención efectiva del cáncer.

Las referencias a la prevención del cáncer en el contexto de la presente invención también pueden abarcar otras aplicaciones profilácticas de un compuesto de la invención. Por ejemplo, la capacidad de un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas y, por lo tanto, prevenir el desarrollo del cáncer y/o prevenir la progresión del cáncer y/o prevenir la recurrencia del cáncer y/o prevenir la propagación del cáncer.

"Afecciones precancerosas"

El desarrollo de una afección precancerosa suele preceder el cáncer, esta no es cancerosa en sí misma, pero se asocia con un mayor riesgo de cáncer. La acumulación de cambios genéticos o epigenéticos puede causar que células previamente normales desarrollen un fenotipo de células madre cancerosas. En consecuencia, las células madre cancerosas también pueden estar presentes en tales afecciones precancerosas, así como también en afecciones cancerosas.

Se cree que la presencia de células madre cancerosas en afecciones precancerosas contribuye al desarrollo a cáncer de estas afecciones. Los métodos y usos médicos de la invención pueden emplearse para atacar células madre cancerosas presentes en afecciones precancerosas y, por lo tanto, tratar dichas afecciones. Se apreciará que el hallazgo nuevo e inesperado de que los compuestos de la invención atacan células madre cancerosas significa que el tratamiento de afecciones precancerosas con tales compuestos puede usarse para prevenir que las afecciones tratadas se desarrollen a cáncer. Esto representa una forma en que un compuesto de la invención puede usarse médicamente en la prevención del cáncer, como se considera en otra parte en esta descripción.

Los ejemplos de afecciones precancerosas que pueden tratarse de acuerdo con la presente invención incluyen, entre otras, las seleccionadas del grupo que consiste en: queratosis actínica, esófago de Barrett, gastritis atrófica, disqueratosis congénita, disfagia sideropénica, liquen plano, fibrosis submucosa oral, elastosis solar, displasia cervical, leucoplasia, eritroplaquia, gammapatía monoclonal de significado desconocido (MGUS), linfocitosis monoclonal de células B (MBL), síndromes mielodisplásicos, así como también afecciones precancerosas del estómago como gastritis atrófica úlcera gástrica, anemia perniciosa, muñones gástricos, pólipos gástricos y enfermedad de Ménétier. Entre las afecciones precancerosas del estómago enumeradas, la gastritis atrófica, la anemia perniciosa, los muñones gástricos y determinados tipos de pólipos gástricos pueden tener un riesgo particularmente elevado de desarrollarse a cánceres.

Las afecciones precancerosas a menudo toman la forma de lesiones que comprenden células displásicas o hiperplásicas. En consecuencia, la presencia de displasia o hiperplasia, puede usarse en la identificación de afecciones precancerosas, como alternativa o en conjunto con la presencia de células con marcadores expresados o con fenotipos característicos de células madre cancerosas.

La gravedad de la displasia puede variar entre diferentes afecciones precancerosas o con el desarrollo de una sola afección precancerosa con el tiempo. Generalmente, cuanto más avanzada es la displasia asociada con una afección precancerosa, más probable es que la afección precancerosa se convierta en cáncer. La displasia típicamente se clasifica en leve, moderada o grave. La displasia severa generalmente se convierte en cáncer si no se trata. Adecuadamente, los

métodos de tratamiento o usos médicos que emplean un compuesto de la invención pueden por lo tanto usarse para tratar a un paciente con una afección precancerosa asociada con displasia severa.

En una modalidad adecuada de la invención, un compuesto de la invención se usa para tratar a un paciente con displasia cervical severa. La displasia cervical severa puede diagnosticarse por medio de una prueba citológica. En otra modalidad de la invención, un compuesto de la invención se usa para tratar la displasia esofágica severa ("esófago de Barrett"). La displasia esofágica grave puede diagnosticarse después de una biopsia de tejido.

Se informó recientemente que las pre-malignidades también pueden identificarse mediante la detección de mutaciones somáticas en células en individuos que no se conoce que tienen cáncer. En particular, se informó que la hematopoyesis clonal relacionada con la edad es una afección premaligna común que se asocia con una mayor mortalidad general y un mayor riesgo de enfermedad cardiometabólica. La mayoría de las mutaciones detectadas en las células sanguíneas ocurrieron en tres genes: DNMT3A, TET2 y ASXL1. En consecuencia, los pacientes que se beneficiarán del uso de un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas y, por lo tanto, tratar una afección precancerosa, pueden identificarse analizando una muestra que comprende células sanguíneas para detectar la presencia de mutaciones genéticas indicativas de un afección precancerosa en al menos uno de: DNMT3A y/o TET2 y/o ASXL1.

Las afecciones precancerosas que pueden beneficiarse del tratamiento con un compuesto de la invención de acuerdo con la invención para atacar células madre cancerosas también pueden identificarse mediante la determinación de la presencia de células madre cancerosas con referencia a cualquiera de las técnicas basadas en la expresión de marcadores característico de las células madre cancerosas, o los fenotipos de células madre cancerosas, discutido en otra parte de la descripción.

"Tratamiento de cáncer"

El experto en la materia apreciará que existen muchas medidas por las cuales puede evaluarse el "tratamiento" del cáncer. Simplemente a manera de ejemplo, puede considerarse que cualquier reducción o prevención del desarrollo del cáncer, la progresión del cáncer, la recurrencia del cáncer o la propagación del cáncer indican un tratamiento efectivo del cáncer.

En determinadas modalidades, puede usarse un compuesto de la invención: para reducir la proporción de células madre cancerosas en una población de células cancerosas; y/o para inhibir el crecimiento tumoral; y/o para reducir la tumorigénesis; y/o para prevenir o tratar un cáncer primario; y/o para prevenir o tratar un cáncer recurrente; y/o para prevenir o tratar un cáncer metastásico o secundario; y/o para tratar, prevenir o inhibir metástasis o recurrencia; y/o para tratar o prevenir el cáncer refractario.

La capacidad del tratamiento del cáncer al usar un compuesto de la invención para lograr una reducción en el tamaño del tumor y también para mantener la reducción en el tamaño del tumor durante/después del período en el que se administra el tratamiento representa una indicación particularmente relevante de un tratamiento efectivo contra el cáncer. Como se expone en los Ejemplos, los tratamientos o usos médicos de la invención demostraron ser sorprendentemente efectivos a este respecto, incluso en modelos que usan células representativas de cánceres recurrentes o refractarios que previamente fueron resistentes al tratamiento con otras terapias.

Los datos presentados en los Ejemplos ilustran que el tratamiento con un compuesto de la invención reduce la proporción de células madre cancerosas en una población de células cancerosas. Las actividades biológicas características o los marcadores de la superficie celular mediante los cuales pueden identificarse las células madre cancerosas se describen en otra parte de la descripción. En una modalidad adecuada, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de células madre cancerosas presentes en el cáncer de un paciente de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 %, o al menos al menos 40 %. En modalidades adecuadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de células madre cancerosas presentes en el cáncer de un paciente de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 % o al menos 80 % . El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de células madre cancerosas presentes en el cáncer de un paciente de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 %. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en la proporción de células madre cancerosas presentes en el cáncer de un paciente de al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 % (de manera que sustancialmente no quedan células madre cancerosas).

La división asimétrica de las células madre cancerosas contribuye al crecimiento de los tumores. El tratamiento del cáncer con un compuesto de la invención de acuerdo con la presente invención puede provocar una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 % o al menos 40 %. El tratamiento adecuado del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 % o al menos 80 %. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 % en un paciente tratado de esta manera. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una inhibición del crecimiento tumoral de al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o incluso 100 % en un cáncer tratado.

- 5 El crecimiento tumoral puede evaluarse mediante cualquier método adecuado en el que el cambio en el tamaño de un tumor se evalúa en el tiempo. Adecuadamente, el tamaño de un tumor antes del tratamiento del cáncer puede compararse con el tamaño del mismo tumor durante o después del tratamiento para el cáncer. Se conocen varias formas en que puede evaluarse el tamaño de un tumor. Por ejemplo, el tamaño de un tumor puede evaluarse mediante imagenología del tumor *in situ* dentro de un paciente. Las técnicas adecuadas, como las técnicas de imagenología, pueden permitir determinar el volumen de un tumor y evaluar los cambios en el volumen del tumor.
- 10 Como se muestra en los resultados establecidos en los Ejemplos de esta descripción, los métodos de tratamiento y usos médicos de un compuesto de la invención son capaces no solo de detener el crecimiento tumoral, sino que también pueden lograr una reducción en volumen del tumor en pacientes con cánceres, incluyendo pacientes con cánceres recurrentes o refractarios. El tratamiento adecuado del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 % o al menos 40 %. En modalidades adecuadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 % o al menos 80 %. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en el volumen del tumor de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 %. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en el volumen tumoral de al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o incluso 100 %.
- 20 Puede calcularse una reducción en el volumen tumoral del tipo descrito anteriormente con referencia a un control adecuado. Por ejemplo en estudios realizados *in vitro* o *in vivo* en modelos animales adecuados, la reducción en el volumen del tumor puede determinarse mediante comparación directa entre el volumen de un tumor tratado con un compuesto de la invención y el volumen de un tumor control (que puede no haberse tratado o puede haber recibido un tratamiento diferente al de un compuesto de la invención). Se apreciará que tales modelos que requieren la ausencia de tratamiento de un tumor pueden no ser éticamente aceptables en el contexto de ensayos clínicos o manejo terapéutico de pacientes, y en este caso puede evaluar una reducción en el volumen del tumor comparando el volumen de un tumor tratado con el volumen del mismo tumor antes del tratamiento, o con un volumen predicho que el tumor habría alcanzado si no se hubiera administrado el tratamiento.
- 30 Los métodos de tratamiento y los usos médicos de un compuesto de la invención pueden provocar una reducción en los biomarcadores indicativos de cáncer. La reducción de tales biomarcadores proporciona una evaluación adicional mediante la cual puede demostrarse un tratamiento efectivo para el cáncer. Los ejemplos adecuados de tales biomarcadores pueden seleccionarse en función del tipo de cáncer a tratar: en el caso de los cánceres ginecológicos, CA125 representa un ejemplo adecuado de un biomarcador, mientras que en el caso de los cánceres pancreáticos o biliares, CA19.9 representa un ejemplo adecuado de un biomarcador, y en el caso de los cánceres colorrectales, el CEA puede ser un biomarcador adecuado.
- 40 El tratamiento adecuado del cáncer de acuerdo con la presente invención puede dar lugar a una reducción de biomarcadores de cáncer de al menos 10 %, al menos 20 %, al menos 30 % o al menos 40 %. En modalidades adecuadas, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción de biomarcadores de cáncer de al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 % o al menos 80 %. El tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción de biomarcadores de cáncer de al menos 85 %, al menos 90 % o al menos 95 %. De hecho, el tratamiento del cáncer de acuerdo con la invención puede dar lugar a una reducción en los biomarcadores de cáncer de al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o incluso 100 %.
- 45 Los efectos beneficiosos, tales como una reducción en la proporción de células madre cancerosas presentes, reducción en el crecimiento tumoral o reducción en el volumen tumoral o biomarcadores de cáncer, observados en el tratamiento del cáncer de acuerdo con la presente invención pueden mantenerse durante al menos un mes. Adecuadamente, tales efectos beneficiosos pueden mantenerse durante al menos dos meses, al menos tres meses, al menos cuatro meses, al menos cinco meses o al menos seis meses. De hecho, dichos efectos beneficiosos pueden mantenerse durante al menos 12 meses, al menos 18 meses o al menos 24 meses. Adecuadamente, los efectos beneficiosos pueden mantenerse durante al menos tres años, al menos cuatro años, al menos cinco años, al menos seis años, al menos siete años, al menos ocho años, al menos nueve años o durante diez años o más.
- 50 En una modalidad adecuada de la invención, un compuesto de la invención se usa en un método para prevenir o tratar cáncer o una afección premaligna, dirigiéndose a células madre cancerosas. En una modalidad adecuada, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención en un método para prevenir o tratar el cáncer o una afección premaligna, en donde el método reduce la tumorigénesis de una o más células madre cancerosas. Adecuadamente, tales métodos pueden prevenir la progresión del cáncer o inhibir el crecimiento tumoral.
- 60 Cuando un compuesto de la invención se usa en métodos o usos médicos de la presente invención para prevenir o tratar la progresión de un cáncer, dicha prevención o tratamiento puede hacer que la progresión del cáncer se ralentice, se retrase o se detenga por completo.
- 65 El progreso de un cáncer típicamente se determina asignando una etapa al cáncer. La asignación de una etapa generalmente se lleva a cabo dando un número de I a IV al cáncer, siendo I un cáncer aislado y IV un cáncer que se ha extendido hasta el límite de lo que mide la evaluación. Los detalles de la estadificación varían entre los cánceres, pero la

etapa generalmente tiene en cuenta el tamaño de un tumor, si invadió órganos adyacentes, a cuántos ganglios linfáticos regionales (cerca) se diseminó (si los hay) y si apareció en ubicaciones más distantes (metástasis).

5 Generalmente, la etapa I se localiza en una parte del cuerpo y puede tratarse mediante resección quirúrgica (para tumores sólidos que son lo suficientemente pequeños). La etapa II está localmente avanzada y puede tratarse con quimioterapia, radioterapia, cirugía o una combinación de las mismas. La Etapa III también está localmente avanzada y la designación de la Etapa II o la Etapa III depende del tipo específico de cáncer, aunque la Etapa III es generalmente aceptada como localmente avanzada "tardía". Los cánceres en etapa IV a menudo han hecho metástasis a un segundo órgano. El tratamiento del cáncer mediante el uso de un compuesto de la invención en los métodos o usos médicos de la presente invención puede usarse para tratar un cáncer en etapa I, II, III o IV al dirigirse a células madre cancerosas. El tratamiento con un compuesto de la invención puede usarse para prevenir la progresión de un cáncer de una etapa a la siguiente. En una modalidad, el tratamiento con un compuesto de la invención se usa para prevenir la progresión de la Etapa I a la Etapa II. En otra modalidad, el tratamiento con un compuesto de la invención se usa para prevenir la progresión de la Etapa II a la Etapa III. En aún otra modalidad más, el tratamiento con un compuesto de la invención se usa para evitar la progresión de la Etapa III a la Etapa IV.

20 La prevención o inhibición de la progresión del cáncer es particularmente importante para prevenir la propagación del cáncer, por ejemplo, la progresión de la Etapa I a la Etapa II, donde el cáncer se disemina localmente, o la progresión de la Etapa III a la Etapa IV, donde el cáncer hace metástasis a otros órganos. Las células madre cancerosas son tumorigénicas y, por lo tanto, se cree que desempeñan un papel fundamental en la propagación del cáncer, tanto local como metastáticamente. Por lo tanto, los métodos de tratamiento o usos médicos de la invención que emplean un compuesto de la invención pueden usarse para prevenir la propagación del cáncer, dirigiéndose a las células madre cancerosas tumoral y reduciendo así su número.

25 **"Cánceres"**

Determinados compuestos de la invención demuestran una mayor actividad anticancerígena en comparación con la cladribina de la que derivan. Este aumento en la actividad anticancerígena parece proporcionarse como resultado de una mayor actividad contra las células madre cancerosas y las células cancerosas que no son células madre.

30 Las células madre cancerosas juegan un papel en la actividad biológica de una amplia gama de cánceres. En consecuencia, hay una amplia gama de cánceres que pueden prevenirse o tratarse de acuerdo con la presente invención.

35 Como se discutió en otra parte en la presente descripción, se sabe que las células madre cancerosas están presentes en muchos tipos de tumores, incluyendo los tumores líquidos (incluyendo los tumores hematológicos, tal como las leucemias y los linfomas) y los tumores sólidos (tal como los de mama, pulmón, colon, próstata, ovario, piel, vejiga, tumores biliares y pancreáticos). Por lo tanto, se espera que los métodos de tratamiento y los usos médicos de un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas sean útiles en la prevención o el tratamiento de tales cánceres.

40 Adecuadamente, un compuesto de la invención puede usarse en la prevención o el tratamiento de un cáncer seleccionado del grupo que consiste en: leucemia, linfoma, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, cáncer de piel (incluyendo melanoma), carcinoma oral de células escamosas, cáncer de vejiga urinaria, tumor de células de Leydig, cáncer biliar, como colangiocarcinoma o cáncer de vías biliares, cáncer pancreático, cáncer de colon, cáncer colorrectal y cáncer ginecológico, incluido cáncer de ovario, cáncer de endometrio, Cáncer de trompa de Falopio, cáncer uterino y cáncer cervical, incluido el carcinoma epitelial de cuello uterino. En modalidades adecuadas, el cáncer es leucemia y puede seleccionarse del grupo que consiste en leucemia linfoblástica aguda, leucemia mielógena aguda (también conocida como leucemia mielóide aguda o leucemia no linfocítica aguda), leucemia promielocítica aguda, leucemia linfocítica aguda, leucemia mielógena crónica (también conocida como leucemia mielóide crónica, leucemia mielocítica crónica o leucemia granulocítica crónica), leucemia linfocítica crónica, leucemia monoblástica y leucemia de células pilosas. En modalidades preferidas adicionales, el cáncer es leucemia linfoblástica aguda. En una modalidad adecuada, el cáncer es linfoma, que puede seleccionarse del grupo que consiste en: Linfoma de Hodgkin; no linfoma de Hodgkin; Linfoma de Burkitt; y linfoma linfocítico pequeño.

55 Atacar adecuadamente las células madre cancerosas en tales cánceres puede lograr un tratamiento efectivo del cáncer al prevenir o tratar el desarrollo del cáncer, al prevenir o tratar la progresión del cáncer, al prevenir o tratar la recurrencia del cáncer, o al prevenir o tratar la propagación del cáncer.

60 En una modalidad adecuada, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas en la prevención o el tratamiento del cáncer metastásico.

En una modalidad adecuada, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas en el tratamiento de cáncer recurrente o refractario.

65 En una modalidad adecuada, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas en el tratamiento de un cáncer primario. Adecuadamente, el cáncer primario tratado puede ser un segundo cáncer primario.

La invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas en el tratamiento del cáncer secundario. En una modalidad adecuada, el cáncer secundario es un cáncer metastásico.

5 En una modalidad adecuada, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de células madre cancerosas, en donde el tratamiento de células madre cancerosas previene o inhibe: (i) la recurrencia de un cáncer; (ii) la aparición de un segundo cáncer primario; o (iii) la metástasis de un cáncer.

10 Los métodos de tratamiento o usos médicos en los que se emplea un compuesto de la invención sobre la base de su capacidad para atacar células madre cancerosas pueden usarse en el tratamiento del cáncer recurrente o refractario. Las consideraciones con respecto al cáncer recurrente o refractario en tales modalidades son, excepto cuando el contexto lo requiere de cualquier otra manera, las mismas que para el tratamiento del cáncer recurrente o refractario en relación con los otros aspectos de la invención.

15 **"Cáncer recurrente o refractario"**

Como indicó anteriormente, determinados aspectos y modalidades de la invención se refieren particularmente al uso de un compuesto de la invención en el tratamiento de cánceres recurrentes o refractarios.

20 Para los fines de la presente invención, los cánceres refractarios pueden tomarse como cánceres que muestran resistencia al tratamiento mediante terapias anticancerígenas distintas de las que utilizan un compuesto de la invención. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede usarse en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes al tratamiento con radioterapia. Alternativamente, o adicionalmente, un compuesto de la invención puede usarse en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes a los agentes biológicos usados en el tratamiento del cáncer. En una modalidad adecuada, un compuesto de la invención puede usarse en el tratamiento de cánceres refractarios que son resistentes al
25 tratamiento con agentes quimioterapéuticos distintos de un compuesto de la invención.

En particular, los cánceres refractarios que pueden beneficiarse de los métodos de tratamiento de usos médicos de la invención que emplean un compuesto de la invención incluyen aquellos cánceres que son resistentes a la cladribina.

30 Los cánceres recidivantes (o cánceres recurrentes) son aquellos que regresan después de un período de remisión durante el cual el cáncer no puede detectarse. La recurrencia del cáncer puede ocurrir en el sitio del cáncer original (recurrencia local del cáncer), en un sitio cercano al del cáncer original (recurrencia regional del cáncer) o en un sitio alejado del cáncer original (recurrencia distal del cáncer). Se cree que las células madre cancerosas juegan un papel en la recurrencia del cáncer, proporcionando una fuente a partir de la cual se generan las células del cáncer recurrente. En consecuencia, los
35 métodos de tratamiento y usos médicos de un compuesto de la invención de acuerdo con la invención, que permiten atacar células madre cancerosas, pueden ser de gran beneficio en el contexto de cánceres recurrentes. La capacidad de un compuesto de la invención para atacar células madre cancerosas puede usarse para eliminar las poblaciones de tales células que pueden dar lugar a la recurrencia, evitando así la incidencia de cáncer recurrente. La actividad anticancerígena para células madre de un compuesto de la invención también puede usarse para atacar células madre cancerosas en
40 cánceres que recurrentes, así como también para potencialmente ejercer efectos citotóxicos en células no cancerosas, proporcionando de esta manera el tratamiento de cánceres recurrentes.

45 En vista de lo anterior, se apreciará que un compuesto de la invención puede usarse en los métodos o usos de la invención para la prevención o el tratamiento de un cáncer recurrente. Un compuesto de la invención puede usarse en los métodos o usos de la invención para la prevención o el tratamiento de un cáncer recurrente local, regional o distante.

50 Un compuesto de la invención puede usarse en los métodos o usos de la invención para prevenir la recurrencia del cáncer proporcionando al menos 2 meses, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o al menos 30 meses de remisión. De hecho, un compuesto de la invención puede usarse para prevenir la recurrencia del cáncer proporcionando al menos 4 años, al menos 5 años, al menos 6 años, al menos 7 años, al menos 8 años, al menos 9 años o al menos 10 años de remisión.

55 Un compuesto de la invención puede usarse en los métodos o usos de la invención para tratar un cáncer recurrente que ha recurrido después de al menos 2 meses, al menos 6 meses, al menos 12 meses, al menos 18 meses, al menos 24 meses, o al menos 30 meses de remisión. De hecho, un compuesto de la invención puede usarse para tratar un cáncer recurrente que ha recurrido después de al menos 4 años, al menos 5 años, al menos 6 años, al menos 7 años, al menos 8 años, al menos 9 años, o al menos 10 años de remisión.

60 La capacidad de los compuestos de la invención para atacar células madre cancerosas da lugar a la capacidad de estos compuestos para prevenir o tratar el cáncer de acuerdo con los usos médicos o los métodos de tratamiento de la invención. Sin embargo, se debe señalar que los compuestos de la invención también ejercen un efecto citotóxico directo sobre las células cancerosas que no son células madre, que constituyen la mayor parte de los tumores. Si bien la actividad de las células madre cancerosas puede ser la base de gran parte de la resistencia que hace que los cánceres recurrentes o refractarios sean tan difíciles de tratar, las células cancerosas que no son células madre también son un componente
65 importante de dichos cánceres recurrentes o refractarios.

Determinados compuestos de la invención ejercen mayores efectos citotóxicos sobre las células cancerosas que no son células madre que la cladribina, la molécula quimioterapéutica de la que se derivan los compuestos de la invención. En consecuencia, el mecanismo por el cual un compuesto de la invención actúa en el tratamiento del cáncer recurrente o refractario puede no limitarse únicamente a la actividad anticancerígena de este compuesto sobre células madre, sino que también puede actuar en células cancerosas que no son células madre. En tales usos, el tratamiento con un compuesto de la invención reducirá el número total de células madre cancerosas y de células cancerosas que no son células madre, pero preferentemente reducirá la proporción de células madre cancerosas que quedan después del tratamiento.

10 **Dosis terapéuticamente efectivas de un compuesto de la invención.**

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención puede ser una cantidad suficiente para inducir la muerte de las células cancerosas. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención puede ser una cantidad suficiente para inducir la muerte de células madre cancerosas. En algunas modalidades, particularmente las relacionadas con el tratamiento del cáncer recurrente o refractario, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención puede ser una cantidad suficiente para inducir la muerte de células madre cancerosas y también para inducir la muerte de células cancerosas que no son células madre.

Existen varias formas diferentes en las que puede calcularse y expresarse la cantidad de un compuesto terapéuticamente efectiva, como un compuesto de la invención, para administrar a un paciente. Una de esas formas, que se considera particularmente relevante en dosis de agentes para la prevención o el tratamiento del cáncer, es en la cantidad del agente que se administrará por unidad de superficie corporal del paciente. Dichas dosis se expresan típicamente en términos de la cantidad del agente (que puede determinarse en masa) por metro cuadrado (m²) de área superficial.

A través de toda la descripción y reivindicaciones de esta descripción, las palabras "comprenden" y "contienen" y las variaciones de las palabras significa "que incluyen pero sin limitarse a", y no se pretende excluir (y no se excluyen) otras porciones, aditivos componentes, enteros o etapas. A través de toda la descripción y reivindicaciones de esta descripción, el singular abarca el plural a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera. En particular, donde se use el artículo indefinido en la descripción, se entiende que contempla los plurales así como también los singulares, a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera.

Los rasgos, números enteros, características, compuestos, porciones químicas o grupos descritos junto con un aspecto particular, modalidad o ejemplo de la invención se entiende que son aplicables a cualquier otro aspecto, modalidad o ejemplo descrito en la presente descripción a menos que sea incompatible con estos. Todas las características descritas en esta descripción (que incluyen cualquier reivindicación, resumen y figuras adjuntas), y/o todas las etapas de cualquier método o proceso así descrito, pueden combinarse en cualquier combinación, excepto las combinaciones donde al menos algunas de tales características y/o etapas son mutuamente excluyentes. La invención no se restringe a los detalles de ninguna modalidad anterior. La invención se extiende a cualquier característica nueva, o cualquier combinación nueva de las características descritas en esta descripción (incluyendo cualquier reivindicación, resumen y dibujos adjuntos), o a cualquier característica nueva o cualquier combinación nueva, de las etapas de cualquier método o proceso así revelado.

La atención del lector se dirige a todos los artículos y documentos que se presenten simultáneamente o anteriores a la presente descripción en relación con esta solicitud y los cuales están abiertos a la inspección pública con esta descripción.

45 **EJEMPLOS**

EJEMPLO 1 - PROCEDIMIENTOS SINTÉTICOS

Las abreviaturas y términos siguientes tienen los significados indicados a lo largo de la descripción:

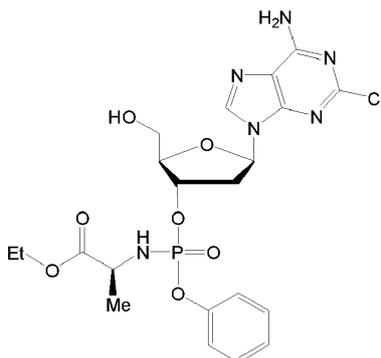
DCM - diclorometano	DMF- <i>N,N</i> -dimetilformamida
TBDMS - <i>tert</i> -butildimetilsililo	TFA - ácido trifluoroacético
THF - tetrahidrofurano	MeOH - metanol
br s - señal amplia	cloruro de <i>t</i> buMgCl- <i>tert</i> -butil magnesio

5'-*O*-*tert*-butildimetilsilil cladribina A

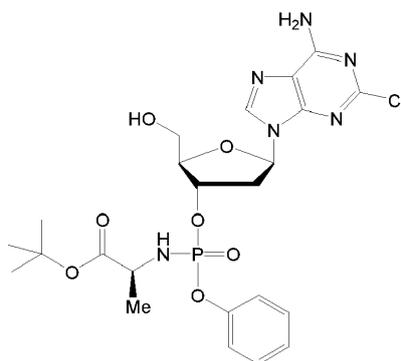
Se disolvió cladribina (0,25 g, 0,88 mmol) en DMF anhidro (10 ml), TBDMSCl (0,15 g, 1,03 mmol) y se añadió imidazol (0,26 g, 3,82 mmol) en atmósfera de argón. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas antes de añadir agua. El precipitado se filtró y se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice para obtener (0,12 g, 27 %) 3',5'-bis-*O*-*tert*-butildimetilsilil cladribina y el producto deseado (0,12 g, 34 %). ¹H NMR (500 MHz, DMSO): δ 8,28 (1H, s, H-8), 7,78 (2H, br s, NH₂), 6,26 (1H, t, *J* = 6,6 Hz, H-1'), 5,39 (1H, br s, 3'-OH), 4,40 (1H, m, H-3'), 3,87 (1H, m, H-4'), 3,84 - 3,68 (2H, m, 2 x H-5'), 2,69, 2,33 (2H, 2 xm, 2 x H-2') 0,85 (9H, s, C (CH₃)₃), 0,02 (6H, s, Si(CH₃)₂).

Procedimiento estándar A

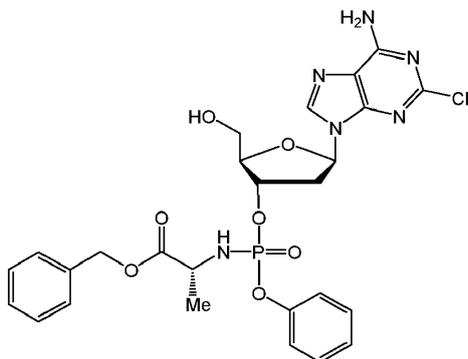
El nucleósido A protegido (78 mg, 0,20 mmol) se disolvió en tetrahidrofurano anhidro bajo argón y se añadió gota a gota *t*BuMgCl 1 M en THF (0,4 ml, 0,4 mmol), después se añadió lentamente el fosfocloridato deseado (0,4 mmol) en THF anhidro. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El solvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice con MeOH al 3 % en DCM como eluyente. El compuesto obtenido se disolvió en H₂O/THF (1:1) y se añadió TFA gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se añadió NaHCO₃ para neutralizar la solución. Los solventes se evaporaron y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice y cromatografía preparativa de capa fina (TLC) (10 % MeOH en DCM).

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-L-alaninil)]-fosfato 1

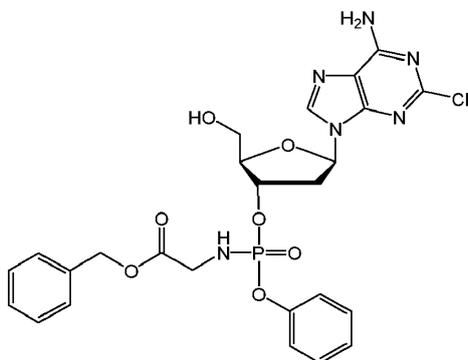
Se preparó de acuerdo con un Procedimiento Estándar A, mediante el uso de cladribina A 5'-protegida (0,1 g, 0,17 mmol) en THF anhidro, *t*BuMgCl (solución 1 M THF, 0,34 ml, 0,34 mmol), fosfocloridato de (etoxi-L-alaninil)-fenilo (0,10 g, 0,34 mmol). Después de la desprotección con TFA, la mezcla cruda se purificó por cromatografía en columna (4 % de MeOH en DCM) seguido de TLC preparativa (4 % de MeOH en DCM) para obtener el producto puro como un sólido blanco (19,0 mg, 21 %). ³¹P-NMR (202 MHz, CD₃OD): δ 3,28, 2,76. ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,32, 8,28 (1H, 2 x s, H-8), 7,41 - 7,22 (5H, m, H-Ar), 6,43, 6,33 (1H, 2 x t, J = 7,0 Hz, H-1'), 5,3, 5,29 (1H, 2 x br s, H-3'), 4,32, 4,31 (1H, 2 x br s, H-4'), 4,22 - 4,15 (2H, m, CH₂CH₃), 4,05 - 4,00 (1H, m, NHCHCH₃), 3,86 - 3,80 (2H, m, 2 x H-5'), 3,01 - 2,90 (1H, m, H-2'_a), 2,81-2,78 (0,5H, m, H-2'_b un diastereoisómero), 2,68 - 2,64 (0,5H, m, H-2'_b un diastereoisómero), 1,42 - 1,36 (3H, 2 x d, J = 7,0 Hz, NHCHCH₃), 1,30 - 1,24 (3H, m, CH₂CH₃). MS (ES+) m/z: 563,1 (M + Na⁺, 100 %); Masa exacta: C₂₁H₂₆ClN₆O₇NaP m/z requerida 563,1187, m/z encontrada 563,1183. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 20 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 12,31, 12,41 min.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(tert-butoxi-L-alaninil)]-fosfato 2

Se preparó de acuerdo con el Procedimiento Estándar A, mediante el uso de cladribina A 5' protegida (0,10 g, 0,17 mmol) en THF seco, *t*BuMgCl (solución 1 M THF, 0,34 ml, 0,34 mmol), fosfocloridato de (tert-butoxi-L-alaninil)-fenilo (0,11 g, 0,34 mmol). Después de la desprotección con TFA, el producto crudo se purificó por cromatografía en columna (MeOH al 4 % en DCM) para obtener el producto puro como un sólido blanco (43,8 mg, 45 %). ³¹P-NMR (202 MHz, CD₃OD): δ 3,30, 2,91; ¹H-NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,31, 8,27 (1H, 2 x s, H-8), 7,42 - 7,21 (5H, m, H-Ar), 6,43, 6,34 (1H, 2 x t, J = 7,0 Hz, H-1'), 5,36, 5,30 (1H, 2 x br s, H-3'), 4,35, 4,30 (1H, 2 x br s, H-4'), 3,91 - 3,80 (3H, m, NHCHCH₃, 2 x H-5'), 3,02 - 2,90 (1H, m, H-2'_a), 2,81 - 2,77 (0,5H, m, H-2'_b un diastereoisómero), 2,68 - 2,65 (0,5H, m, H-2'_b un diastereoisómero), 1,49, 1,46 (9H, 2 x s, C(CH₃)₃), 1,38, 1,34 (3H, 2 x d, J = 7,0 Hz, NHCHCH₃). MS (ES+) m/z: 591,1 (M + Na⁺, 100 %); Masa exacta: C₂₃H₃₀ClN₆O₇NaP m/z requerida 591,1500, m/z encontrada 591,1509. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 20 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 15,24, 15,36 min.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-D-alaninil)]-fosfato 35
10
15

Se preparó de acuerdo con el Procedimiento Estándar A, mediante el uso de cladribina A 5' protegida (0,11 g, 0,19 mmol) en THF anhidro, *t*BuMgCl (solución 1 M THF, 0,37 ml, 0,37 mmol), fosfocloridato de (benzoxi-D-alaninil)-fenilo (0,13 g, 0,37 mmol). Después de la desprotección con TFA, el producto crudo se purificó por cromatografía en columna (MeOH al 4 % en DCM) para obtener el producto puro como un sólido blanco (40,0 mg, 35 %). ³¹P NMR (202 MHz, CD₃OD): δ 3,06, 2,77. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,24, 8,22 (1H, 2 x s, *H*-8), 7,39 - 7,16 (10H, m, *H*-Ar), 6,32 - 6,26 (1H, m, *H*-1'), 5,34 - 5,32, 5,23 - 5,21 (1H, 2 x m, *H*-3'), 5,19 - 5,14 (2H, m, CH₂Ph), 4,36 - 4,34 (0,5H, m, *H*-4' un diastereoisómero), 4,22 - 4,20 (0,5H, m, *H*-4' un diastereoisómero) 4,10 - 4,04 (1H, m, NHCHCH₃), 3,85 - 3,72 (2H, m, 2 x *H*-5'), 2,87-2,82, 2,77 - 2,67 (1H, 2 x m, *H*-2'_a), 2,59, 2,48 (1H, 2 x ddd, *J* = 14,0, 5,8, 1,9 Hz, *H*-2'_b), 1,41, 1,38 (3H, 2 x dd, *J* = 7,0, 4,5 Hz, NHCHCH₃). MS (ES+) *m/z*: 625,1 (M + Na⁺, 100 %); Masa exacta: C₂₆H₂₈ClN₆O₇NaP *m/z* requerida 625,1343, *m/z* encontrada 625,1351. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 20 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 14,16 min.

20
25**2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-glicinil)]-fosfato 4**30
35
40

Se preparó de acuerdo con el Procedimiento estándar A, mediante el uso de cladribina A 5' protegida (0,12 g, 0,20 mmol) en THF anhidro, *t*BuMgCl (solución 1 M THF, 0,40 ml, 0,40 mmol), fosfocloridato de (benzoxi-L-glicinil)-fenilo (0,14 g, 0,40 mmol). Después de la desprotección con TFA, el producto crudo se purificó por cromatografía en columna (MeOH al 4 % en DCM) para obtener el producto puro como un sólido espumoso blanco (15,0 mg, 13 %). ³¹P NMR (202 MHz, CD₃OD): δ 4,21, 4,05. ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): δ 8,14, 8,13 (1H, 2 x s, *H*-8), 7,29 - 7,08 (10H, m, *H*-Ar), 6,23 - 6,16 (1H, m, *H*-1'), 5,24 - 5,21 (1H, m, *H*-3'), 5,08 - 5,06 (2H, m, CH₂Ph), 4,20 - 4,19 (0,5H, m, *H*-4' un diastereoisómero), 4,14 - 4,12 (0,5H, m, *H*-4' un diastereoisómero), 3,77 - 3,63 (4H, m, NHCH₂, 2 x *H*-5'), 2,76 - 2,70 (1H, m, *H*-2'), 2,51-2,47 (1H, m, *H*-2'). MS (ES+) *m/z*: 611,1 (M + Na⁺, 100 %); Masa exacta: C₂₅H₂₆ClN₆O₇NaP *m/z* requerida 611,1187, *m/z* encontrada 611,1180. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 20 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 13,64 min.

45
50
55

Pueden prepararse compuestos adicionales de la invención de acuerdo con el Procedimiento Estándar A de forma análoga a los compuestos 1 a 4. Ejemplos incluyen los siguientes compuestos:

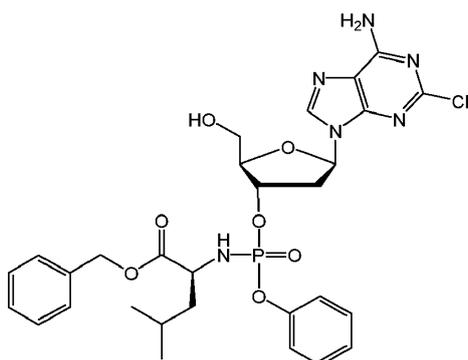
2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-leucinil)]-fosfato 5

60

65

5

10



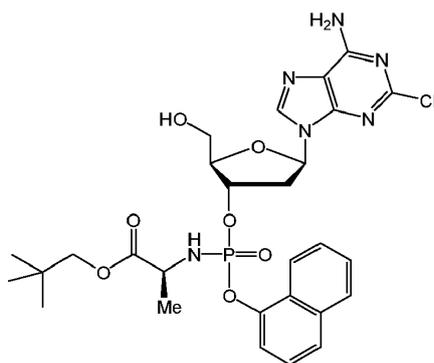
15 NMR ^{31}P (CD_3DO , 202 MHz): δ 3,58, 2,81; NMR ^1H (CD_3OD , 500 MHz): δ 8,28, 8,23 (1H, 2 x s, H-8), 7,40 - 7,22 (10H, m, H-Ar), 6,36, 6,25 (1H, 2 x t, $J = 7,0$ Hz, H-1'), 5,30, 5,24 (1H, 2 x br s, H-3'), 5,19 - 5,14 (2H, m, CH_2Ph), 4,25 (1H, br s, H-4'), 3,98-3,95 (1H, m, NHCH), 3,84 - 3,73 (2H, m, 2 x H-5'), 2,89 - 2,55 (2H, m, 2 x H-2'), 1,77-1,72 (1H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,60 - 1,56 (2H, m, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0,94 - 0,88 (6H, m, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). MS (ES $^+$) m/z: 667,2 (M + Na $^+$, 100 %); Masa exacta: $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{ClN}_6\text{O}_7\text{NaP}$ m/z requerida 667,1813, m/z encontrada 667,1799. HPLC de fase inversa eluyendo con $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ de 100/0 a 0/100 en 20 min, flujo = 1 ml/min, $\lambda = 254$, $t_{\text{R}} = 16,27$, 16,47 min.

20

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)] fosfato 6

25

30



35

40

NMR ^{31}P (202 MHz, CD_3OD): δ 3,68, 3,27. NMR ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 8,28-8,20 (2H, m, H-8, H-Ar), 7,92 (1H, d, $J = 8,0$ Hz, H-Ar), 7,75 (1H, d, $J = 8,2$ Hz, H-Ar), 7,63 - 7,47 (4H, m, H-Ar), 6,38 - 6,21 (1H, 2 xm, H-1'), 5,39 - 5,33 (1H, 2 x m, H-3'), 4,32-4,23 (1H, 2 x m, H-4'), 4,17 - 4,11 (1H, m, NHCHCH $_3$), 3,89 - 3,71 (4H, m, 2 x H-5', $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,96 - 2,78, 2,58 - 2,55 (2H, 2 xm, 2 x H-2'), 1,43, 1,38 (3H, 2 x d, $J = 7,25$ Hz, NHCHCH $_3$), 0,95, 0,93 (2 x s, 9H, $\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$). MS (ES $^+$) m/z: 656 (M + Na $^+$), 634 (M + H $^+$); $\text{C}_{28}\text{H}_{34}\text{ClN}_6\text{O}_7\text{P}$ masa requerida 633,03.

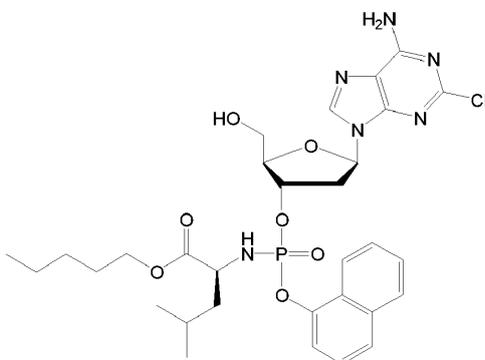
40

45

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(pentoxi-L-leucinil)]fosfato 7

50

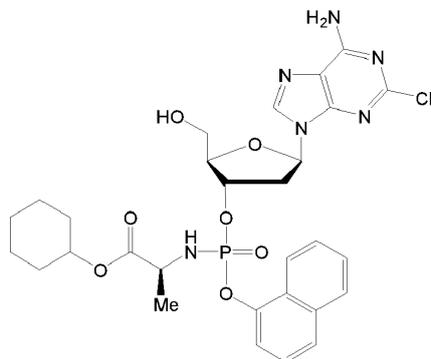
55



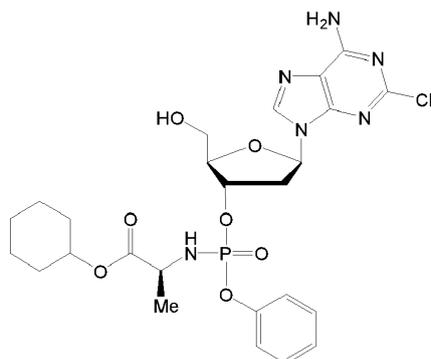
60

65

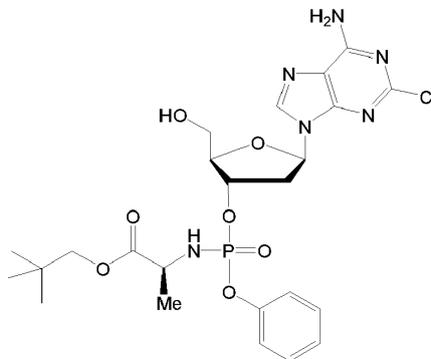
NMR ^{31}P (202 MHz, CD_3OD): δ 4,02, 3,48. NMR ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 8,24, 8,21 (1H, 2 x s, H-8), 7,94, 7,92 (1H, 2 x s, H-Ar), 7,76, 7,53 (1H, 2 x s, H-Ar), 7,63 - 7,55 (4H, m, H-Ar), 7,52, 7,47 (1H, 2 x s, H-Ar), 6,40 - 6,33, 6,23 - 6,20 (1H, 2 x m, H-1'), 5,40 - 5,38, 5,32 - 5,29 (1H, 2 x m, H-3'), 4,34 - 4,33, 4,26 - 4,24 (1H, 2 x m, H-4'), 4,08-4,05 (2H, m, 2 x H-5'), 4,01 - 3,97 (1H, m, NHCHCH $_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,88 - 3,80 (2H, m, NHCHCH $_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3,00 - 2,95, 2,89 - 2,79, 2,58 - 2,54 (2H, 3 x m, 2 x H-2'), 1,75-1,69 (1H, m, NHCHCH $_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1,63 - 1,55 (4H, m, 2 x CH_2 , $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,35 - 1,28 (4H, m, 2 x CH_2 , $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0,91 - 0,82 (9H, m, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, NHCHCH $_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$). MS (ES $^+$) m/z: 697 (M + Na $^+$), 675 (M + H $^+$), $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{ClN}_6\text{O}_7\text{P}$ masa requerida 674,24.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(ciclohexoxi-L-alaninil)] fosfato 8

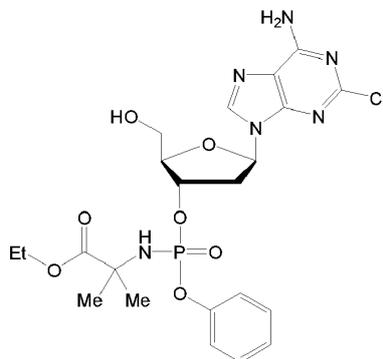
NMR ^{31}P (202 MHz, CD_3OD) δ 3,34, 2,80. NMR ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 8,33-8,28 (2H, m, H-8, *H-Ar*), 7,85 - 7,81 (1H, m, *H-Ar*), 7,62 - 7,59 (1H, m, *H-Ar*), 7,56 - 7,52 (3H, m, *H-Ar*), 7,47 - 7,43 (1H, m, *H-Ar*), 6,30 (1H, t, $J = 6,5$ Hz, *H-1'*), 4,66 - 4,57 (3H, m, *H-3'*, OCH-éster), 4,51 - 4,48 (2H, m, 2 x *H-5'*), 4,20 - 4,18 (1H, m, *H-4'*), 4,12 - 3,96 (1H, m, NHCHCH $_3$), 2,67 - 2,54 (1H, m, *H-2'*), 2,50 - 2,46 (1H, m, *H-2'*), 1,75 - 1,71 (4H, m, 2 x CH $_2$ -éster), 1,32 - 1,30 (9H, m, 3 x CH $_2$ -éster, NHCHCH $_3$). MS (ES $^+$) m/z: 667 (M + Na $^+$), 645 (M + H $^+$); C $_{29}$ H $_{34}$ ClN $_6$ O $_7$ P masa requerida 644,19.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(ciclohexoxi-L-alaninil)]fosfato 9

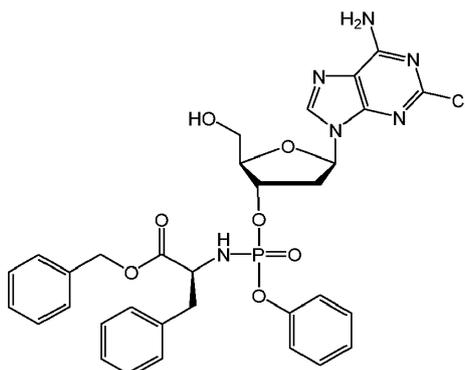
NMR ^{31}P (202 MHz, CD_3OD): δ 3,34, 2,80. NMR ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 8,32-8,28 (1H, m, *H-8*), 7,43 - 7,37 (2H, m, *H-Ar*), 7,31 - 7,22 (3H, m, *H-Ar*), 6,44 - 6,41, 6,36-6,29 (1H, 2 xm, *H-1'*), 5,37 - 5,34, 5,30 - 5,27 (1H, 2 xm, *H-3'*), 4,81 - 4,74 (1H, m, CH-éster), 4,33 - 4,25 (1H, m, *H-4'*), 4,01 - 3,92 (1H, m, NHCHCH $_3$), 3,87 - 3,79 (2H, m, 2 x *H-5'*), 3,01 - 2,89 (1H, m, *H-2'*), 2,82 - 2,77, 2,67 - 2,63 (1H, 2 xm, *H-2'*), 1,86 - 1,74 (4H, m, 2 x CH $_2$ -éster), 1,57 - 1,30 (9H, m, 3 x CH $_2$ -éster, NHCHCH $_3$). MS (ES $^+$) m/z: 617 (M + Na $^+$), 595 (M + H $^+$); C $_{25}$ H $_{32}$ ClN $_6$ O $_7$ P masa requerida 594,18.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)] fosfato 10

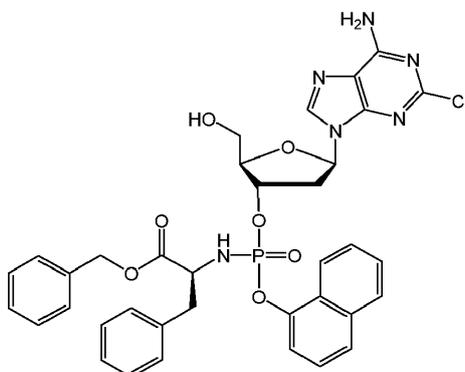
NMR ^{31}P (202 MHz, CD_3OD): δ 3,30, 2,76. NMR ^1H (500 MHz, CD_3OD): δ 8,32, 8,27, 8,23, 8,07 (1H, 4 xs, *H-8*), 7,57 - 7,52, 7,43 - 7,38, 7,31 - 7,22 (5H, 3 xm, *H-Ar*), 6,44 - 6,41, 6,36 - 6,30 (1H, 2 xm, *H-1'*), 5,38 - 5,36, 5,30 - 5,27 (1H, 2 xm, *H-3'*), 4,32 - 4,30, 4,27 - 4,25 (1H, 2 xm, *H-4'*), 4,15 - 4,12, 4,08 - 4,04 (1H, 2 xm, NHCHCH $_3$), 3,87 - 3,79 (1H, m, *H-5'*), 3,92 - 3,80 (2H, m, CH $_2$ C (CH $_3$) $_3$), 3,68, 3,58 (1H, 2 x dd, $J = 12,0, 5,0$ Hz, *H-5'*), 3,01 - 2,89, 2,81 - 2,64, 2,35 - 2,29 (2H, 3 xm, 2 x *H-2'*), 1,44, 1,39 (3H, 2 xd, $J = 7,5$ Hz, NHCHCH $_3$), 0,98, 0,96 (9H, 2 xs, CH $_2$ C (CH $_3$) $_3$). MS (ES $^+$) m/z: 605 (M + Na $^+$), 583 (M + H $^+$), C $_{24}$ H $_{32}$ ClN $_6$ O $_7$ P masa requerida 582,18.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-2,2-dimetilglicinil)]-fosfato 11

NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 1,60, 1,55. NMR ¹H (500 MHz, CD₃OD): δ 8,32, 8,28 (1H, 2 x s, *H*-8), 7,45 - 7,38, 7,33 - 7,27, 7,24 - 7,21 (5H, 3 xm, *H*-Ar), 6,41, 6,33 (1H, 2 x dd, *J* = 8,1, 5,8 Hz, *H*-1'), 5,36 - 5,32 (1H, m, *H*-3'), 4,39, 4,29 (1H, 2 xm, *H*-4'), 4,20, 4,19 (2H, 2 x q, *J* = 7,2 Hz, CH₂CH₃), 3,92 - 3,76 (2H, m, 2 x *H*-5'), 3,00 - 2,88, 2,78 - 2,63 (2H, 3 xm, 2 x *H*-2'), 1,53 (6H, br s, (CH₃)₂), 1,29, 1,28 (3H, 2 xt, *J* = 7,1 Hz, CH₂CH₃). MS (ES⁺) *m/z*: 577,7 (M + Na⁺), C₂₂H₂₈ClN₆O₇P masa requerida 554,92

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-fenilalaninil)]fosfato 12

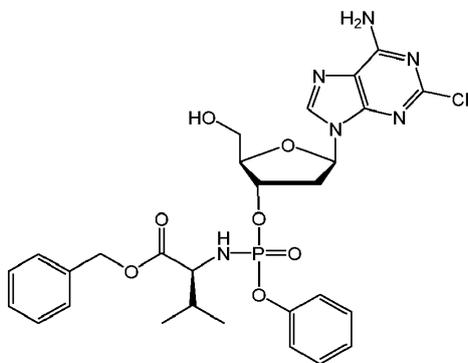
NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 1,42, 1,23. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7,69, 7,55 (1H, 2 x s, *H*-8), 7,28 - 6,92 (15H, m, *H*-Ar), 6,11 (2H, br s, NH₂), 6,01 - 5,86 (1H, m, *H*-1'), 5,30 - 5,02 (4H, m, *H*-3', OH-3', OCH₂Ph), 4,31 - 4,15 (2H, m, *H*-4'), NHCHCH₂Ph, 3,86 - 3,65 (3H, m, 2 x *H*-5', NHCHCH₂Ph), 2,98 - 2,81 (3H, m, NHCHCH₂Ph, *H*-2_{una}'), 2,39 - 2,31 (1H, m, *H*-2_{si}'). MS (ES⁺) *m/z*: 679 [M + H⁺], 681 [M(³⁷Cl) + H⁺], 701 [M + Na⁺], 703 [M(³⁷Cl) + Na⁺], 717 [M + K⁺], 719 [M(³⁷Cl) + K⁺]; C₃₂H₃₂ClN₆O₇P masa requerida *m/z* 678,18. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 10 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 9,19 min.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil(benzoxi-L-fenilalaninil)]fosfato 13

NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 2,09, 1,78. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,02 7,91 (1H, m, *H*-8), 7,81 - 7,79 (1H, m, *H*-Ar), 7,65 - 7,60 (1H, m, *H*-Ar), 7,49 - 7,41 (4H, m, *H*-Ar), 7,33 - 6,75 (11H, m, *H*-3 Naf, OCH₂PhCHCH₂Ph), 6,00 (2H, br s, NH₂), 5,92 - 5,62 (1H, 2m, *H*-1'), 5,28 - 5,13 (2H, m, *H*-3'OH-3'), 5,05 - 4,89 (2H, m, OCH₂Ph), 4,34 - 4,27 (1H, m, NHCHCH₂Ph), 4,18 - 4,12 (1H, 2m, *H*-4') 3,83 - 3,61 (3H, m, 2 x *H*-5', NHCHCH₂Ph), 2,95 - 2,88 (2H, m, NHCHCH₂Ph),

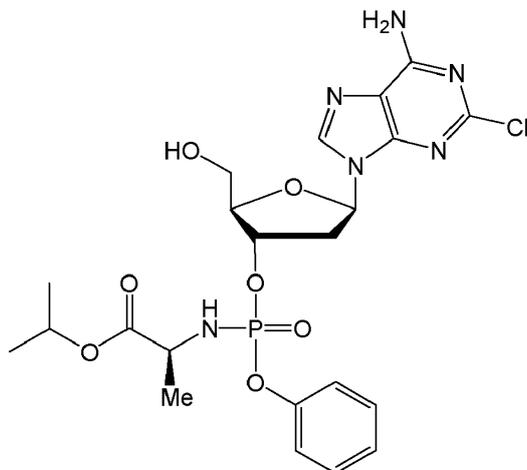
2,84 - 2,79 (1H, m, *H-2'*_a), 2,30 - 2,14 (1H, m, *H-2'*_{bi}). MS (ES⁺) m/z: 729 [M + H⁺], 751 [M + Na⁺], 767 [M + K⁺]; Masa exacta: C₃₆H₃₄ClN₆O₇P m/z requerida 728,19. HPLC de fase inversa de H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 10 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 10,33 min.

5 **2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-valinil)]fosfato 14**



10
15
20
25
NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 2,40, 2,20. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7,74, 7,58 (1H, 2 xs, *H-8*), 7,30 - 7,09 (10H, m, *H-Ar*), 6,13 - 6,11, 6,27-6,24 (1H, 2 xm, *H-1'*), 5,91 (2H, br s, NH₂), 5,27 - 5,25 (1H, m, *H-3'*), 5,10 - 5,04 (2H, m, CH₂Ph), 4,25 - 4,21 (1H, m, *H-4'*), 3,86 - 3,62 (4H, m, 2 x *H-5'*, NHCHCH(CH₃)₂NHCHCH(CH₃)₂), 2,95 - 2,90 (1H, m, *H-2'*_{una}), 2,45 - 2,37 (1H, m, *H-2'*_b), 2,02 - 1,99 (1H, m, NHCHCH(CH₃)₂), 0,88 - 0,77 (6H, m, NHCHCH(CH₃)₂). MS (ES⁺) m/z: 632 [M + H⁺], 655 [M + Na⁺]. C₂₈H₃₂ClN₆O₇P masa requerida m/z 631,18.

30
35
40
45
2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil(iso-propoxy-L-alaninil)]fosfato 15

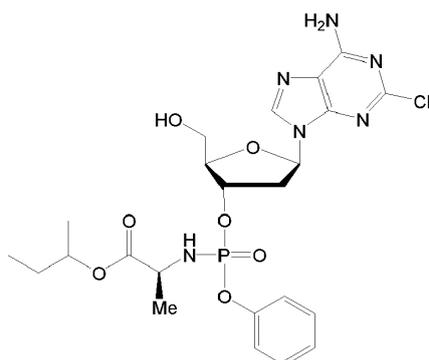


50
55
NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 1,54, 1,34. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7,79, 7,71 (1H, 2s, *H-8*), 7,31 - 7,12 (5H, m, *H-Ar*), 6,21 - 6,17, 6,05 - 6,01 (1H, 2 xm, *H-1'*), 5,70 (2H, br s, NH₂), 5,31 - 5,26 (1H, m, *H-3'*), 4,99 - 4,93 (1H, m, OCH(CH₃)₂), 4,44-4,42 (1H, m, *H-4'*), 3,98 - 3,87 (2H, m, NHCHCH₃, OH-5'), 3,82 - 3,74 (1H, m, NHCHCH₃), 3,67 - 3,53 (3H, m, 2 x *H-5'*, NHCHCH₃), 3,08 - 2,97 (1H, m, *H-2'*), 2,62-2,49 (1H, m, *H-2'*), 1,34, 1,30 (3H, 2 xd, J = 7,0 Hz, NHCHCH₃), 1,22 - 1,19 (6H, m, OCH(CH₃)₂). MS (ES⁺) m/z: 555 [M + H⁺], 556 [M (¹³C) + H⁺], 557 [M (³⁷Cl) + H], 558 [M (³⁷Cl, ¹³C) + H⁺], 577 [M + Na⁺], 578 [M (¹³C) + Na⁺], 579 [M (³⁷Cl) + Na⁺], 580 [M (³⁷Cl, ¹³C) + Na⁺]. C₂₂H₂₈ClN₆O₇P masa requerida m/z 554,14. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 15 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 9,92 min.

60
65
2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2-butoxy-L-alaninil)] fosfato 16

5

10



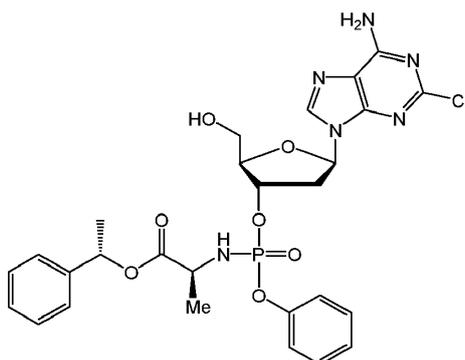
15 NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 1,62, 1,60. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 7,81, 7,73 (1H, 2 x s, H-8), 7,30 - 7,11 (5H, m, H-Ar), 6,21 - 6,03 (3H, m, H-1', NH₂), 5,32-5,23 (2H, m, H-3', NHCHCH₃), 4,85 - 4,76 (1H, m, OCH(CH₃)CH₂CH₃), 4,34 - 4,31 (1H, m, H-4'), 3,95 - 3,75 (4H, m, NHCHCH₃, 2 x H-5', OH-5'), 3,07 - 2,95 (1H, m, H-2_a'), 2,48 - 2,26 (1H, m, H-2_b'), 1,55 - 1,47 (2H, m, OCH(CH₃)CH₂CH₃), 1,37 - 1,31 (3H, m, NHCHCH₃), 1,19 - 1,09 (3H, m, OCH(CH₃)CH₂CH₃), 0,85 - 0,79 (3H, m, OCH(CH₃)CH₂CH₃). MS (ES+) m/z: 569 [M + H⁺], 570 [M (¹³C) + H⁺], 571 [M (³⁷Cl) + H⁺], 572 [M (³⁷Cl,¹³C) + H⁺], 591 [M + Na⁺], 592 [M (¹³C) + Na⁺], 593 [M (³⁷Cl) + Na⁺], 594 [M (³⁷Cl, ¹³C) + Na⁺], 607 [M + K⁺], 608 [M (¹³C) + K⁺], 609 [M (³⁷Cl) + K⁺]. C₂₃H₃₀ClN₆O₇P masa requerida m/z 568. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/CH₃CN de 100/0 a 0/100 en 15 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 10,48 min.

25

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-((S)-1-phenylethoxy-L-alaninil)-fosfato 17

30

35



40 NMR ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 3,34, 2,65. NMR ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 8,20 (1H, m, H-8), 7,47 - 7,28 (8H, m, H-Ar), 7,27 - 7,15 (2H, m, H-Ar), 6,40 - 6,33, 6,32 - 6,26, (1H, 2 x m, H-1'), 5,96 - 5,84 (1H, m, CHCH₃Ph), 5,35 - 5,21 (1H, m, H-3'), 4,40 - 4,26 (1H, m, H-4'), 4,10 - 4,02 (1H, m, NHCHCH₃), 3,87 - 3,74 (2H, m, 2 x H-5'), 2,94 - 2,83 (1H, m, H-2_a'), 2,74 - 2,57 (1H, m, H-2_b'), 1,60 - 1,48 (3H, m, CHCH₃Ph), 1,43 - 1,20 (3H, m, NHCHCH₃). MS (ES+) m/z: 639 [M + Na⁺], 640 [M (³⁷Cl) + Na⁺]. C₂₇H₃₀ClN₆O₇PNa masa requerida m/z 639,99. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/MeOH de 100/0 a 0/100 en 35 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 29,19, 29,54 min.

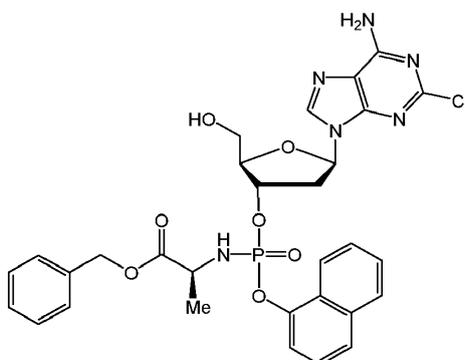
45

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato 18

50

55

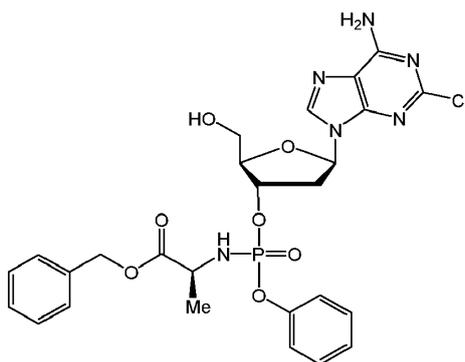
60



65 El nucleósido A protegido (78 mg, 0,20 mmol) se disolvió en THF anhidro (7 ml) bajo argón y se añadió gota a gota BuMgCl (1,0 M en THF, 1,0 ml, 1,0 mmol) seguido de la adición lenta de fosforcloridato de (benzoxi-L-alaninil)-1-naftilo (0,40 g, 0,99 mmol) en THF anhidro (2,0 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El disolvente se evaporó en el residuo purificado por cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH al 3 % en DCM). El compuesto

obtenido se disolvió en H₂O/THF (4 ml + 4 ml) y se añadió gota a gota TFA (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se añadió NaHCO₃ para neutralizar la solución. Los solventes se evaporaron y el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH al 0-4 % en DCM) y TLC preparativa (MeOH al 10 % en DCM). Rendimiento: 50 mg. 38 % en 2 etapas. ^{NMR} ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 3,71, 3,10. ^{NMR} ¹H (500 MHz, CD₃OD): δ 8,17, 8,14 (2H, 2 x s, H-8, H-Ar), 7,88 (1H, d, J = 7,7 Hz, H-Ar), 7,71 (1H, dd, J = 8,1, 4,2 Hz, H-Ar), 7,59 - 7,41 (4H, m, H-Ar), 7,35 - 7,16 (5H, m, H-Ar), 6,30, 6,15 (1H, 2 x dd, J = 8,4, 5,9 Hz, H-1'), 5,33 (1H, m, H-3'), 5,18 - 5,06 (2H, m, CH₂Ph), 4,27 - 4,24, 4,21 - 4,12 (2H, 2 x m, H-4', NHCHCH₃), 3,84 - 3,67 (2H, m, 2 x H-5'), 2,82 - 2,78 (1H, m, H-2_a'), 2,69 - 2,65, 2,64 - 2,61 (1H, 2 xm, H-2_{si}'), 1,40, 1,35 (3H, 2 x d, J = 7,2 Hz, NHCHCH₃). MS (ES⁺) m/z: 676,16 (M + Na⁺). C₃₀H₃₀ClN₆O₇PNa masa requerida m/z 676,02. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/MeOH de 100/0 a 0/100 en 40 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 20,6, 21,1 min.

2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato 19



El nucleósido A protegido (0,12 g, 0,30 mmol) se disolvió en THF anhidro (10 ml) bajo argón y se añadió gota a gota tBuMgCl (1,0 M en THF, 1,5 ml = 1,5 mmol). Se añadió lentamente fosforcloridato de (benzoxi-L-alaninil)-fenilo (0,53 g, 1,50 mmol) en THF anhidro (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El solvente se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (4 % MeOH en DCM). El compuesto obtenido se disolvió en H₂O/THF (4 ml + 1 ml) y se añadió gota a gota TFA (1 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos antes de que se añadiera NaHCO₃ para neutralizar la solución. La cromatografía en columna de gel de sílice dio el producto deseado. Rendimiento: 37 mg, 20 % en 2 etapas. ^{NMR} ³¹P (202 MHz, CD₃OD): δ 3,3, 2,6. ^{NMR} ¹H (500 MHz, CD₃OD): δ 8,26, 8,21 (1H, 2 x s, H-8), 7,41 - 7,18 (10H, m, H-Ar), 6,36, 6,26 (1H, 2 x dd J = 8,4, 5,8 Hz, H-1'), 5,31 - 5,28, 5,27 - 5,24 (1H, 2 x m, H-3'), 5,19, 5,15 (2H, 2 x s, CH₂Ph), 4,26 - 4,21 (1H, m, H-4'), 3,85 - 3,74 (2H, m, 2 x H-5'), 2,85 - 2,81, 2,69 - 2,62, 2,60 - 2,57 (2H, 3 x m, H-2'), 1,41, 1,37 (3H, 2 x dd, J = 7,2, 1,2 Hz, NHCHCH₃). MS (ES⁺) m/z: 626,11 (M + Na⁺). C₂₆H₂₈ClN₆O₇PNa masa requerida m/z 626,14. HPLC de fase inversa eluyendo con H₂O/MeOH de 100/0 a 0/100 en 35 min, flujo = 1 ml/min, λ = 254, t_R = 18,9, 19,6 min.

ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA

Los compuestos de la invención se compararon con cladribina y con el compuesto Y, un 5'-fosforamidato de cladribina.

Las líneas celulares utilizadas incluyen:

HEL92.1.7: eritroleucemia

HL-60: leucemia promielocítica

KG-1: leucemia mielógena aguda

K562: leucemia mielógena crónica

L1210: línea celular linfoblástica derivada de un ratón con leucemia linfocítica

MCF7: línea celular de adenocarcinoma epitelial mamario humano (sensible al estrógeno)

NB4: leucemia promielocítica aguda sensible a ácido retinoico todo trans

NB4R2: leucemia promielocítica aguda insensible al ácido retinoico todo trans

RL: linfoma No-Hodgkin

U937: linfoma histiocítico

Z-138: linfoma de células del manto

EJEMPLO 1: ESTUDIOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

5 Los derivados fosforamidato de cladribina se evaluaron frente a seis líneas celulares leucémicas (KG1, U937, K562, NB4R2, NB4 y HL-60) in vitro. Concentración inhibitoria (IC₅₀) a la que se determinó que el 50 % de las células ya no eran viables (calculado mediante el uso del ensayo MTS). Las células se trataron con cladribina y sus derivados 3'-fosforamidato a concentraciones entre 100 µM y 0,02 µM por diluciones en serie y se incubaron durante 72 h a 37 °C, 5 % de CO₂ en un volumen final de 90 µL. Se añadieron veinte microlitros de reactivo MTS (Promega UK Ltd, Southampton, Hants) a los cultivos de células tumorales y la reacción se incubó durante otras 4 h a 37 °C, 5 % de CO₂. La absorbancia de la reacción después de este tiempo se leyó por espectrofotometría a 490 nm y se calculó el porcentaje de células viables en relación con las células control no tratadas en el mismo ensayo.

15 La Tabla 1 muestra los resultados in vitro para compuestos de la invención contra las líneas celulares leucémicas KG1, U937, K562, NB4R2, NB4 y HL-60.

Compuesto	KG1 µM	U937 µM	K562 µM	NB4R2 µM	NB4 µM	HL-60 µM
Cladribina	0,06	0,02	0,53	0,06	0,04	0,09
Y	0,67	0,08	8,05	0,63	0,23	1,75
19	0,38	0,03	>10	0,11	0,24	0,10
18	0,31	0,01	5,14	1,29	0,07	0,39
1	1,76	3,06	>10	2,52	0,74	2,68
15	5,0	0,4	>10	9,0	6,0	2,0
2	2,0	6,0	>10	>10	>10	>10
10	-	-	-	-	>10	5,3
6	-	-	-	-	1,0	0,3
16	7,0	2,0	>10	>10	9,0	8,0
17	-	-	-	-	5,5	3,2
3	>10	7,52	>10	>10	7,82	>10
4	>10	>10	>10	5,56	8,04	>10
11	-	-	-	-	>10	0,3
14	2,0	0,4	>10	2,0	0,8	3,0
5	5,04	>10	>10	1,57	2,56	4,45
12	4,0	2,0	10	2,0	1,0	2,0
13	1,0	1,0	7,0	0,8	0,3	1,0

50 Como puede verse, todos los compuestos exhibieron alguna actividad anticancerígena. De particular interés, el compuesto 19 fue más activo que el compuesto Y contra 4 de las 6 líneas celulares analizadas, teniendo el prótido 5' la misma porción fosforamidato que el compuesto 19.

EJEMPLO 2: ESTUDIOS ADICIONALES DE CITOTOXICIDAD IN VITRO

55 Luego se analizó un subconjunto de compuestos de la invención para determinar su actividad citotóxica en un grupo más amplio de diferentes tumores sólidos y neoplasias hematológicas mediante el uso del siguiente ensayo.

Ensayo de tumor sólido y malignidad hematológica

60 El ensayo de viabilidad in vitro se realizó para evaluar los efectos de los compuestos sobre la viabilidad celular en líneas celulares seleccionadas durante 72 h mediante el uso del ensayo CellTiterGlo (CTG, Promega-G7573). Las pruebas se realizaron por duplicado con 9 puntos del tratamiento con el compuestos, titulación de 3,16 veces en placas de 96 pocillos durante ~72 h. Las concentraciones iniciales del compuesto fueron 198 mM. Se realizó un ensayo de viabilidad celular mediante el uso de CellTiterGlo en una placa de 96 pocillos. Los compuestos se disolvieron a 40 mM con DMSO al 100 % descongelado. Los compuestos se diluyeron en serie a 3,16 veces en DMSO descongelado, y se calentaron a 37 °C antes de disolverse en medio (2 µl + 200 µl). Después de que los compuestos se disolvieron en los medios, los medios

que contenían los compuestos se calentaron a 37 °C en una incubadora y luego los medios que contenían los compuestos se añadieron a las placas con las células (50 µl + 50 µl) por duplicado. Las concentraciones finales de los compuestos fueron de 198 µM a 19,9 nM. La solubilidad de todos los compuestos se verificó y se volvió a registrar, luego las placas se transfirieron de inmediato a una incubadora de cultivo de tejidos con CO₂ y se incubó durante 3 días. La concentración final de DMSO es 0,5 %.

Los resultados de la detección adicional se presentan en la Tabla 2.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tabla 2:

Compuesto	HL-60 Leucemia promielocítica		KG-1 Leucemia mielógena aguda		Z-138 Linfoma de células del manto		HEL92, 1,7 Eritroleucemia		RL Linfoma No-Hodgkin		MCF-7 Adenocarcinoma epitelial mamario	
	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)	EC ₅₀ (µM) Ab	Inhibición superior (%)
Cladribina	<0,019	85	017	935	<0,019	99,7	<0,019	97,4	<0,019	94,7	>198	36,3
6	0,23	96	1,2	986	1,5	101	0,07	986	0,29	98,6	6,8	102
7	0,27	98	1,5	98,8	1,07	101	0,07	98,6	0,5	100	5,45	103
8	0,46	96	2,75	98,4	3,5	100	0,18	98,3	0,85	98,1	7,97	101
9	0,13	87,7	0,8	96,9	0,051	99,9	0,044	97,2	0,14	899	21	100
10	0,12	87,7	0,6	95	0,047	100	0,042	97,2	0,15	898	22	99,2

La Tabla 2 muestra que los compuestos de la invención son particularmente efectivos en tumores sólidos como puede verse en los resultados para la línea celular MCF-7.

EJEMPLO 3 -EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD Y LA ACTIVIDAD DE LAS CÉLULAS MADRE CANCEROSAS

Se realizó un análisis comparativo adicional de la toxicidad de los compuestos en la línea celular KG1a en un intervalo de dosis extendido, y se evaluó el efecto relativo de los compuestos en el compartimento de células madre leucémicas dentro de la línea celular KG1a, en todo el intervalo de dosis. Por lo tanto, se realizaron pruebas experimentales en determinados compuestos de la presente invención para evaluar su capacidad para atacar células madre cancerosas en una línea celular leucémica. La línea celular de leucemia mieloide aguda (AML), KG1a, se empleó para evaluar el efecto relativo de los compuestos en el compartimento de células madre. Se seleccionó la línea celular KG1a porque manifiesta un menor compartimento de tipo célula madre con un inmunofenotipo distinto (Lin⁻/ CD34⁺/ CD38⁻/ CD123⁺).

Materiales y Métodos

Condiciones el cultivo de células KG1a

Las células de la línea celular KG1a se mantuvieron en medio RPMI (Invitrogen, Paisley, Reino Unido) suplementado con 100 unidades/ml de penicilina, estreptomina 100 µg/ml y suero de ternera fetal al 20 %. Las células fueron subsecuentemente divididas en alícuotas (10⁵ células/100 µl) en placas de 96 pocillos y se incubaron a 37 °C en una atmósfera humidificada de dióxido de carbono al 5 % durante 72 h en presencia de análogos de nucleósidos y sus respectivos fosforamidatos a concentraciones que se determinaron experimentalmente para cada serie de compuestos. Además, se llevaron a cabo cultivos control a los que no se añadió fármaco. Las células se cosecharon subsecuentemente mediante centrifugación y se analizaron por citometría de flujo mediante el uso del ensayo de AAnnexina V.

Medición de la apoptosis in vitro. Las células cultivadas se cosecharon mediante centrifugación y después se resuspendieron en 195 µl de tampón rico en calcio. Subsecuentemente, se añadieron 5 µl de anexina V (Caltag Medsystems, Botolph Claydon, Reino Unido) a la suspensión celular y las células se incubaron en la oscuridad durante 10 minutos antes del lavado. Las células finalmente se resuspendieron en 190 µl de tampón rico en calcio junto con 10 µl de yoduro de propidio. La apoptosis se evaluó mediante citometría de flujo inmunofluorescente de doble color como se describió anteriormente. Subsecuentemente los valores de LD₅₀ (la dosis requerida para eliminar el 50 % de las células en un cultivo) se calcularon para cada análogo de nucleósido y fosforamidato.

Identificación inmunofenotípica del compartimento de células madre leucémicas

Las células KG1a se cultivaron durante 72 h en presencia de una amplio intervalo de concentraciones de cada compuesto ensayado. Las células se cosecharon y se marcaron con un cóctel de anticuerpos anti-linaje (PE-cy7), anti-CD34 (FITC), anti-CD38 (PE) y anti-CD123 (PERCP cy5). La subpoblación que expresa un fenotipo de células madre leucémicas (LSC) se identificó subsecuentemente y se expresó como un porcentaje de todas las células viables que quedan en el cultivo. Los porcentajes de células madre restantes se representaron en un gráfico de dosis-respuesta y los efectos de los compuestos se compararon con 8-cloroadenosina.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en estos experimentos se evaluaron mediante ANOVA de una vía. Todos los datos se confirmaron como gaussianos o una aproximación gaussiana mediante la prueba omnibus K2. Los valores LD₅₀ se calcularon a partir de la regresión no lineal y el análisis de la línea de mejor ajuste a las curvas de dosis-respuesta sigmoidal. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Graphpad Prism 6.0 (Graphpad Software Inc, San Diego, CA).

Resultados

Ensayos de citotoxicidad in vitro

La sensibilidad *in vitro* al fármaco se midió mediante el uso del ensayo de anexina V/yoduro de propidio. Los valores calculados de LD₅₀ también se muestran en la Tabla 5.

Tabla 3

Compuesto	LD ₅₀ µM	Célula Madre % Control: 4 %
Cladribina	0,18	6
18	0,27	4
19	0,83	3,1

Compuesto	LD ₅₀ μ M	Célula Madre % Control: 4 %
Cladribina	0,18	6
Y	1,7	2

5

10

Ambos compuestos 18 y 19 exhibieron selectividad por células madre. El compuesto 19 fue más potente que el compuesto Y, el 5'-prótido tiene la misma porción fosforamidato que el compuesto 19. El compuesto 18 mostró una mayor preferencia por LSC en comparación con cladribina.

EJEMPLO 4: ESTUDIOS DE CITOTOXICIDAD IN VITRO EN CÉLULAS INFECTADAS CON MICOPLASMA

15

20

Los cultivos de células tumorales se infectaron con *M. hyorhina* (ATCC 17981) y después de dos o más pases (para evitar sesgos por el inóculo inicial) la infección exitosa se confirmó utilizando el estuche de detección de micoplasma MycoAlert™ (Lonza, Basilea, Suiza). Aunque este ensayo es solo semicuantitativo, se observó una infección máxima de 3 a 4 días después de la subcultivación de las células expuestas a micoplasma. Las líneas celulares tumorales con infección crónica se denominan en adelante Líneas celulares. Hyor. Todos los cultivos de células tumorales se mantuvieron en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Invitrogen, Carlsbad, CA) con suero bovino fetal al 10 % (FBS) (Biochrom AG, Berlín, Alemania), HEPES 10 mM y piruvato de sodio 1 mM (Invitrogen). Las células se cultivaron a 37 °C en una incubadora humidificada con una fase gaseosa que contenía 5 % de CO₂.

25

30

La actividad citostática de los compuestos de prueba se examinó en líneas celulares cancerosas infectadas y no infectadas con micoplasma. Al analizar el efecto de la infección *M. hyorhina*, se sembraron células monocapa MCF7 y MCF7.Hyor en placas de microtitulación de 48 pocillos (Nunc™, Roskilde, Dinamarca) a 10 000 células/pocillo (Corning Inc., Corning, NY) a 100 000 células/pocillo. Después de 24 h, las células se expusieron a diferentes concentraciones de compuesto de prueba y se dejaron proliferar durante 72 h (para asegurar una proliferación celular y un crecimiento de micoplasma suficientes) después de lo cual las células se trataron con tripsina y se contaron mediante el uso de un contador Coulter (Analis, Suarlée, Bélgica). Las células en suspensión (L1210, L1210.Hyor, FM3A y FM3A.Hyor) se sembraron en placas de microtitulación de 96 pocillos (Nunc) a 60 000 células/pocillo en presencia de diferentes concentraciones de compuesto de prueba. Se permitió que las células proliferaran durante 48 h y después se contaron mediante el uso de un contador Coulter. La concentración inhibitoria de 50 % (IC₅₀) se definió como la concentración de compuesto requerida para reducir la proliferación celular en un 50 %.

35

Tabla 4: Células MCF7 infectadas con *Mycoplasma hyorhina* (HYOR)

40

Compuesto	MCF7	MCF7/HYOR	Pérdida de potencia
	μ M	μ M	
Cladribina	0,37	9,3	25 veces
19	5,2	26	5 veces
Y	2,1	33	16 veces

45

50

El compuesto 19 mostró una menor pérdida de potencia contra las células MCF7 infectadas con *Mycoplasma hyorhina* en comparación con ambos compuestos Y y el 5'-prótido que tienen la misma porción fosforamidato que el compuesto 19 y cladribina.

Tabla 5: Células L1210 infectadas con *Mycoplasma hyorhina* (HYOR)

55

60

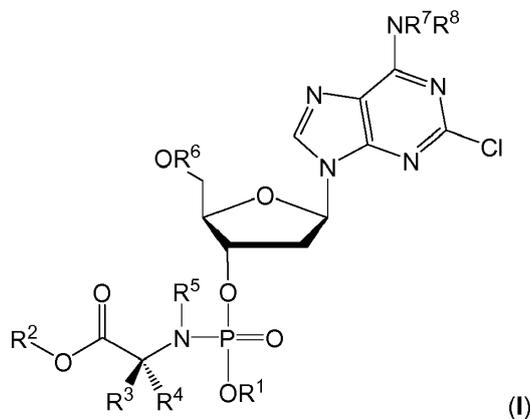
CPF	L1210 μ M	L1210/HYOR μ M	Pérdida de potencia
Cladribina	0,4	3,0	8 veces
6	1,0	4	4 veces

El compuesto 6 mostró una menor pérdida de potencia contra las células L1210 infectadas con *Mycoplasma hyorhina* que la cladribina.

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I), o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo:



R¹ es arilo;

R² se selecciona de C₁-C₂₄-alquilo, C₃-C₂₄-alquenilo, C₃-C₂₄-alquinilo, C₀-C₄-alquilenos-C₃-C₇-cicloalquilo o C₀-C₄-alquilenos-arilo;

R³ y R⁴ se selecciona cada uno independientemente de H, C₁-C₆-alquilo y C₁-C₃-alquilenos-R⁹; o en donde R³ y R⁴ junto con el átomo al que están unidos forman un grupo cicloalquilo o heterocicloalquilo de 3 a 6 miembros;

R⁵ y R⁷ se seleccionan cada uno independientemente de H y C₁-C₄-alquilo;

R⁶ se selecciona independientemente de H y C(O)R¹⁰;

R⁸ se selecciona independientemente de H, C(O)OR¹⁰ y C(O)R¹⁰;

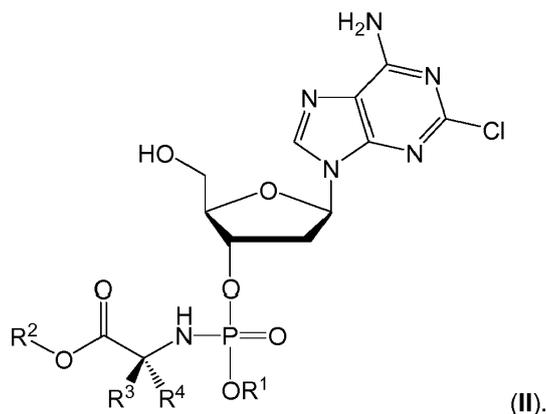
R⁹ se selecciona independientemente de arilo (por ejemplo, fenilo), imidazol, indol, SR^a, OR^a, CO₂R^a, CO₂NR^aR^a, NR^aR^b y NH(=NH)NH₂;

R¹⁰ se selecciona independientemente en cada caso de C₁-C₂₄-alquilo, C₃-C₂₄-alquenilo, C₃-C₂₄-alquinilo, C₀-C₄-alquilenos-C₃-C₇-cicloalquilo o C₀-C₄-alquilenos-arilo;

en donde cualquier grupo arilo es fenilo, naftilo o tetrahidronaftilo y en donde cualquier grupo fenilo, alquilo, alquino, alqueno, alquilenos, cicloalquilo, naftilo o tetrahidronaftilo se sustituye opcionalmente con 1 a 4 sustituyentes seleccionados de: halo, nitro, ciano, NR^aR^a, NR^aS(O)₂R^a, NR^aC(O)R^a, NR^aCONR^aR^a, NR^aCO₂R^a, OR^a, SR^a, SOR^a, SO₃R^a, SO₂R^a, SO₂NR^aR^a, CO₂R^a C(O)R^a, CONR^aR^a, CR^aR^aNR^aR^a, C₁-C₄-alquilo, C₂-C₄-alquenilo, C₂-C₄-alquinilo y C₁-C₄-haloalquilo;

en donde R^a se selecciona independientemente en cada caso de: H y C₁-C₄-alquilo; y R^b se selecciona independientemente en cada caso de: H y C₁-C₄-alquilo, C(O)-C₁-C₄-alquilo, S(O)₂-C₁-C₄-alquilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto de la fórmula (I) es un compuesto de la fórmula (II):



3. Un compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R¹ es fenilo; opcionalmente en donde R¹ es fenilo no sustituido.
4. Un compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde R¹ es 1-naftilo; opcionalmente en donde R¹ es 1-naftilo no sustituido.
5. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R² es C₄-C₈-alquilo; opcionalmente en donde R² se selecciona de isobutilo, terc-butilo, n-butilo, n-pentilo, CH₂C(Me)₃ o n-hexilo.

6. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde C₅-C₇-cicloalquilo; opcionalmente en donde R² es ciclohexilo no sustituido.
7. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R² es CHR¹¹-fenilo; en donde R₁₁ se selecciona de H y C₁-C₄-alquilo; opcionalmente en donde R² es bencilo no sustituido.
8. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde uno de R³ y R⁴ es H y el otro se selecciona de: H, Me, isopropilo, isobutilo y bencilo opcionalmente en donde R⁴ es H y R³ se selecciona de: H, Me, isopropilo, isobutilo y bencilo; adicional y opcionalmente en donde R⁴ es H y R³ es Me.
9. El compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de:
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-L-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(terc-butoxi-L-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-D-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-glicinil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-leucinil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(pentoxi-L-leucinil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(ciclohexoxi-L-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(ciclohexoxi-L-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2,2-dimetilpropoxi-L-alaninil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(etoxi-2,2-dimetilglicinil)]-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-fenilalaninil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-fenilalaninil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-valinil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(iso-propoxi-L-alaninil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(2-butoxi-L-alaninil)] fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-((S)-1-feniletoxi-L-alaninil)-fosfato,
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[1-naftil-(benzoxi-L-alaninil) fosfato y
 2-Cloro-2'-desoxiadenosina-3'-[fenil-(benzoxi-L-alaninil)-fosfato.
10. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1a 9 para su uso médico.
11. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en el tratamiento del cáncer.
12. Un compuesto para su uso de la reivindicación 11, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en leucemia, mieloma múltiple, cáncer de pulmón, cáncer de hígado, cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello, neuroblastoma, carcinoma de tiroides, cáncer de piel, carcinoma oral de células escamosas, cáncer de vejiga urinaria, tumor de células de Leydig, cáncer de colon, cáncer colorrectal y cánceres ginecológicos.
13. Un compuesto para su uso de la reivindicación 11 o la reivindicación 12, en donde el paciente tiene células infectadas con micoplasma.
14. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en el tratamiento del cáncer al dirigirse a las células madre cancerosas.
15. Una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y un excipiente aceptable farmacéuticamente.