



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 286 499**

51 Int. Cl.:
G01N 33/569 (2006.01)
A61P 31/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Número de solicitud europea: **03795968 .1**
86 Fecha de presentación : **24.12.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1583967**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **12.10.2005**

54 Título: **Procedimiento para la inhibición de la replicación de herpesvirus.**

30 Prioridad: **07.01.2003 DE 103 00 109**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.12.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.12.2007

73 Titular/es: **AiCuris GmbH & Co. KG.**
Friedrich-Ebert-Strasse 475
42117 Wuppertal, DE

72 Inventor/es: **Betz, Ulrich;**
Hewlett, Guy;
Kleymann, Gerald;
Lampe, Thomas;
Lin, Tse-I;
Nikolic, Susanne;
Reefschläger, Jürgen;
Wunberg, Tobias;
Zimmermann, Holger;
Zumpe, Franz;
Bender, Wolfgang;
Henninger, Kerstin;
Jensen, Axel;
Keldenich, Jörg y
Schohe-Loop, Rudolf

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

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

Procedimiento para la inhibición de la replicación de herpesvirus.

5 La invención se refiere a un procedimiento para la identificación de compuestos que inhiben la replicación de herpesvirus.

10 La familia de los herpesvirus se divide en tres subfamilias: alfa-herpesvirus (por ejemplo, herpesvirus simplex de tipo 1 y 2; HSV1 y HSV2), beta-herpesvirus (por ejemplo, citomegalovirus, HCMV) y gamma-herpesvirus (por ejemplo, virus de Epstein-Barr, EBV).

Las infecciones con herpesvirus se manifiestan según el tipo de virus en enfermedades de distintos órganos como la piel, el sistema linfático o el sistema nervioso central.

15 Las infecciones con los beta-herpesvirus HCMV se realizan principalmente durante la infancia y se desarrollan generalmente de forma subclínica. La tasa de propagación en adultos es por tanto muy alta en todo el mundo (según la población analizada, hasta un 90%).

20 Dentro de la familia de los herpesvirus, el citomegalovirus conduce a las tasas de mortalidad más elevadas entre pacientes inmunodeprimidos. Esto se atribuye a que los citomegalovirus en estas personas causan enfermedades generalizadas con riesgo de muerte, especialmente neumonías.

En mujeres embarazadas, las infecciones con HCMV pueden tener como consecuencia graves daños para el niño.

25 Las partículas víricas de los herpesvirus tienen diámetros de aprox. 150 a 200 nm y están compuestas por distintas proteínas estructurales esenciales para el virus. En el interior de la partícula, se encuentra el núcleo vírico, una matriz de proteína fibrilar con la que está asociada el genoma de ADN lineal bicatenario. El núcleo está rodeado por una cápside icosaédrica que está compuesta por 162 capsómeros. La proteína de cápside principal ("Major-Capsid-Protein", MCP) del citomegalovirus humano se designa como UL86.

30 La proteína vírica UL80 se procesa hasta al menos tres proteínas distintas, que desempeñan un papel en la maduración de la cápside. La forma más frecuente es a este respecto la proteína de ensamblaje AP.

35 La formación de partículas víricas, en primer lugar se forman cápsides B, se controla por un complejo precursor de UL86 y AP, que es responsable de la translocación de la MCP (UL86) a los núcleos celulares. En los núcleos celulares, la AP soporta la formación de estructuras que forman un armazón interno dentro de la cápside B. En la cápside B preparada, se empaqueta el ADN vírico, que la AP deja salir de las partículas víricas. Las partículas víricas infecciosas que contienen ADN se designan también como cápsides C.

40 Para la profilaxis de una infección por HCMV, no está a disposición hasta ahora ninguna vacuna. Para la terapia de la infección por HCMV, se utiliza principalmente ganciclovir, que sin embargo causa fuertes efectos secundarios.

45 De ello resulta una necesidad que existe desde hace mucho tiempo de una terapia de HCMV mejorada y ante todo más tolerable. La demanda de una terapia de HCMV mejorada aumentará adicionalmente por un lado al llevar a cabo un número creciente de trasplantes de órganos, y además al aumentar constantemente el número de infectados por VIH. En ambos grupos de pacientes, pueden aparecer complicaciones debido a la inmunosupresión, debido a una reactivación del HCMV o infección por HCMV. Por tanto, una terapia de HCMV mejorada es aquí urgentemente necesaria.

50 El objetivo es inhibir la replicación de herpesvirus. Esto es posible mediante compuestos que se dirijan a la proteína de cápside principal e inhiban a este respecto la formación de cápsides C, pero no de cápsides B. Los virus seleccionados por resistencia frente a este compuesto muestran una o varias mutaciones en el gen que codifica la proteína de cápside principal.

55 En el documento EP 0860700 A2, se describe un procedimiento para la identificación de compuestos antivirales que interactúan con la proteína de cápside principal VP5 del HSV-1.

60 En el documento US 2001/0007877 A1, se describe un procedimiento en el que se analiza la inhibición de la formación de complejo entre la proteína de cápside principal de citomegalovirus y el péptido proteína de armazón mediante una sustancia de ensayo.

Es un objetivo de la presente solicitud preparar un procedimiento para identificar compuestos con este nuevo mecanismo de acción con actividad contra herpesvirus.

65 Este objetivo se consigue mediante un procedimiento caracterizado porque

- i) se ponen en contacto herpesvirus con compuestos de ensayo,

ES 2 286 499 T3

- ii) se escogen herpesvirus resistentes,
- iii) se secuencian el gen que codifica la proteína de cápside principal de estos herpesvirus resistentes y se deriva la secuencia de proteína resultante de la proteína de cápside principal, y
- iv) se seleccionan aquellos compuestos en los que aparecen herpesvirus resistentes con una o varias sustituciones aminoacídicas en la proteína de cápside principal.

Por un procedimiento para seleccionar compuestos con actividad contra herpesvirus, se entiende en el marco de la presente invención un procedimiento en el que se analiza en compuestos nuevos o en sí conocidos su actividad contra herpesvirus.

Los herpesvirus son este momento, por ejemplo, beta-herpesvirus, particularmente citomegalovirus humano, particularmente las cepas de HCMV Ad169 (ATCC VR-538) o Davis (ATCC VR-807). No se prefiere el uso de la cepa HCMV-Towne (ATCC VR-977), ya que ésta porta ya una mutación en el gen UL86 (P1189T) que conduce a una correspondiente resistencia contra las sustancias que actúan con el mecanismo de acción aquí descrito.

Sorprendentemente, se han encontrado compuestos de ensayo que se caracterizan por un mecanismo de acción singular. Al cultivar HCMV bajo presión de sustancias, se permite la formación de cápsides B, mientras que se reduce la formación de cápsides C infecciosas. El mantenimiento de la formación de cápsides B con el tratamiento antiviral podría representar una ventaja en cuanto a que la cápside B permanezca presente inicialmente como inmunógeno en el transcurso del ciclo de replicación vírico lo que, por ejemplo en el caso de un sistema inmune reforzado, podría influir ventajosamente para una reacción de defensa inmune específica resultante.

En el análisis de secuencia de citomegalovirus que son resistentes frente a los compuestos de ensayo, se han encontrado sorprendentemente sólo mutaciones en la proteína de cápside UL86.

Ya que estos virus mutados pueden crecer bajo presión de sustancias, puede concluirse que la sustancia de ensayo ataca directamente a esta proteína en los virus de tipo natural sensibles. Los análisis de microscopía electrónica y biología molecular muestran que mediante las sustancias se inhibe la encapsidación de ADN vírico y por tanto la formación de cápsides C. No está afectada la replicación del ADN vírico ni la formación de cápsides inmaduras libres de ADN (cápsides B). En comparación con el inhibidor de la replicación de ADN utilizado como medicamento para HCMV en clínica ganciclovir, no se realiza ninguna inhibición de la síntesis de ADN y expresión de los genes de HCMV tardíos por influencia de las sustancias según la invención. Las mutaciones encontradas en UL86 aparecen preferiblemente en dos intervalos. El primer intervalo se extiende desde la posición de aminoácido 435 a 689 y el segundo intervalo desde la posición de aminoácido 1189 a 1338 (véase la Tabla 2).

El efecto antiviral puede materializarse por un lado mediante interacción directa de la sustancia con UL86 o también actuar mediante un efecto indirecto sobre UL86.

Según este nuevo y sorprendente mecanismo de acción, pueden obtenerse también sustancias de acción antiviral mediante otros procedimientos como, por ejemplo, modelización molecular con ayuda de la estructura tridimensional de una proteína de cápside principal, modelización molecular a partir de inhibidores de UL86 conocidos y demás. A este respecto, se trata de procedimientos bien conocidos por el experto.

Se conoce poco sobre las funciones e interacciones de UL86 durante la maduración de cápside y el empaquetado de ADN (Wood y col., *J. Virol.* 1997, 71, 179-190).

Los medicamentos obtenibles hasta ahora contra HCMV no son ideales debido a sus fuertes efectos secundarios. Los ensayos a gran escala de grandes bancos de sustancias han conducido en los últimos tiempos a inhibidores que atacan a otras dianas víricas (Wathen, *Rev. Med. Virol.*, 2002, 12, 167-178). El mecanismo de acción aquí descrito muestra una sorprendente nueva opción de cómo puede inhibirse la replicación de herpesvirus con la ayuda de compuestos.

La identificación de compuestos que se unen a la proteína de cápside principal puede hacerse mediante purificación de cápsides, expresión recombinante de proteína de cápside principal o fragmentos parciales de proteína de cápside principal y medida de las sustancias que se unen a la proteína o fragmento de proteína (por ejemplo, HPLC, desplazamiento de péptido fluorescente, desplazamiento de aptámeros, diversos procedimientos espectroscópicos, etc.), que son bien conocidos por el experto.

Además, es posible la identificación mediante el siguiente procedimiento con sustancias de ensayo: por compuestos de ensayo se entienden aquellos compuestos de los que debe analizarse su actividad contra herpesvirus. Estos pueden ser compuestos nuevos o en sí conocidos. Se ponen estos en contacto con los herpesvirus. Esto se hace preferiblemente mediante cultivo de HCMV en placas de cultivo de tejido de 384 pocillos. Para ello, se siembran células sensibles, preferiblemente fibroblastos humanos, en recipientes de cultivo de tejido. Preferiblemente, se utilizan 5×10^3 células por pocillo de una placa de 96 pocillos y se infectan con HCMV (preferiblemente con una MOI de 0,03).

Se cultivan las infecciones a diferentes concentraciones de sustancia (preferiblemente a concentraciones de 0,005 a $250 \mu\text{M}$) hasta que se identifica en el control vírico un claro ECP (generalmente después de 6 días). Después, puede

ES 2 286 499 T3

determinarse la CI_{50} a partir de las otras concentraciones de sustancia. Las sustancias activas se caracterizan por un valor de CI_{50} que es preferiblemente $< 1 \mu M$, y presentan además un $IS > 10$.

Los virus que son resistentes frente a sustancias activas pueden cultivarse como sigue:

Preferiblemente, se realiza el cultivo de HCMV de nuevo en placas de cultivo de tejido de 96 pocillos. Para ello, se siembran células sensibles, preferiblemente fibroblastos humanos, en recipientes de cultivo de tejido. Preferiblemente, se utilizan 5×10^3 células por pocillo sobre una placa de 96 pocillos y se infectan con HCMV (preferiblemente con una MOI de 0,03). Las infecciones se cultivan ahora bajo una presión de sustancia que corresponde a 10 veces el valor de CI_{50} de la sustancia.

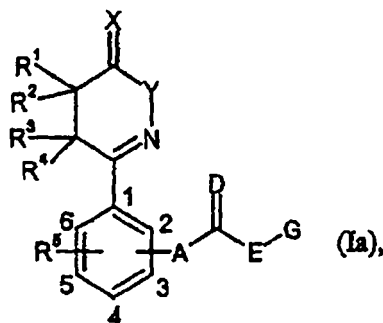
Los cultivos celulares que presentan un efecto citopático (ECP) comparable a una infección vírica sin presión de sustancia se siguen analizando, es decir, se pasan los virus a cultivos celulares recientes y se siguen cultivando bajo presión de sustancia. Los virus que siguen creciendo bajo presión de sustancia y presentan un IR (índice de resistencia) > 5 , se designan como virus resistentes.

Se aísla el ADN de los virus resistentes y a continuación se determina la secuencia de nucleótidos del gen que codifica la MCP (UL86), y se compara con la secuencia del virus de partida (virus de tipo natural que es sensible frente a la sustancia). Los virus resistentes que presentan mutaciones en la secuencia de aminoácidos resultante de la proteína de cápside principal (UL86) identifican una sustancia que puede utilizarse como inhibidor de UL86.

En la mayoría de las evaluaciones para la identificación de principios activos anti-HCMV, se usa la cepa de laboratorio de HCMV Towne conocida desde hace tiempo y muy establecida. Las sustancias que funcionan según el mecanismo de acción según la invención no se localizan o muy difícilmente con ella. Por tanto, ha quedado totalmente sin consideración hasta ahora un procedimiento importante para la terapia y la profilaxis de infecciones por HCMV, que se describe en esta patente. En evaluaciones para la identificación de principios activos anti-HCMV, pueden seleccionarse sustancias que no inhiben o sólo insuficientemente la replicación de HCMV Towne, pero que evitan la replicación de cepas de HCMV de tipo natural. Estos principios activos pueden utilizarse para la terapia y la profilaxis de infecciones por HCMV.

Se prefieren

[A] Compuestos de fórmula general (Ia),



en la que

A está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

A representa oxígeno o NR^6 ,

E representa oxígeno, CR^9R^{10} o NR^7 ,

Y representa oxígeno o NR^8 ,

D y X son iguales o distintos y representan respectivamente oxígeno o azufre,

G representa hidrógeno,

o

G representa arilo C_6-C_{10} , en el que el arilo C_6-C_{10} puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, alcoxi C_1-C_6 , hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo, amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo y alquilo C_1-C_6 ,

ES 2 286 499 T3

en los que

alcoxi C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo o alquilo C₁-C₆ pueden estar sustituidos dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo y arilo C₆-C₁₀,

o

G representa arilo C₆-C₁₀, en el que el arilo C₆-C₁₀ puede estar sustituido dado el caso con fenilo

en el que

el fenilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo y alquilo C₁-C₆,

en los que

el alquilo C₁-C₆ puede estar sustituido a su vez dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

o

G representa arilo C₆-C₁₀, en el que el arilo C₆-C₁₀ puede estar sustituido dado el caso con fenilo,

en el que

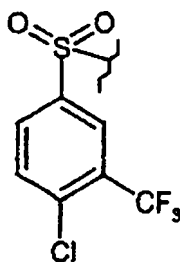
el fenilo puede estar sustituido dado el caso con heteroarilo C₅-C₆ o heterociclilo C₅-C₇,

en los que

heteroarilo C₅-C₆ o heterociclilo C₅-C₇ pueden estar sustituidos a su vez dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

o

G representa arilo C₆-C₁₀, en el que el arilo C₆-C₁₀ puede estar sustituido dado el caso con un grupo de la siguiente fórmula



o

G representa heteroarilo C₅-C₁₀ o heterociclilo C₅-C₇, en los que heteroarilo C₅-C₁₀ o heterociclilo C₅-C₇ pueden estar sustituidos dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, nitro, ciano, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

o

G representa cicloalquilo C₃-C₁₀, en el que el cicloalquilo C₃-C₁₀ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, nitro, ciano, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxycarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y mono- o dialquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

R¹, R², R³ y R⁴ son iguales o distintos y representan respectivamente hidrógeno, amino, mono- o dialquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, arilo C₆-C₁₀ o alquilo C₁-C₆, en los que el alquilo C₁-C₆ puede estar sustituido

ES 2 286 499 T3

dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

5 y

en los que el arilo C_6-C_{10} puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo, mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo y alquilo C_1-C_6 ,

10

en los que

el alquilo C_1-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

15

o

R^1 y R^2 o R^3 y R^4 forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un anillo cicloalquilo C_3-C_6 , en el que el anillo cicloalquilo C_3-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo o mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

20

25 o

R^1 y R^3 forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un anillo cicloalquilo C_3-C_6 , en el que el anillo cicloalquilo C_3-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

30

R^5 representa hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino o alquilo C_1-C_6 , en los que alcoxi C_1-C_6 , mono- o dialquil C_1-C_6 -amino o alquilo C_1-C_6 pueden estar sustituidos dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

35

R^6 , R^7 y R^8 son iguales o distintos y representan respectivamente hidrógeno o alquilo C_1-C_6 , en los que el alquilo C_1-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

40

R^9 y R^{10} son iguales o distintos y representan respectivamente hidrógeno, $NR^{11}R^{12}$, OR^{13} o alquilo C_1-C_6 , en los que el alquilo C_1-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

45

R^{11} , R^{12} y R^{13} son iguales o distintos y representan respectivamente hidrógeno o alquilo C_1-C_6 , en los que el alquilo C_1-C_6 puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , amino, mono- o dialquil C_1-C_6 -amino, alquil C_1-C_6 -carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo y mono- o dialquil C_1-C_6 -aminocarbonilo,

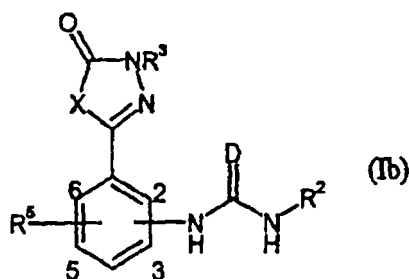
50

así como sus tautómeros, estereoisómeros, mezclas estereoisoméricas y sus sales farmacológicamente tolerables,

o

55

[B] Compuestos de fórmula (Ib)



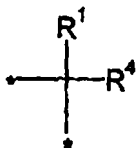
ES 2 286 499 T3

en la que

el resto $-\text{NHC(D)NHR}^2$ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático,

5 X representa $-\text{N(R}^6)-$ o un grupo

10



15

D representa oxígeno o azufre,

16 R¹

representa arilo C₆-C₁₀ o alquilo C₁-C₆, en los que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

20

y

25

en los que el arilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, alquil C₁-C₆-aminocarbonilo y alquilo C₁-C₆,

o

30

R¹ y R⁴ forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un anillo cicloalquilo C₃-C₆, en el que el anillo cicloalquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

35

R² representa cicloalquilo C₃-C₈ o arilo C₆-C₁₀, en los que el arilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitrilo, ciano, alcoxi C₁-C₆, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-aminocarbonilo y alquilo C₁-C₆,

40

R³ representa hidrógeno o alquilo C₁-C₆, en el que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por alcoxi C₁-C₆, hidroxicarbonilo y alcoxi C₁-C₆-carbonilo,

45

R⁴ representa alquilo C₁-C₆, en el que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, arilo C₆-C₁₀, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

o

50

R⁴ representa arilo C₆-C₁₀, en el que el arilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, alquil C₁-C₆-aminocarbonilo y alquilo C₁-C₆,

55

R⁵ representa hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino o alquilo C₁-C₆,

60

R⁶ representa arilo C₆-C₁₀, cicloalquilo C₃-C₈ o alquilo C₁-C₆, en los que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, arilo C₆-C₁₀, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, hidroxicarbonilo y alcoxi C₁-C₆-carbonilo,

y

65

en los que el cicloalquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, alquilo C₁-C₆, arilo C₆-C₁₀, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, hidroxicarbonilo y alcoxi C₁-C₆-carbonilo,

así como sus tautómeros, estereoisómeros, mezclas estereoisoméricas y sus sales farmacológicamente tolerables.

ES 2 286 499 T3

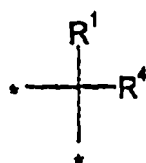
Se prefieren compuestos de fórmula general (Ia) en la que

- A está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y
- 5 A representa NR^6 ,
- E representa NR^7 ,
- 10 Y representa NR^8 ,
- D y X representan oxígeno,
- G representa arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$, en el que el arilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes que se seleccionan independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, ciano y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$,
- 15 en los que
- el alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes halógeno,
- 20 o
- G representa heteroarilo $\text{C}_5\text{-C}_6$, en el que el heteroarilo $\text{C}_5\text{-C}_6$ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes que se seleccionan independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$,
- 25 o
- G representa cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_{10}$, en el que el cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_{10}$ puede estar sustituido a su vez con hasta tres sustituyentes alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$,
- 30 R^1 , R^2 y R^3 son iguales o distintos y representan respectivamente hidrógeno o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_3$,
- R^4 representa hidrógeno, arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, en los que el alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes que se seleccionan independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$, amino, mono- o dialquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -amino, alquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -carbonilamino, hidroxycarbonilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ -carbonilo y mono- o dialquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -aminocarbonilo,
- 35 y
- en los que el arilo $\text{C}_6\text{-C}_{10}$ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes que se seleccionan independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ y alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$,
- 40 en los que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 no son simultáneamente hidrógeno,
- R^5 representa hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amino, mono- o dialquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -amino o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, en los que el alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes que se seleccionan independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$, amino, mono- o dialquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -amino, hidroxycarbonilo, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ -carbonilo y mono- o dialquil $\text{C}_1\text{-C}_6$ -aminocarbonilo,
- 45 R^6 , R^7 y R^8 representan hidrógeno,
- 50 o
- compuestos de fórmula general (Ib) en la que

55 el resto -NHC(D)NHR^2 está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático,

X representa $\text{-N(R}^6\text{)-}$ o un grupo

60



65

D representa oxígeno,

ES 2 286 499 T3

R¹ representa alquilo C₁-C₆, en el que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo compuesto por hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

5 o

R¹ y R⁴ forman conjuntamente con el átomo de carbono al que están unidos un anillo cicloalquilo C₅-C₆, en el que el anillo cicloalquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo.

R² representa arilo C₆-C₁₀, en el que el arilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados entre sí del grupo compuesto por halógeno o alquilo C₁-C₆,

15 R³ representa hidrógeno o alquilo C₁-C₆, en los que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por alcoxi C₁-C₆, hidroxicarbonilo y alcoxi C₁-C₆-carbonilo,

20 R⁴ representa alquilo C₁-C₆, en el que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, fenilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, alquil C₁-C₆-carbonilamino, hidroxicarbonilo, alcoxi C₁-C₆-carbonilo y alquil C₁-C₆-aminocarbonilo,

25 R⁵ representa hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino o alquilo C₁-C₆,

R⁶ representa cicloalquilo C₃-C₈ o alquilo C₁-C₆, en los que el alquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta dos sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por hidroxilo, arilo C₆-C₁₀, alcoxi C₁-C₆, amino, alquil C₁-C₆-amino, hidroxicarbonilo y alcoxi C₁-C₆-carbonilo,

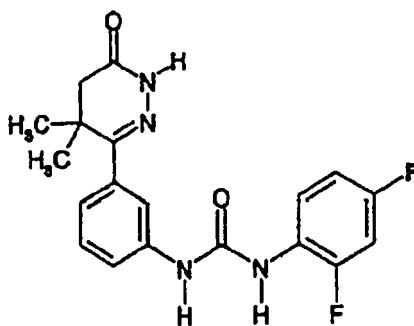
30 y

en los que el cicloalquilo puede estar sustituido dado el caso con hasta tres sustituyentes seleccionados independientemente entre sí del grupo compuesto por alquilo C₁-C₆ y alcoxi C₁-C₆.

35 Se prefieren especialmente:

N-(2,4-difluorofenil)-*N'*-[3-(4,4-dimetil-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-3-piridazinil)fenil]urea

40

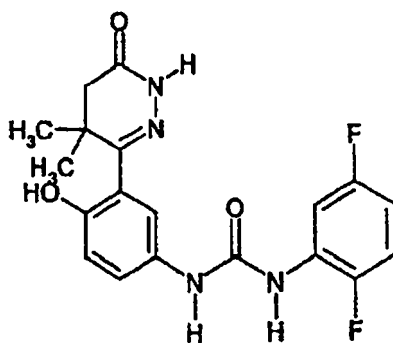


45

50

N-(2,5-difluorofenil)-*N'*-[3-(4,4-dimetil-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-3-piridazinil)-4-hidroxifenil]urea

55



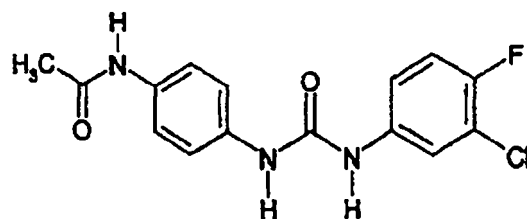
60

65

ES 2 286 499 T3

N-[4-(((3-cloro-4-fluorofenil)amino)carbonil)amino]fenil]acetamida

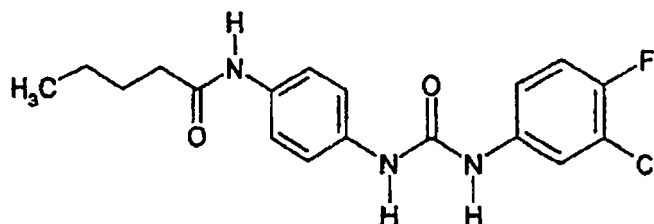
5



10

N-[4-(((3-cloro-4-fluorofenil)amino)carbonil)amino]fenil]pentanamida

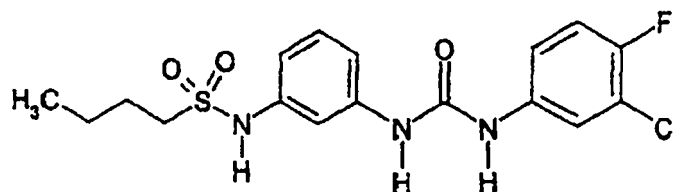
15



20

N-[3-(((3-cloro-4-fluorofenil)amino)carbonil)amino]fenil]-1-butano-sulfonamida

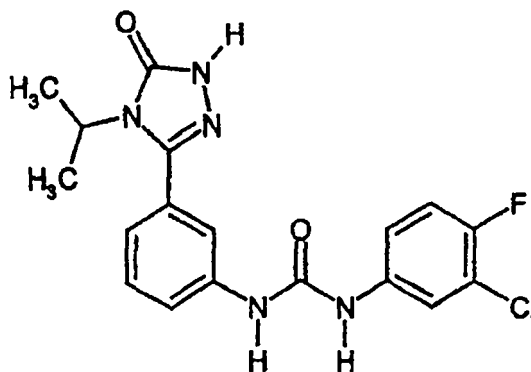
25



30

1-(3-cloro-4-fluorofenil)-3-[3-(4-isopropil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-[1,2,4]triazol-3-il)fenil]urea

35



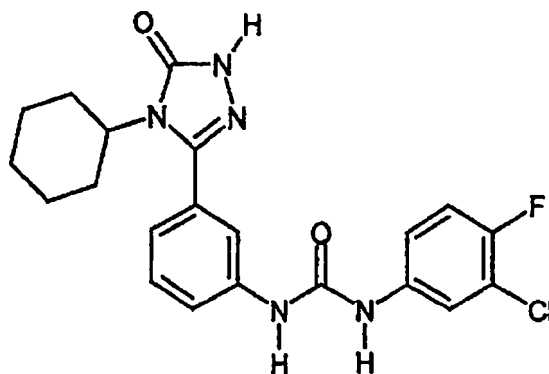
40

45

50

1-(3-cloro-4-fluorofenil)-3-[3-(4-ciclohexil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-[1,2,4]triazol-3-il)fenil]urea

55

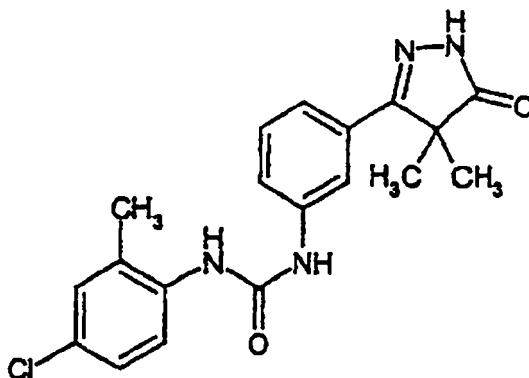


60

65

ES 2 286 499 T3

N-(4-cloro-2-metilfenil)-*N*'-[3-(4,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)fenil]urea



Los compuestos pueden existir dependiendo de su estructura en formas estereoisoméricas (enantiómeros, diastereómeros). La invención se refiere por tanto a los enantiómeros o diastereómeros y sus respectivas mezclas. A partir de dichas mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros, pueden aislarse los componentes estereoisoméricos individuales de modo conocido.

Están comprendidos, dependiendo de la estructura de los compuestos, también tautómeros de los compuestos.

Como *sales* se prefieren sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención.

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos (I) comprenden sales de adición de ácido de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo, sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos (I) comprenden también sales de bases habituales, como por ejemplo y preferiblemente, sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y potasio), sales de metales alcalinotérreos (por ejemplo, sales de calcio y magnesio) y sales de amonio, derivadas de amoniaco o aminas orgánicas con 1 a 16 átomos de C como, por ejemplo y preferiblemente, etilamina, dietilamina, trietilamina, etilidiamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, dihidroabietilamina, arginina, lisina, etilendiamina y metilpiperidina.

Como *solvatos*, se designan en el marco de la invención aquellas formas de los compuestos que forman un complejo en estado sólido o líquido mediante coordinación con moléculas de disolvente. Los hidratos son una forma especial de solvatos en los que la coordinación se realiza con agua.

En el marco de la presente invención, los sustituyentes tienen el siguiente significado, a menos que se especifique otra cosa.

Alquilo per se y "*alquil*" y "*alc*" en *alcoxi*, *alquilamino*, *alquilaminocarbonilo* y *alcoxicarbonilo* representan un resto alquilo de cadena lineal o ramificada de generalmente 1 a 6, preferiblemente 1 a 4, con especial preferencia 1 a 3, átomos de carbono, por ejemplo y preferiblemente, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo.

Alcoxi representa, por ejemplo y preferiblemente, metoxi, etoxi, *n*-propoxi, isopropoxi, *terc*-butoxi, *n*-pentoxi y *n*-hexoxi.

Alquilamino representa un resto alquilamino con uno o dos sustituyentes alquilo (seleccionados independientemente entre sí), por ejemplo y preferiblemente, metilamino, etilamino, *n*-propilamino, isopropilamino, *terc*-butilamino, *n*-pentilamino, *n*-hexilamino, *N,N*-dimetilamino, *N,N*-dietilamino, *N*-etil-*N*-metilamino, *N*-metil-*N*-*n*-propilamino, *N*-isopropil-*N*-*n*-propilamino, *N-terc*-butil-*N*-metilamino, *N*-etil-*N*-*n*-pentilamino y *N*-*n*-hexil-*N*-metilamino.

Alquilaminocarbonilo representa un resto alquilaminocarbonilo con uno o dos restos alquilo (seleccionados independientemente entre sí), por ejemplo y preferiblemente, metilaminocarbonilo, etilaminocarbonilo, *n*-propilaminocarbonilo, isopropilaminocarbonilo, *terc*-butilaminocarbonilo, *n*-pentilaminocarbonilo, *n*-hexilaminocarbonilo, *N,N*-dimetilaminocarbonilo, *N,N*-dietilaminocarbonilo, *N*-etil-*N*-metilaminocarbonilo, *N*-metil-*N*-*n*-propilaminocarbonilo, *N*-isopropil-*N*-*n*-propilaminocarbonilo, *N-terc*-butil-*N*-metilaminocarbonilo, *N*-etil-*N*-*n*-pentilaminocarbonilo y *N*-*n*-hexil-*N*-metilaminocarbonilo.

ES 2 286 499 T3

Alcoxicarbonilo representa, por ejemplo y preferiblemente, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, n-propoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo, n-pentoxicarbonilo y n-hexoxicarbonilo.

5 *Cicloalquilo* representa un grupo cicloalquilo de generalmente 3 a 8, preferiblemente 5 a 7, átomos de carbono, por ejemplo y preferiblemente, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y adamantilo.

Arilo representa un resto carbocíclico aromático mono- a tricíclico de generalmente 6 a 14 átomos de carbono, por ejemplo y preferiblemente, fenilo, naftilo y fenantrenilo.

10 *Heteroarilo de 5 a 10 miembros* (“heteroarilo C₅-C₁₀”) representa en el marco de la invención anillos aromáticos de 5 a 10 miembros que contienen heteroátomos con al menos un anillo aromático, que pueden contener 1 a 4 heteroátomos que se seleccionan de O, S y N. El heteroarilo puede estar sustituido a su vez además por C o N. Se citan como ejemplos: piridilo, furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, indolicenilo, indolilo, benzo[*b*]tienilo, benzo[*b*]furilo, indazolilo, quinolilo, isoquinolilo, naftiridinilo, quinazolinilo, etc.

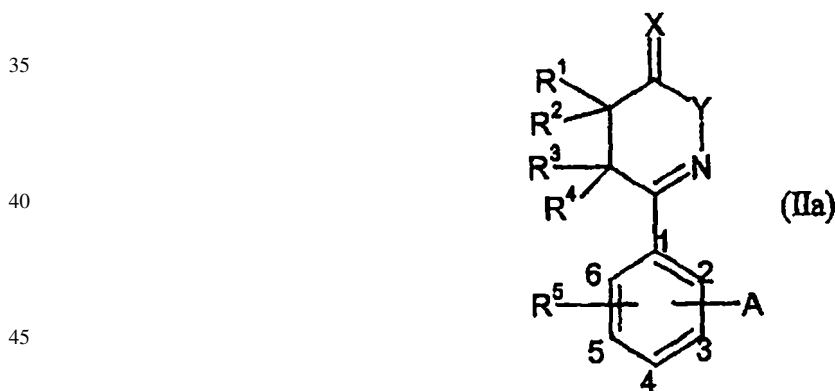
20 *Un heterociclo saturado o parcialmente insaturado de 5 a 7 miembros* (“heterociclo C₅-C₇”) con hasta 3 heteroátomos del grupo de S, N y/o O representa en el marco de la invención en general un heterociclo mono- o policíclico, preferiblemente mono- o bíclico, que puede contener uno o más dobles enlaces y que está ligado por un átomo de carbono de anillo o un átomo de nitrógeno de anillo. El heterociclilo puede estar sustituido a su vez por C o N. Se citan como ejemplos: tetrahydrofurilo, pirrolidin-2-ilo, pirrolidin-3-ilo, pirrolinilo, piperidinilo, dihidropiridinilo, piperazinilo, morfolinilo, azepinilo, diazepinilo. Se prefieren piperidinilo, morfolinilo y pirrolidinilo.

25 *Halógeno* representa flúor, cloro, bromo y yodo, preferiblemente flúor y cloro.

Los compuestos de fórmulas (Ia) y (Ib) son conocidos o pueden prepararse según los siguientes procedimientos.

En el procedimiento

30 [A] se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (IIa)

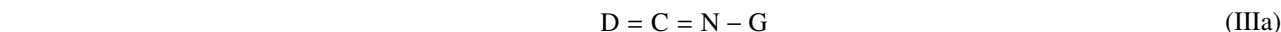


50 en la que

A está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

55 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, A, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

con compuestos de fórmula general (IIIa)



en la que

D y G presentan el significado dado anteriormente,

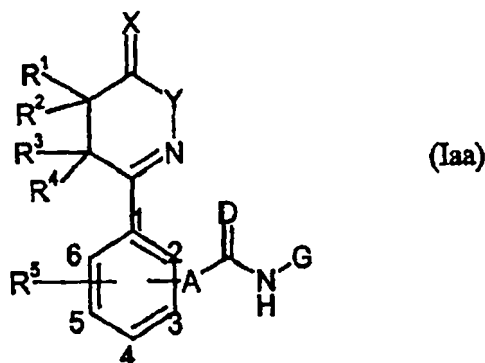
65

hasta compuestos de fórmula general (Iaa)

5

10

15



20 en la que

A está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, A, D, G, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

25

30

35

en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes tetrahydrofurano o cloruro de metileno, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio o *tert*-butilato de potasio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropiletilamina, preferiblemente trietilamina, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

Los compuestos de fórmula general (IIa) se representan a continuación como (IIaa), (IIba) y (IIca).

40

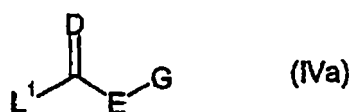
Los compuestos de fórmula general (IIIa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

En el procedimiento

[B] se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (IIa) con compuestos de fórmula general (IVa)

45

50



en la que

55

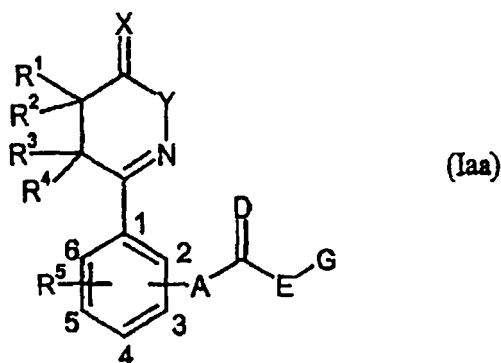
D, E y G presentan el significado dado anteriormente, y

L¹ representa p-nitrofenilo o halógeno, preferiblemente bromo o cloro,

60

65

hasta compuestos de fórmula general (Iaa)



en la que

20 A está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, A, D, E, G, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

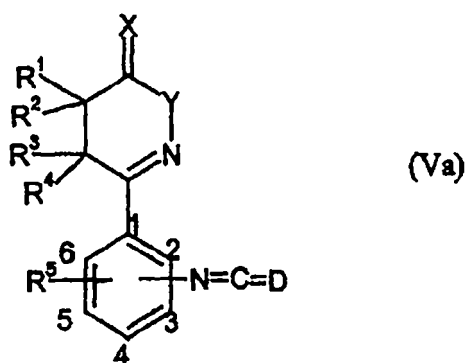
25 en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes tetra-

30 hidrofurano o cloruro de metileno, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio o *tert*-butilato de potasio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropiltilamina, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

35 Los compuestos de fórmula general (IVa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

En el procedimiento

40 [C] se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (Va)



en la que

60 -NCD está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, D, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

65 con compuestos de fórmula general (VIa)

H - M - G

(VIa)

en la que

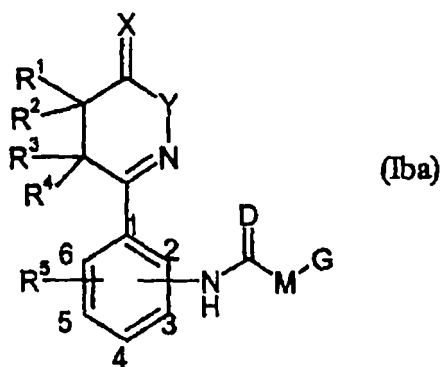
G presenta el significado dado anteriormente, y

5 M representa oxígeno o NR⁷,

en el que

R⁷ presenta el significado dado anteriormente,

10 hasta compuestos de fórmula general (Iba)



en la que

30 -NH-C(D)-M-G está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático,

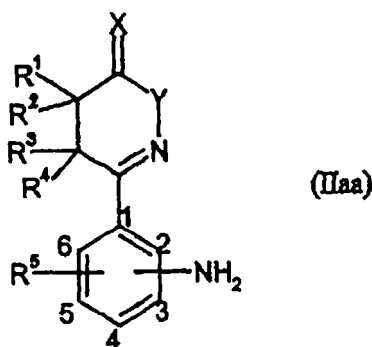
R¹, R², R³, R⁴, R⁵, D, G, M, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

35 en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes tetrahydrofurano o cloruro de metileno, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo,

40 carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio o *tert*-butilato de potasio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropiletilamina, preferiblemente trietilamina, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

45 Los compuestos de fórmula general (VIa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

Para la preparación de compuestos de fórmula general (IIaa)

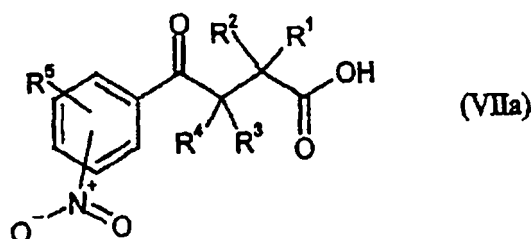


en la que

65 NH₂ está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (VIIa)



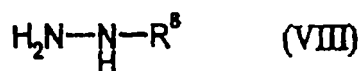
en la que

15 NO₂ está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ presentan el significado dado anteriormente,

en el caso de que X represente oxígeno,

20 en primer lugar con hidrazina, hidroxilamina o un compuesto de fórmula general (VIIIa)



en la que

R⁸ presenta el significado dado anteriormente,

30 y a continuación se reduce el grupo nitro a grupo amino. Estas dos reacciones pueden tener lugar en una o dos etapas de reacción.

35 En un procedimiento de una etapa, se hacen reaccionar con hidrazina y con paladio sobre carbono simultáneamente en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes etanol o isopropanol, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

40 En un procedimiento de dos etapas, se hacen reaccionar en primer lugar con hidrazina, hidroxilamina o un compuesto de fórmula general (VIIIa) en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes etanol o isopropanol, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

50 En la segunda etapa, se hacen reaccionar con donantes de hidrógeno, preferiblemente hidrazina o hidrógeno, y con paladio sobre carbono, o con dicloruro de estaño en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo, dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes etanol o isopropanol, o en el caso de dicloruro de estaño dimetilformamida, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal hasta 303 kPa.

En el caso en que X represente azufre,

60 se hacen reaccionar en primer lugar con hidrazina, hidroxilamina o un compuesto de fórmula general (VIIIa), después con reactivo de Lawesson se intercambia el oxígeno por azufre y a continuación se reduce el grupo nitro a grupo amino.

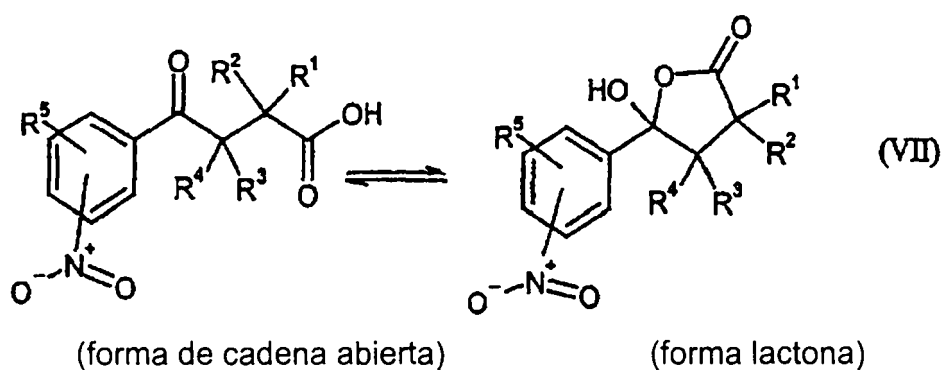
65 En la primera etapa, se hacen reaccionar en primer lugar con hidrazina, hidroxilamina o un compuesto de fórmula general (VIIIa) en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones

de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes etanol o isopropanol, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

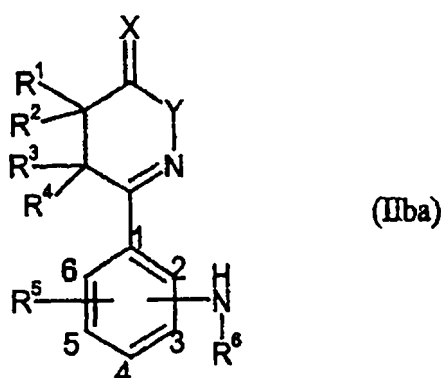
5 En la segunda etapa, se hacen reaccionar con reactivo de Lawesson en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como nitrometano, 1,2-dimetoxietano, dimetilsulfóxido o piridina, se prefieren tolueno, xileno o dioxano, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

En la tercera etapa, se hacen reaccionar con donantes de hidrógeno, preferiblemente hidrazina o hidrógeno, y con paladio sobre carbono, o con dicloruro de estaño en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *tert*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes etanol, isopropanol, o en el caso de dicloruro de estaño dimetilformamida, preferiblemente en intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal hasta 303 kPa

Los compuestos de fórmula general (VIIa) pueden presentarse en dos formas diferentes. En el transcurso de la descripción del procedimiento, se refiere sólo la forma de cadena abierta.



40 Para la preparación de compuestos de fórmula general (IIba)



en la que

60 NHR⁶ está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (IIaa) con compuestos de fórmula general (IXa),

65



en la que

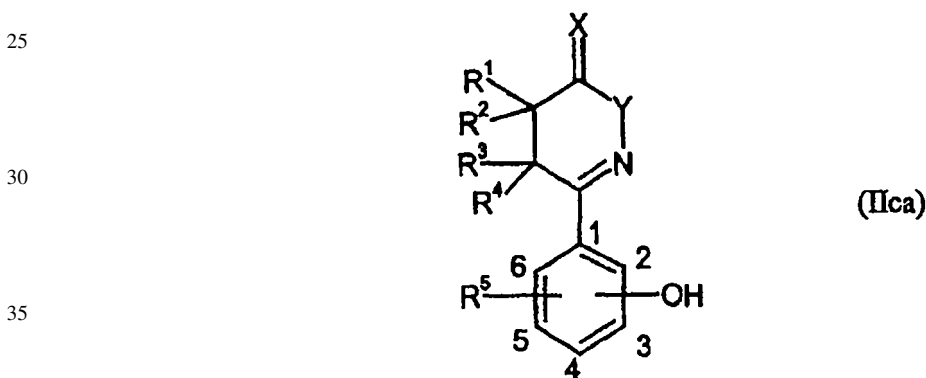
R⁶ presenta el significado dado anteriormente, y

5 L² representa halógeno, preferiblemente bromo o yodo,

en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina; se prefieren como disolventes tetrahidrofurano o dietiléter, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, hidróxidos alcalinos como hidróxido de sodio o potasio, o carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio, o amiduros como amiduro de sodio, bis(trimetilsilil)amiduro de litio, diisopropilamiduro de litio o compuestos organometálicos como butil-litio o fenil-litio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropiletilamina, preferiblemente diisopropiletilamina, *tert*-butilato de potasio o DBU, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

Los compuestos de fórmula general (IXa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

20 Para la preparación de compuestos de fórmula general (IIca)



40 en la que

OH está unido por las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

45 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, X e Y presentan el significado dado anteriormente,

se preparan a partir de compuestos de fórmula general (IIaa) en primer lugar los compuestos de diazonio según procedimientos conocidos por el experto, y se evaporan estos a continuación hasta los fenoles (véase "Organikum", 17ª edición, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlín, pág. 543).

50 Para la preparación de los compuestos de fórmula general (Va), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (IIaa)

con éster triclorometílico del ácido clorofórmico

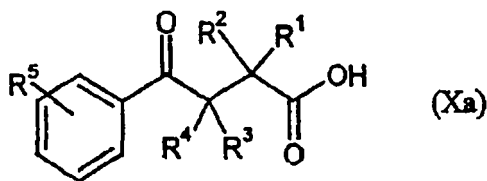
55 en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, acetonitrilo o piridina. Como disolventes se prefieren tetrahidrofurano o diclorometano, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno, DBU, trietilamina o diisopropiletilamina, preferiblemente 1,8-bis(dimetilamino)naftaleno, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

65

ES 2 286 499 T3

Para la preparación de compuestos de fórmula general (VIIa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (Xa)

5



10

en la que

R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ presentan el significado dado anteriormente,

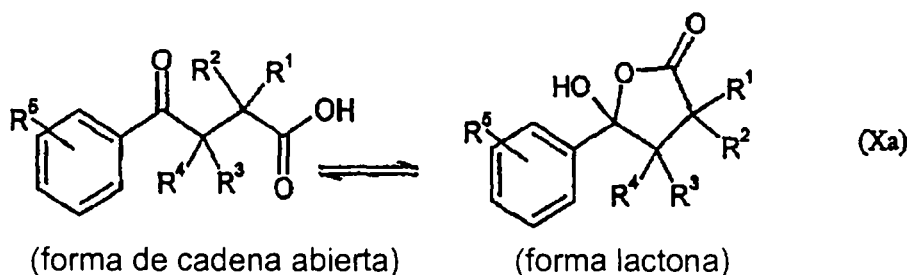
15

con ácido nítrico fumante, ácido nítrico concentrado o ácido sulfonítrico, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -30°C a 0°C a presión normal.

20

Los compuestos de fórmula general (Xa) pueden presentarse en dos formas distintas. En el transcurso de la descripción del procedimiento, se refiere sólo la forma de cadena abierta.

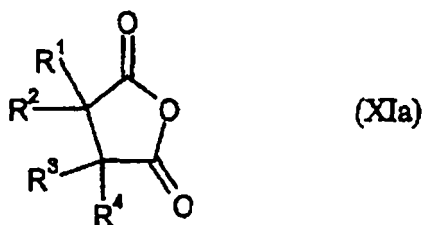
25



30

Para la preparación de los compuestos de fórmula general (Xa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XIa)

35



40

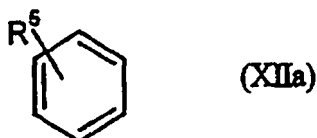
en la que

R¹, R², R³ y R⁴ presentan el significado dado anteriormente,

50

con compuestos de fórmula general (XIIa)

55



en la que

60

R⁵ presenta el significado dado anteriormente,

con ácidos de Lewis, preferiblemente tricloruro de aluminio,

65

en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos co-

mo benceno, nitrobenzono, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolvente como acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina (se prefiere como disolvente 1,2-dicloroetano), preferiblemente en un intervalo de temperatura de -20°C hasta temperatura ambiente a presión normal.

5

Los compuestos de fórmula general (XIa) y (XIIa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

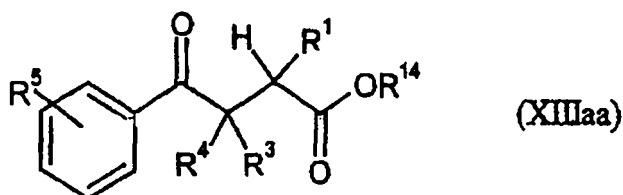
10

Como modo de síntesis alternativo, se hacen reaccionar para la preparación de compuestos de fórmula general (Xaa), que son compuestos de fórmula general (Xa) en los que

R² representa hidrógeno,

compuestos de fórmula general (XIIIaa)

15



20

en la que

R¹, R³, R⁴ y R⁵ presentan el significado dado anteriormente, y

R¹⁴ representa alquilo C₁-C₆, preferiblemente metilo y etilo,

30

con bases como, por ejemplo, hidróxidos alcalinos como hidróxido de sodio, litio o potasio, o carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio, preferiblemente hidróxido de sodio, en disolventes inertes; pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina, o mezclas de disolventes (se prefieren como disolventes tetrahydrofurano y/o metanol), preferiblemente en un intervalo de temperatura de 0°C hasta temperatura ambiente a presión normal.

35

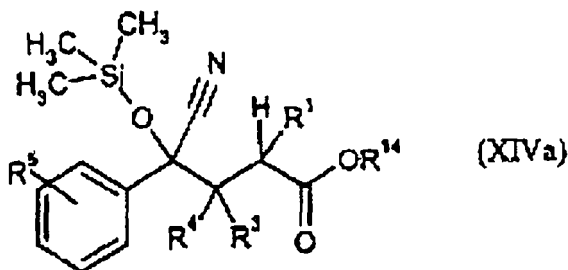
40

Los compuestos de fórmula general (Xa) pueden prepararse también análogamente al modo de síntesis descrito para el procedimiento de los compuestos de fórmula general (Xaa) a partir de los compuestos de fórmula general (XIIIa).

45

Para la preparación de compuestos de fórmula general (XIIIaa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XIVa)

50



55

en la que

R¹, R³, R⁴, R⁵ y R¹⁴ presentan el significado dado anteriormente,

con fluoruro de tetrabutilamonio,

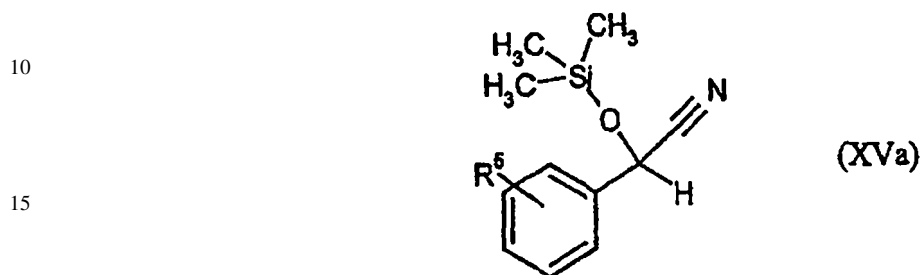
65

en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*terc*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *terc*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno,

ES 2 286 499 T3

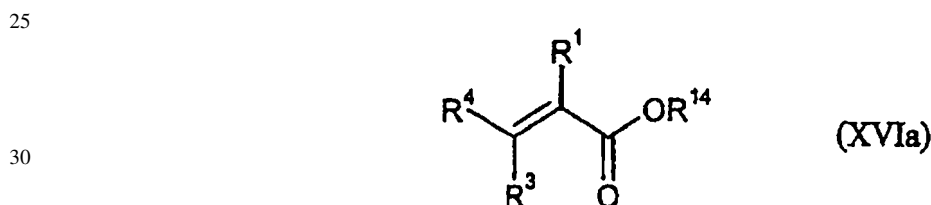
hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como nitrometano, acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina (se prefiere como disolvente tetrahydrofurano), preferiblemente en un intervalo de temperatura de 0°C hasta temperatura ambiente a presión normal.

5 Para la preparación de compuestos de fórmula general (XIVa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XVa)



20 en la que

R⁵ presenta el significado dado anteriormente,
con compuestos de fórmula general (XVIa)



en la que

35 R¹, R³, R⁴ y R¹⁴ presentan el significado dado anteriormente,

en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahydrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, etilbenceno, xileno, tolueno, hexano, heptano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina, o mezclas de disolventes, se prefieren como disolventes dietiléter, tetrahydrofurano, heptano y/o etilbenceno, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, hidróxidos alcalinos como hidróxido de sodio o potasio, o carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio o metanolato de sodio o potasio, o etanolato de sodio o potasio o *tert*-butilato de potasio, o amiduros como amiduro de sodio, bis (trimetilsilil)amiduro de litio, diisopropilamiduro de litio o compuestos organometálicos como butil-litio o fenil-litio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropilamina, preferiblemente diisopropilamiduro de litio, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -78°C hasta temperatura ambiente a presión normal.

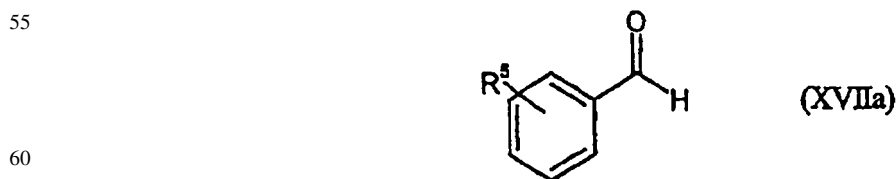
40

45

Los compuestos de fórmula general (XVIa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

50

Para la preparación de los compuestos de fórmula general (XVa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XVIIa)



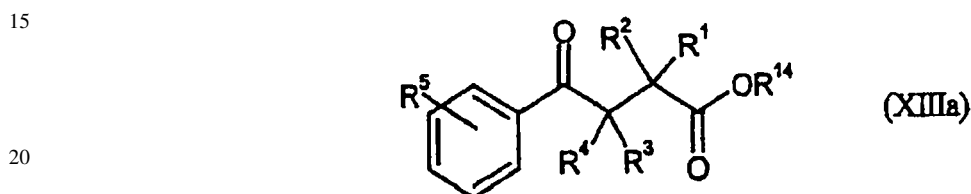
en la que

65 R⁵ presenta el significado dado anteriormente,
con cianuro de trimetilsililo y yoduro de cinc

5 dado el caso en disolventes inertes, pertenecen a ellos hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *tert*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como nitrometano, acetato de etilo, acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina (se prefiere como disolvente tetrahidrofurano), preferiblemente en un intervalo de temperatura de temperatura ambiente hasta 100°C a presión normal

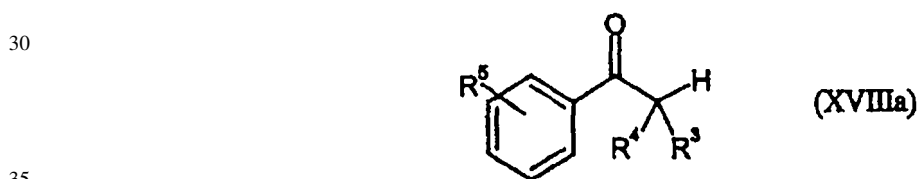
10 Los compuestos de fórmula general (XVIIa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactivos.

Para la preparación de compuestos de fórmula general (XIIIa)



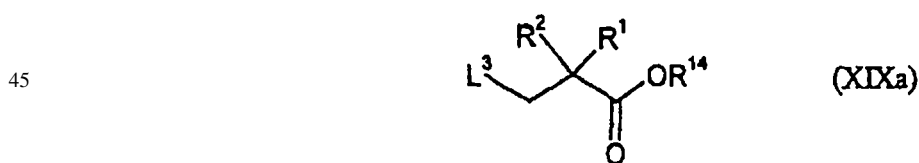
en la que

25 R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^{14} presentan el significado dado anteriormente, se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XVIIIa)



en la que

40 R^3 , R^4 y R^5 presentan el significado dado anteriormente, con compuestos de fórmula general (XIXa)



en la que

R^1 , R^2 y R^{14} presentan el significado dado anteriormente, y

55 L^3 representa halógeno, preferiblemente bromo o yodo,

en disolventes inertes, pertenecen a ellos éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, etilbenceno, xileno, tolueno; se prefieren como disolventes tetrahidrofurano o tolueno, dado el caso en presencia de una base como, por ejemplo, amiduros como amiduro de sodio, hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de potasio, diisopropilamiduro de litio u otras bases como hidruro de sodio, DBU o diisopropilamina, preferiblemente amiduro de sodio, hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de potasio o diisopropilamiduro de litio, preferiblemente en un intervalo de temperatura de -78°C hasta temperatura ambiente a presión normal.

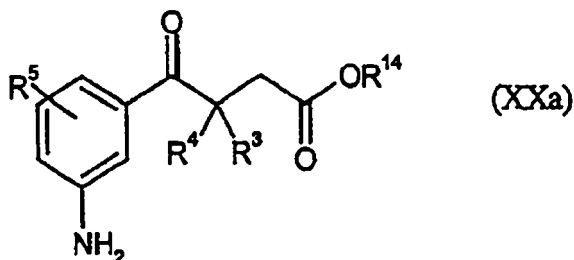
65 Los compuestos de fórmula general (XVIIIa) y (XIXa) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactivos (para (XVIIIa) véase M.R. Schneider, H. Ball, *J. Med. Chem.* 1986, 29, 75-79; Robl y col., *Synthesis* 1991, 56; *J. Org. Chem.* 1996, 61, 607).

ES 2 286 499 T3

En un modo de síntesis alternativo para la preparación de los compuestos de fórmula general (IIaaa), que son compuestos de fórmula general (IIaa) en los que

R¹ y R² representan hidrógeno,

se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XXa)

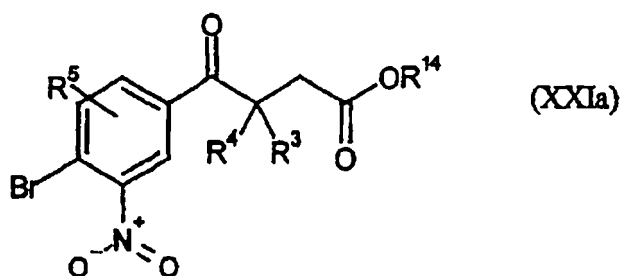


en la que

R³, R⁴, R⁵ y R¹⁴ presentan el significado dado anteriormente,

con hidrazina. La reacción se realiza análogamente a la primera etapa del procedimiento de dos etapas que se describe para la preparación de compuestos de fórmula general (IIaa).

Para la preparación de compuestos de fórmula general (XXa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XXIa)

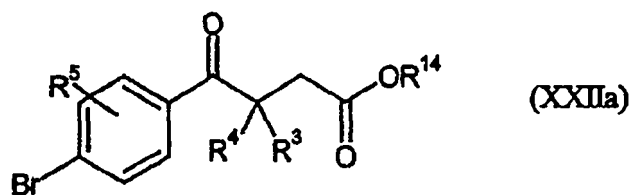


en la que

R³, R⁴, R⁵ y R¹⁴ presentan el significado dado anteriormente,

con agentes de reducción. La reacción se realiza análogamente a la segunda etapa del procedimiento de dos etapas que se describe para la preparación de compuestos de fórmula general (IIaa).

Para la preparación de compuestos de fórmula general (XXIa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XXIIa)



en la que

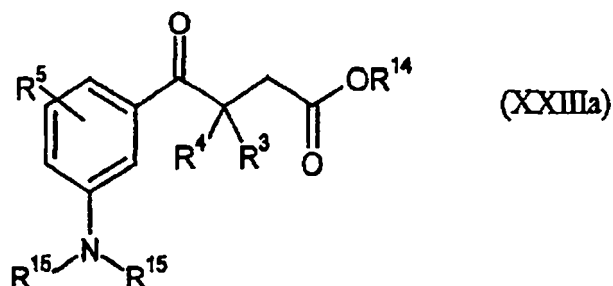
R³, R⁴, R⁵ y R¹⁴ presentan el significado dado anteriormente,

ES 2 286 499 T3

con ácido nítrico fumante, ácido nítrico concentrado o ácido sulfonítrico análogamente al procedimiento que se describe para la preparación de compuestos de fórmula general (VIIa).

Los compuestos de fórmula general (XXIIa) pueden sintetizarse según el procedimiento descrito para los compuestos de fórmula general (XIIIa) a partir de los correspondientes reactantes.

En un modo de síntesis alternativo para la preparación de compuestos de fórmula general (XXa), se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (XXIIIa)



25 en la que

R^3 , R^4 , R^5 y R^{14} presentan el significado dado anteriormente,

y

30 R^{15} representa alilo o bencilo,

en el caso de bencilo con agentes de reducción. La reacción se realiza análogamente a la segunda etapa del procedimiento de dos etapas que se ha descrito para la preparación de los compuestos de fórmula general (IIa).

35 En el caso de alilo, se usa un procedimiento con tetraquitrifenilfosfina-paladio y ácido *N,N*-dimetilbarbitúrico, véase F. Garro-Helion, A. Merzouk, F. Guibe, *J. Org. Chem.* 1993, 58, 6109-6113.

40 Los compuestos de fórmula general (XXIIIa) pueden sintetizarse según el procedimiento descrito para los compuestos de fórmula general (XIIIa) a partir de los correspondientes reactantes.

Los procedimientos descritos anteriormente pueden ilustrarse, por ejemplo, mediante el siguiente esquema de fórmulas:

45

(Esquema pasa a página siguiente)

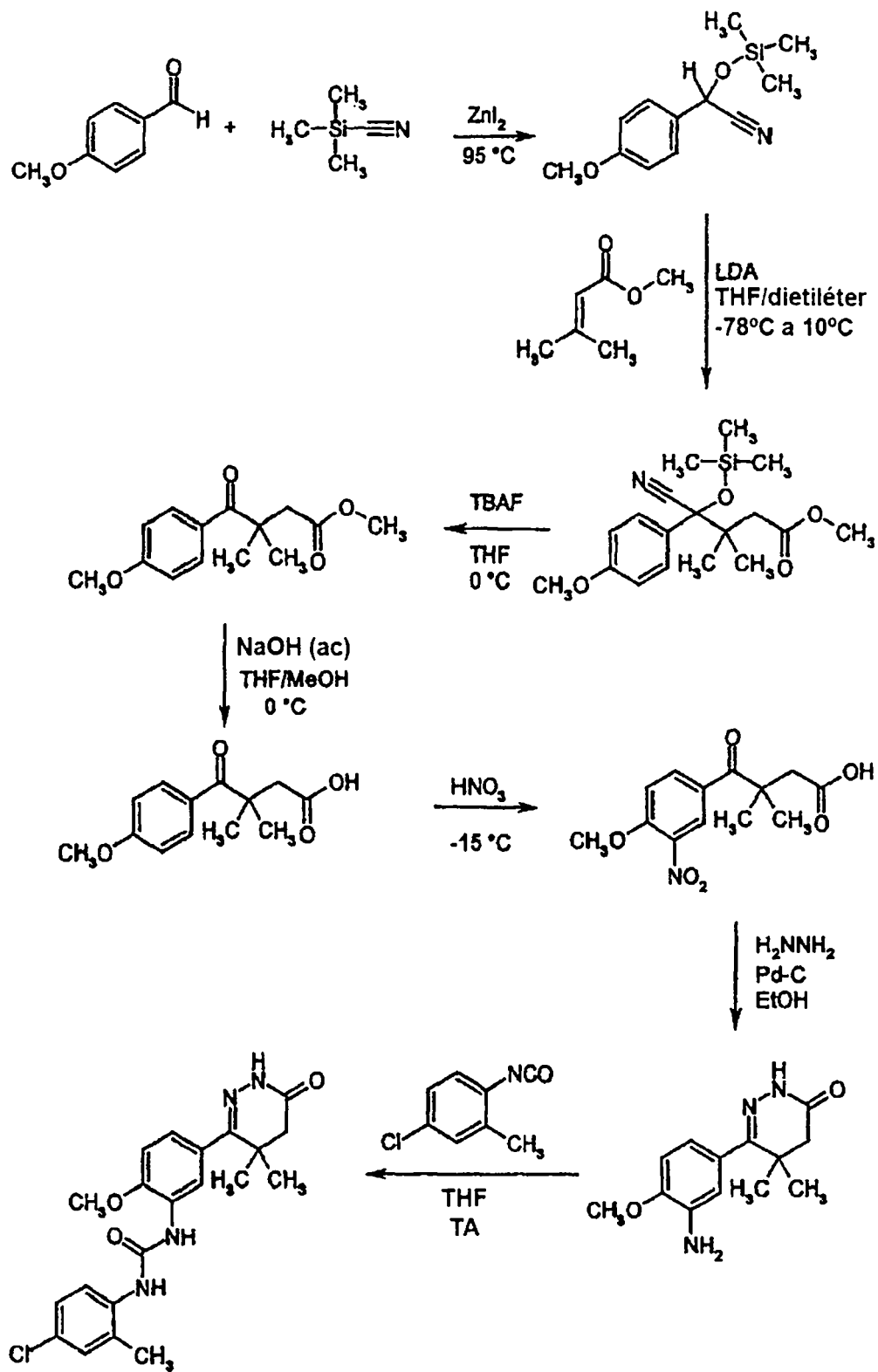
50

55

60

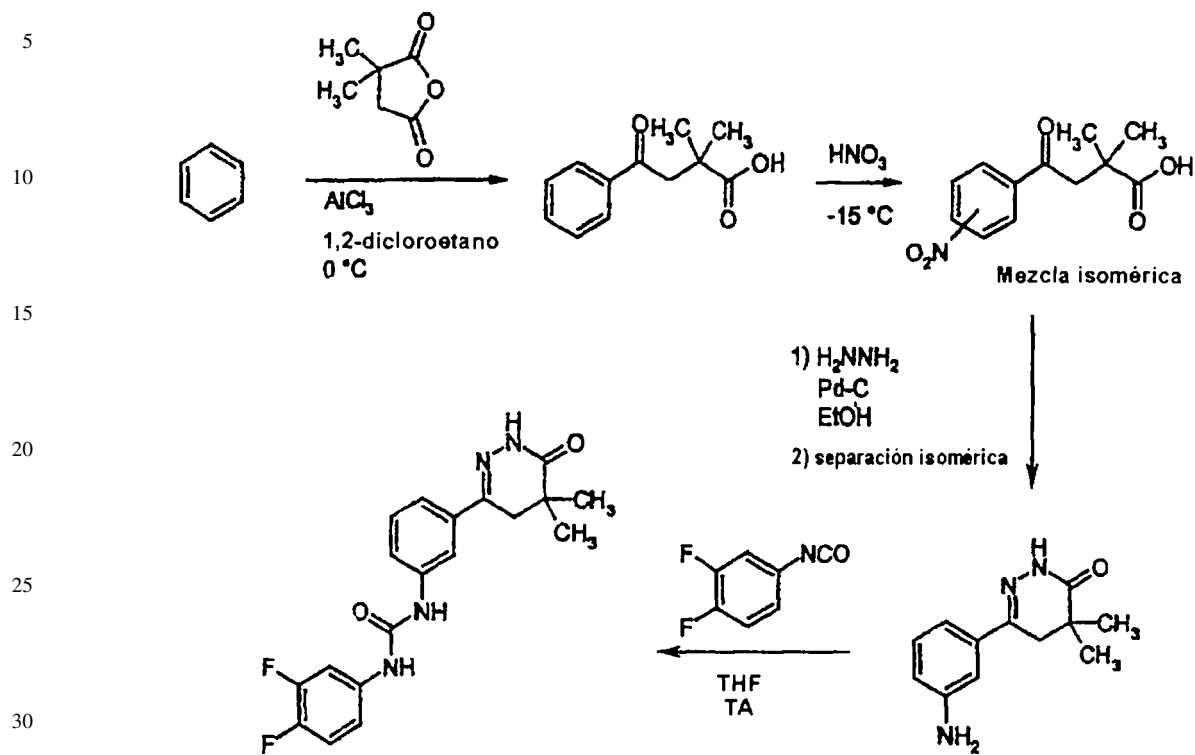
65

Esquema 1

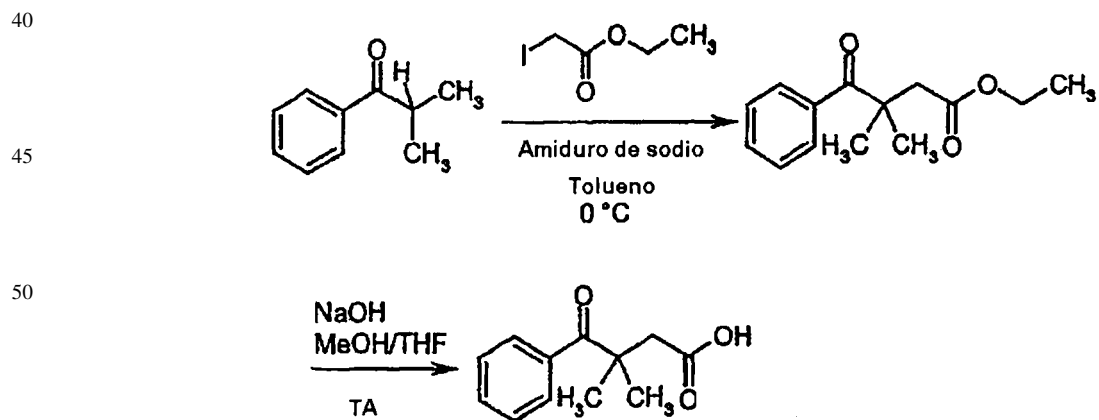


ES 2 286 499 T3

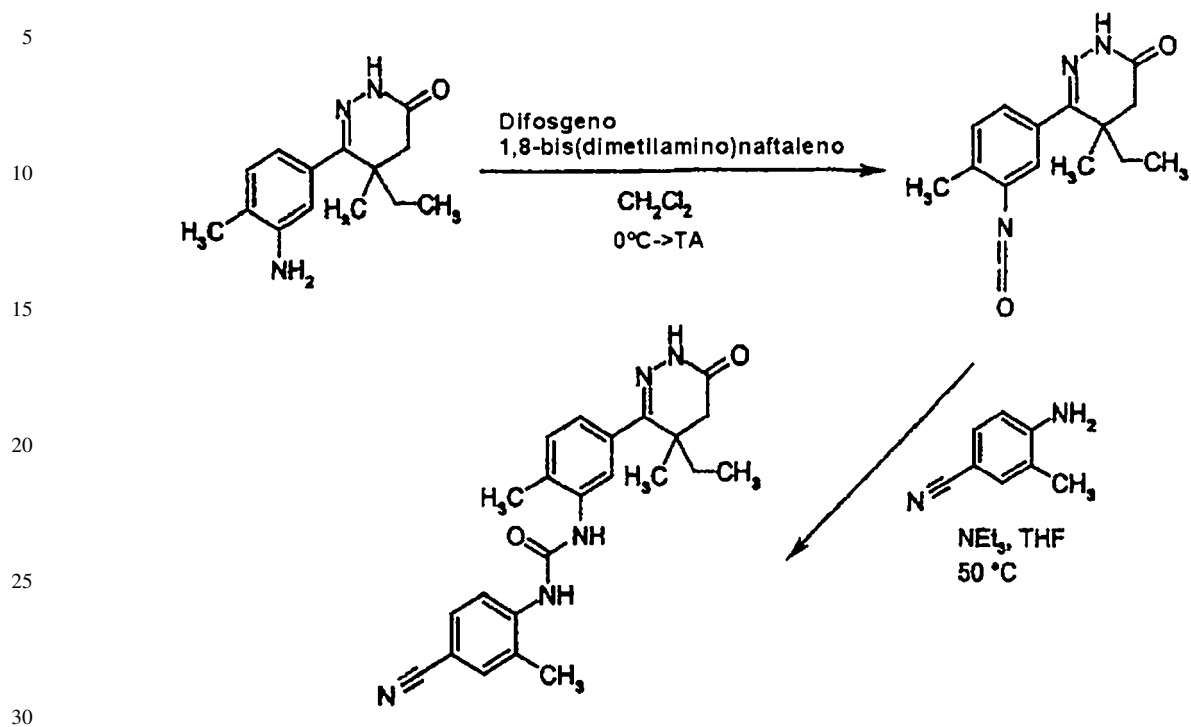
Esquema 2



Esquema 3

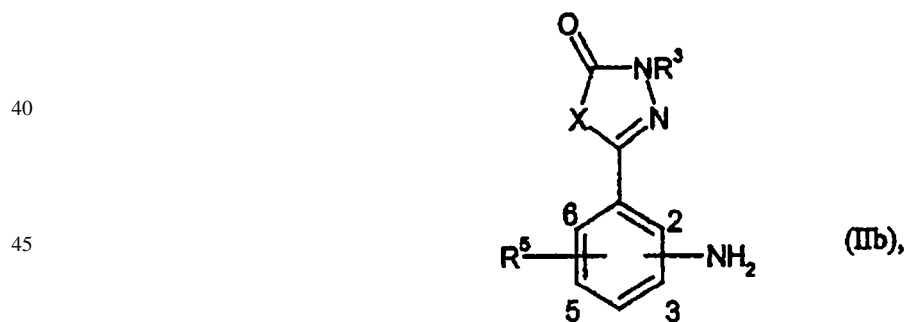


Esquema 4



En el procedimiento

[D] se hacen reaccionar compuestos de fórmula general (IIb)

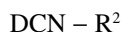


50 en la que

NH_2 está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

X, R^3 y R^5 tienen los significados dados anteriormente,

55 con compuestos de fórmula (IIIb)



(IIIb),

60 en la que R^2 y D tienen el significado dado anteriormente.

La reacción se realiza en disolventes inertes, dado el caso en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

65 Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano, tetraclorometano, tricloroetano, tetracloroetano, 1,2-dicloroetano o tricloroetileno, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como acetato de etilo,

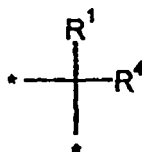
ES 2 286 499 T3

acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o piridina, se prefieren tetrahidrofurano o cloruro de metileno.

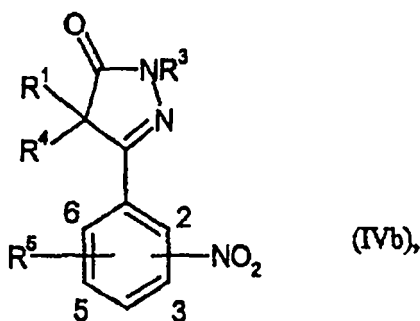
Las bases son, por ejemplo, carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio o *tert*-butilato de potasio, u otras bases como hidruro de sodio, DBU, trietilamina o diisopropiletilamina, se prefieren diisopropiletilamina y trietilamina.

Los compuestos de fórmula (IIIb) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

Los compuestos de fórmula (IIab), que representan compuestos de fórmula (IIb) en la que X representa



pueden prepararse reduciendo compuestos de fórmula (IVb)



en la que

NO₂ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

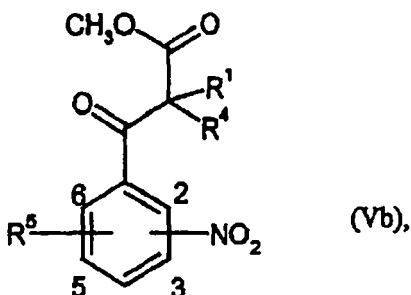
R¹, R³, R⁴ y R⁵ tienen el significado dado anteriormente,

por ejemplo, con cloruro de estaño (II) o hidrógeno con paladio sobre carbono.

La reacción se realiza en disolventes inertes, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal hasta 303 kPa.

Los disolventes inertes son, por ejemplo, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *tert*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina, se prefieren etanol, isopropanol, o en el caso de dicloruro de estaño dimetilformamida.

Los compuestos de fórmula (IVb) pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Vb)



ES 2 286 499 T3

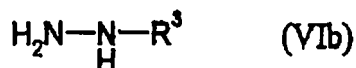
en la que

NO₂ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

5 R¹, R⁴ y R⁵ tienen el significado dado anteriormente,

con hidrazina o un compuesto de fórmula general (VIb)

10



en la que

15 R³ presenta el significado dado anteriormente.

La reacción se realiza en disolventes inertes, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

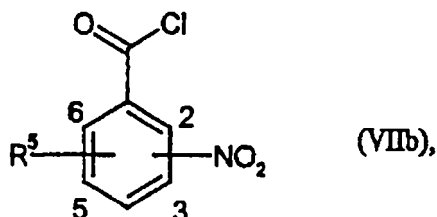
20 Los disolventes inertes son, por ejemplo, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol o *tert*-butanol, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilformamida, dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina, se prefieren etanol o isopropanol.

25

Los compuestos de fórmula (VIb) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los correspondientes reactantes.

Los compuestos de fórmula (Vb) pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula (VIIb)

30



40

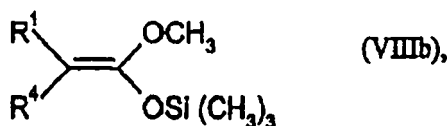
en la que

NO₂ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

45 R⁵ tiene el significado dado anteriormente,

con compuestos de fórmula (VIIIb)

50



55

en la que R¹ y R⁴ tienen el significado dado anteriormente,

en presencia de trifluoroeterato de boro.

60

La reacción se realiza en disolventes inertes, preferiblemente en un intervalo de temperatura desde temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal.

65 Los disolventes inertes son, por ejemplo, éteres como dietiléter, metil-*tert*-butiléter, 1,2-dimetoxietano, dioxano, tetrahidrofurano, glicoldimetiléter o dietilenglicoldimetiléter, hidrocarburos como benceno, xileno, tolueno, hexano, ciclohexano o fracciones de petróleo, u otros disolventes como dimetilacetamida, acetonitrilo o piridina, se prefiere dietiléter.

ES 2 286 499 T3

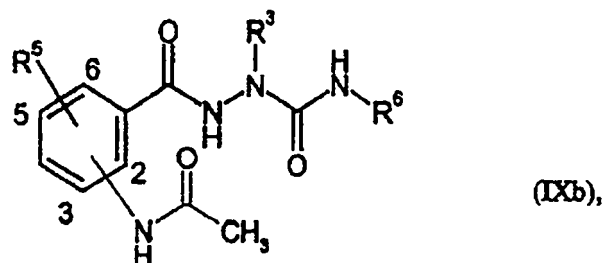
Los compuestos de fórmula (VIIb) son conocidos o pueden prepararse análogamente a procedimientos conocidos.

Los compuestos de fórmula (VIIIb) son conocidos o pueden prepararse análogamente a C. Ainsworth, F. Chen, Y.-N. Kuo, *J. Organomet. Chem.* **1972**, 46, 59-71.

5

Los compuestos de fórmula (IIb), que representan compuestos de fórmula (Ib) en la que X representa NR⁶, pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula (IXb)

10



15

20

en la que

25

NHC(O)CH₃ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R³, R⁵ y R⁶ tienen el significado dado anteriormente,

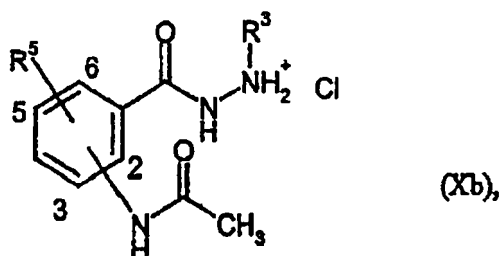
en agua en presencia de una base, preferiblemente a 60°C hasta reflujo del agua a presión normal.

30

Las bases son, por ejemplo, hidróxidos alcalinos como hidróxido de sodio, litio o potasio, carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio, se prefiere hidróxido de sodio.

Los compuestos de fórmula (IXb) pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula (Xb)

35



40

45

en la que

50

NHC(O)CH₃ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R³ y R⁵ tienen el significado dado anteriormente,

55

con compuestos de fórmula (XIb)



60

en la que R⁶ tiene el significado dado anteriormente,

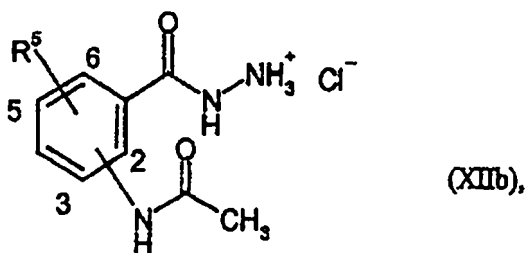
según el procedimiento descrito para la preparación de compuestos de fórmula (Ib).

65

Los compuestos de fórmula (XIb) son conocidos o pueden prepararse análogamente a procedimientos conocidos.

ES 2 286 499 T3

Los compuestos de fórmula (Xb) pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula (XIIb)



en la que

15 NHC(O)CH₃ está unido por una de las posiciones 2, 3, 5 ó 6 al anillo aromático, y

R⁵ tiene el significado dado anteriormente,

20 con compuestos de fórmula (XIIIb)



25 en la que R³ tiene el significado dado anteriormente,

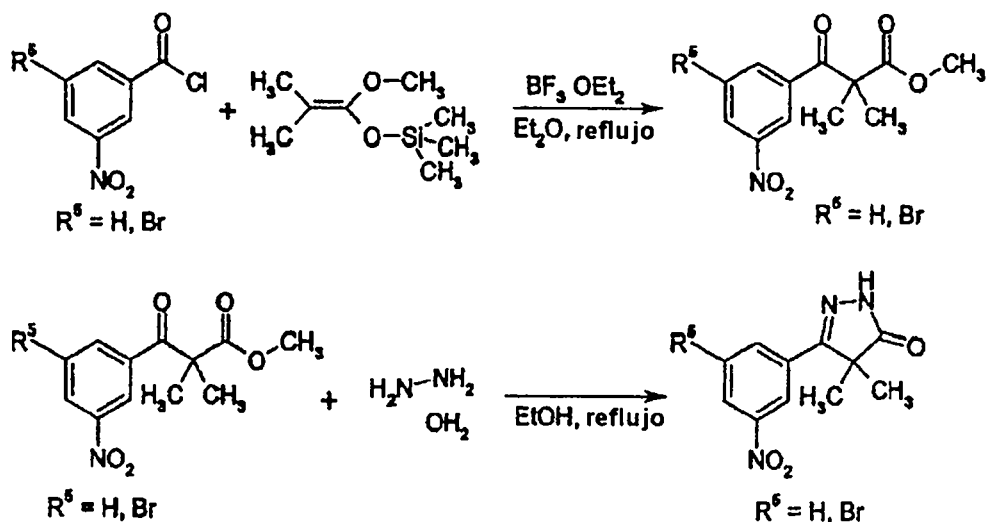
en una aminación reductiva según procedimientos conocidos por el experto para aminación reductiva.

Los compuestos de fórmulas (XIIb) y (XIIIb) son conocidos o pueden prepararse análogamente a procedimientos conocidos.

La preparación de los compuestos según la invención puede ilustrarse mediante los siguientes esquemas de síntesis 5-12.

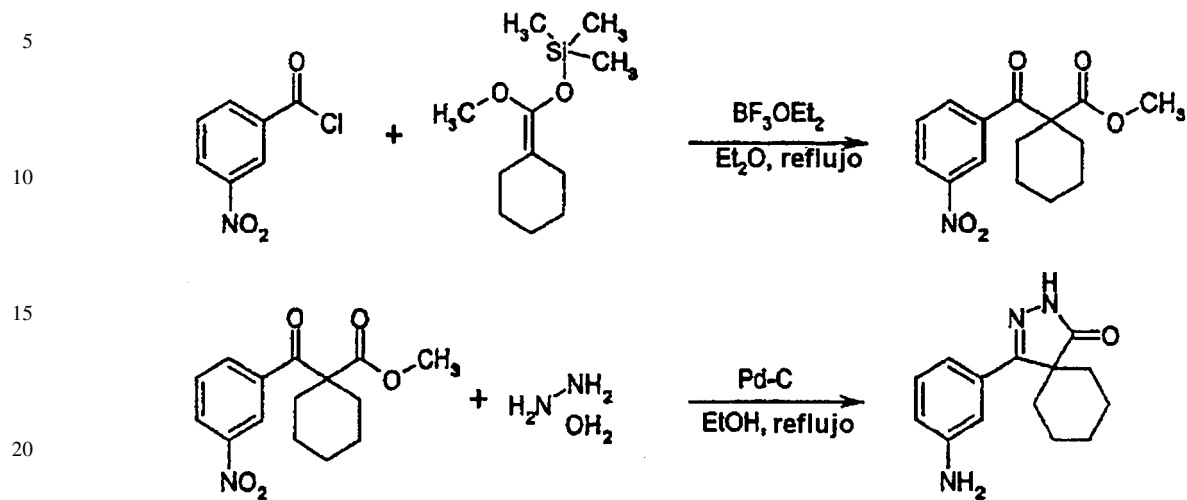
35 Esquemas de síntesis

Esquema 5



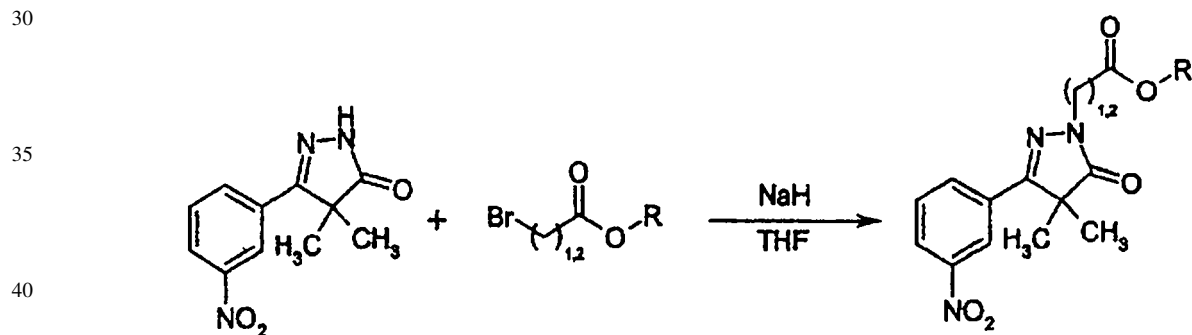
ES 2 286 499 T3

Esquema 6



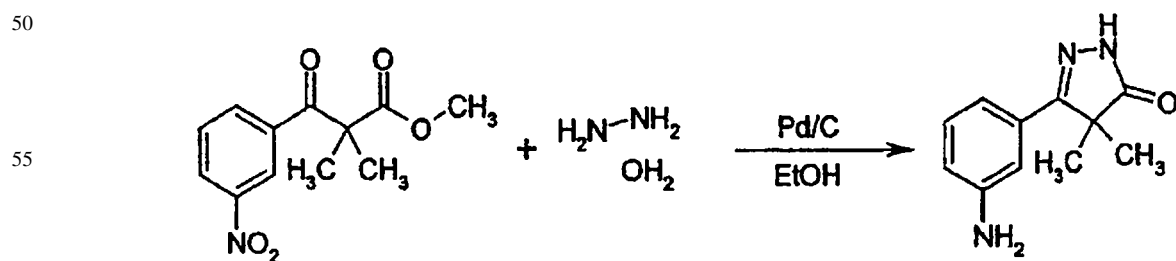
Esquema 7

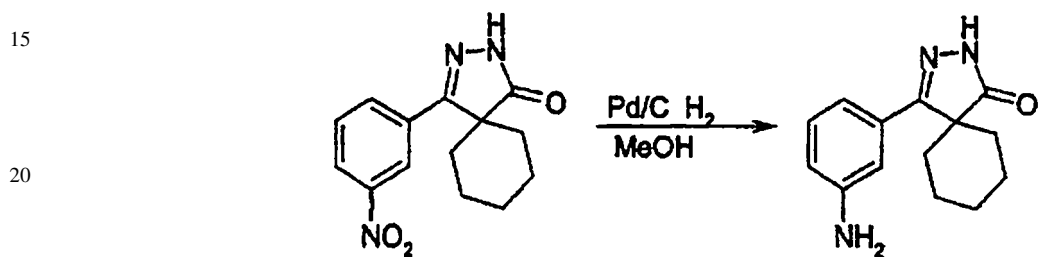
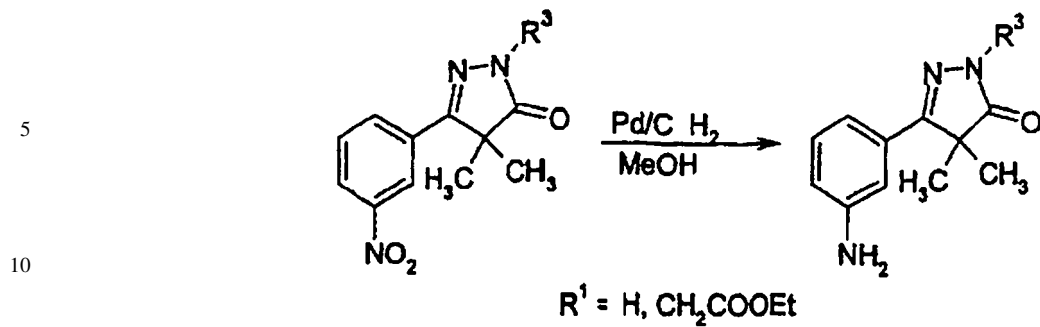
Alquilaciones de las pirazolonas



Esquema 8

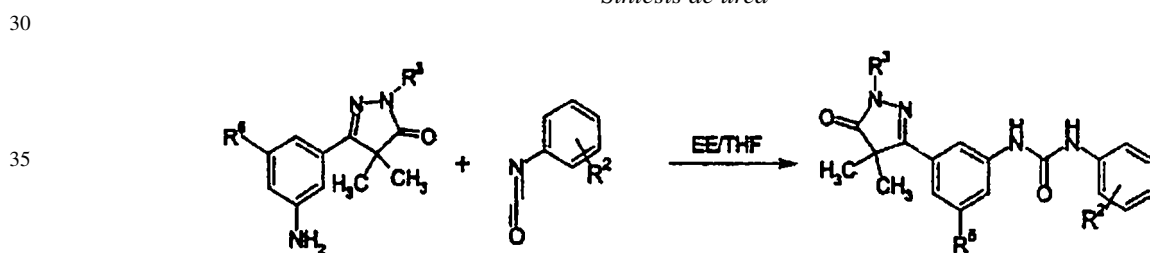
Reacciones hasta anilina





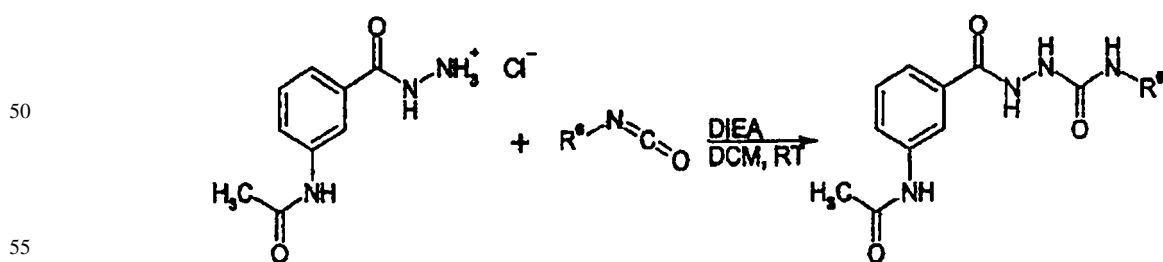
Esquema 9

Síntesis de urea



Esquema 10

Síntesis de hidrazinocarboxamida



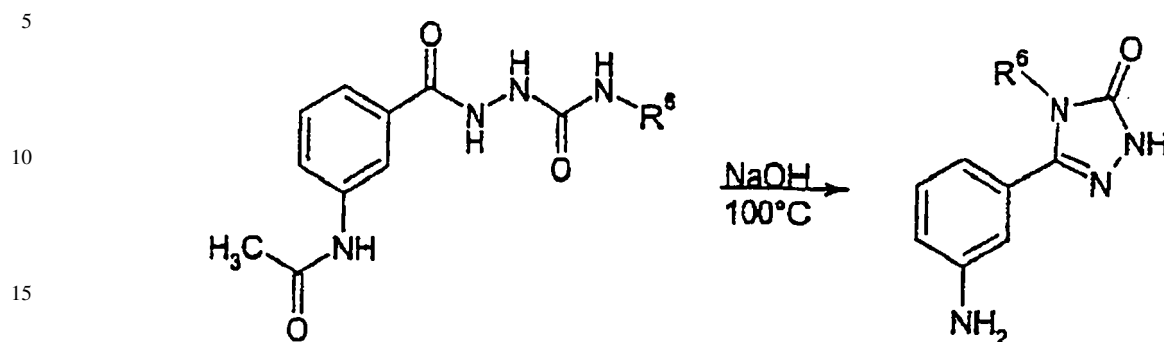
60

65

ES 2 286 499 T3

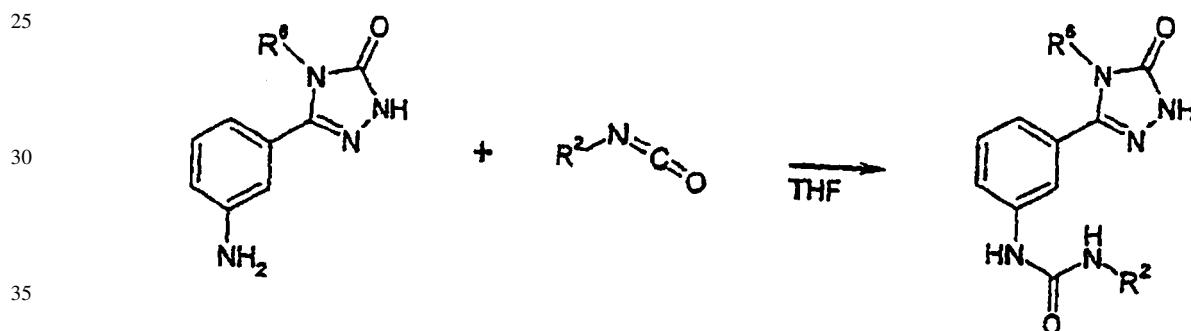
Esquema 11

Síntesis de 3-aminotriazolona



Esquema 12

Síntesis de urea



40 Se describen compuestos adicionales que actúan mediante el mecanismo aquí dado a conocer en las solicitudes de patente internacional WO 03/097595 y WO 03/089421.

Los compuestos muestran un espectro de acción farmacológica y farmacocinética valioso no previsible.

45 Son adecuados por tanto para uso como medicamentos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades en seres humanos y animales.

Se caracterizan como inhibidores de UL86.

50 Los compuestos según la invención pueden utilizarse debido a sus propiedades farmacológicas solos o en combinación con otros principios activos para el tratamiento y/o la prevención de infecciones por herpes, particularmente de infecciones con el citomegalovirus humano (HCMV).

55 Se describen adicionalmente medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención, preferiblemente junto con uno o varios coadyuvantes o vehículos farmacológicamente inocuos, así como su uso con los fines anteriormente citados.

El principio activo puede actuar sistémica y/o localmente. Con este fin, puede administrarse de modo adecuado como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, transdérmica, conjuntival, ótica o como implante.

60 Para estos modos de administración, el principio activo puede administrarse en formas de administración adecuadas.

65 Para administración oral, son adecuadas formas de administración conocidas que suministren el principio activo rápida y/o modificadamente como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos no recubiertos así como recubiertos, por ejemplo, comprimidos o comprimidos con película dotados de recubrimientos gastrorresistentes), cápsulas, grageas, gránulos, aglomerados, polvos, emulsiones, suspensiones, disoluciones y aerosoles.

ES 2 286 499 T3

La administración parenteral puede hacerse evitando una etapa de resorción (intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o intralumbar) o incluyendo una resorción (intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral, son adecuados como formas de administración, entre otros, preparados de inyección e infusión en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados y polvos estériles.

Para los demás modos de administración, son adecuadas, por ejemplo, presentaciones farmacéuticas (entre otras, inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas/disoluciones, pulverizadores nasales; comprimidos o cápsulas para administración lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparados auriculares y oculares, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, leches, pastas, polvos finos o implantes.

Los principios activos pueden transformarse de modo en sí conocido en las formas de administración indicadas. Esto se hace usando coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Se cuentan entre ellos, entre otros, vehículos (por ejemplo, celulosa microcristalina), disolventes (por ejemplo, polietilenglicoles líquidos), emulsionantes (por ejemplo, dodecilsulfato de sodio), dispersantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona), biopolímeros sintéticos y naturales (por ejemplo, albúmina), estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes como ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos como óxidos de hierro) o correctores del sabor y/u olor.

En general, se ha mostrado ventajoso administrar en administración parenteral cantidades de aproximadamente 0,001 a 10 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a 5 mg/kg de peso corporal para conseguir resultados eficaces. En administración oral, la cantidad asciende aproximadamente a 0,01 a 25 mg/kg, preferiblemente aproximadamente 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal.

A pesar de ello, puede ser necesario desviarse de las cantidades citadas, ciertamente dependiendo del peso corporal, modo de administración, comportamiento individual frente al principio activo, tipo de preparado y punto temporal o intervalo en el que se realice la administración. Así, en algunos casos puede ser suficiente menos de la cantidad mínima anteriormente citada, mientras que en otros casos debe superarse el límite superior citado. En el caso de administración de cantidades mayores, puede ser aconsejable dividir éstas en varias tomas individuales a lo largo del día.

Los datos porcentuales en los siguientes ensayos y ejemplos son, a menos que se indique otra cosa, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolvente, relaciones de dilución y datos de concentración de disoluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al volumen.

A. Ejemplos

Boc	butoxicarbonilo
TLC	cromatografía en capa fina
DCI	ionización química directa (en EM)
DCM	diclorometano
DIEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMSO	dimetilsulfóxido
DMF	dimetilformamida
d.t.	del teórico
AcOEt	acetato de etilo (éster etílico del ácido acético)
ESI	ionización por electropulverización (en EM)
P.f.	punto de fusión
h	hora
HPLC	cromatografía líquida de alta presión-alto rendimiento
CL-EM	espectroscopía de masas acoplada a cromatografía líquida
EM	espectroscopía de masas
MOI	multiplicidad de la infección

ES 2 286 499 T3

RMN espectroscopía de resonancia nuclear

HPLC-FI HPLC en fase inversa

5 TA temperatura ambiente

F_r índice de retención (en TLC)

T_r tiempo de retención (en HPLC)

10 IS índice de selectividad

THF tetrahidrofurano

15 *Procedimientos de HPLC y CLEM*

Procedimiento 1

20 *(CLEM)*

Instrumento: Micromass Quattro LCZ, HP1100; columna: Symmetry C18, 50 mm x 2,1 mm, 3,5 μm; eluyente A: acetonitrilo + 0,1% de ácido fórmico, eluyente B: agua + 0,1% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 10% de A → 4,0 min 90% de A; estufa: 40°C; flujo: 0,5 ml/min; detección UV: 208-400 nm.

25 Procedimiento 2

(HPLC)

30 Instrumento: Finnigan MAT 900S, TSP: P4000, AS3000, UV3000HR; columna: Symmetry C18, 150 mm x 2,1 mm, 5,0 μm; eluyente C: agua, eluyente B: agua + 0,3 g de ácido clorhídrico al 35%, eluyente A: acetonitrilo; gradiente: 0,0 min 2% de A → 2,5 min, 95% de A → 5 min, 95% de A; estufa: 70°C; flujo: 1,2 ml/min; detección UV: 210 nm.

35 Procedimiento 3

Columna: Kromasil C18 60*2, temperatura L-R: 30°C, flujo= 0,75 ml.min⁻¹, eluyente: A = HClO₄ 0,005 M, B= acetonitrilo, gradiente: 0,5 min 98% de A → 4,5 min 10% de A → 6,5 min 10% de A.

40 *Compuestos de partida*

Instrucciones generales de trabajo [A]

Síntesis de TMS-cianhidrinas

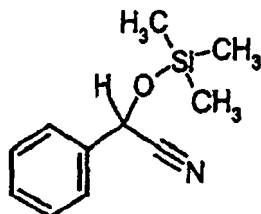
45 Se mezclan en atmósfera de argón en un matraz de tres bocas calentado de 100 ml 55 mmol de cianuro de trimetilsililo con una punta de espátula de yoduro de cinc anhidro. Se añaden gota a gota lentamente a TA 50 mmol de aldehídos líquidos (reacción exotérmica) (los aldehídos sólidos se añaden a 60°C en porciones en forma sólida). Se calienta a 95°C durante 7-8 horas la mezcla de reacción marrón obtenida. Después, se destila el producto a alto vacío con ayuda de un horno de tubo de bolas. Los líquidos incoloros o ligeramente amarillos así obtenidos se usan sin purificación adicional para las siguientes reacciones.

50 Según estas instrucciones, se prepara el siguiente compuesto:

55 Ejemplo 1A

Fenil[(trimetilsilil)oxi]acetonitrilo

60



65

ES 2 286 499 T3

A partir de 5,63 g (55 mmol) de cianuro de trimetilsililo, con 5,31 g (50 mmol) de benzaldehído, se obtienen 8,80 g (86% d.t.) de producto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,38$ min.

EM (DCI): $m/z = 223$ ($M + NH_4$)⁺.

Instrucciones generales de trabajo [B]

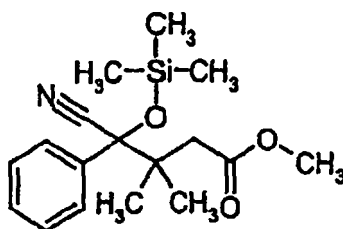
Reacción de TMS-cianhidrinas con éster metílico del ácido 3-metil-2-butenico

Se disuelve 1 eq de la correspondiente TMS-cianhidrina en un matraz de tres bocas calentado de 250 ml en atmósfera de argón en dietiléter absoluto, y se enfría la disolución obtenida a -78°C . Se añaden a ello gota a gota 1,05 eq de disolución de LDA 2 M en THF/heptano/etilbenceno durante 30 min. Se deja agitar otros 30 min a esta temperatura antes de añadir gota a gota 1 eq de éster metílico del ácido 3-metil-2-butenico disuelto en un poco de dietiléter absoluto. Durante 5 horas, se deja calentar hasta 0°C a 10°C . Después, se añade disolución saturada de cloruro de amonio y se agita durante 10 min. Se separan las fases y se lava la fase etérea otras 2 x con disolución saturada de cloruro de amonio. Después de secado sobre sulfato de magnesio y filtración, se elimina el disolvente en rotavapor y se obtiene el producto, que se utiliza sin purificación adicional para la siguiente etapa de síntesis.

Según estas instrucciones, se prepara el siguiente compuesto:

Ejemplo 2A

Éster metílico del ácido 4-ciano-3,3-dimetil-4-fenil-4-[(trimetilsilil)oxi]-butanoico



A partir de 8,80 g (43 mmol) de fenil[(trimetilsilil)oxi]acetonitrilo, después de desprotonación con 22,5 ml de disolución de LDA 2 M, con 5,04 g (43 mmol) de éster metílico del ácido 3-metil-2-butenico, se obtienen 13,69 g (67% d.t.) del compuesto del título en forma de producto en bruto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 5,53$ min.

EM (DCI): $m/z = 337$ ($M + NH_4$)⁺.

Instrucciones generales de trabajo [C]

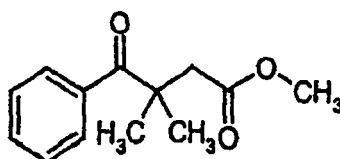
Destilación con ayuda de TBAF

Se disuelve 1 eq de derivado de éster metílico del ácido butanoico en atmósfera de argón en THF absoluto (0,25 M) y se enfría a 0°C . Se añaden gota a gota lentamente a esta temperatura 1,1 eq de una disolución de TBAF 1 M en THF. Se deja agitar otras 3 horas, se añade después agua y se extrae 3 x con diclorometano. Después de secado sobre sulfato de magnesio, filtración y eliminación del disolvente, se purifica por cromatografía en columna (gel de sílice: fase móvil ciclohexano/acetato de etilo = 85:15) o mediante destilación en tubo de bolas.

Según estas instrucciones, se prepara el siguiente compuesto:

Ejemplo 3A

Éster metílico del ácido 3,3-dimetil-4-oxo-4-fenilbutanoico



ES 2 286 499 T3

A partir de 13,44 g (42 mmol) de éster metílico del ácido 4-ciano-3,3-dimetil-4-fenil-4-[(trimetilsilil)oxi]butanoico, con 46,3 ml (46,3 mmol) de una disolución de TBAF 1 M, se obtienen 6,54 g (62% d.t.) del compuesto del título en forma de producto en bruto.

5 HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,25$ min.

EM (DCI): $m/z = 238$ ($M + NH_4$)⁺

Procedimiento alternativo de síntesis

10 Se disuelven 48,4 ml (24,20 mmol, disolución 0,5 M en tolueno) de hexametildisilazida de potasio en 30 ml de tetrahidrofurano y se mezclan a -78°C con 3,26 g (22 mmol) de isobutirofenona en 10 ml de tetrahidrofurano. Después de 2 horas, se añaden 4,04 g (26,40 mmol) de éster metílico del ácido bromoacético. Después de 2 horas
15 adicionales, se mezcla con 50 ml de ácido clorhídrico 1 N. A continuación, se extrae con acetato de etilo. Se lavan las fases orgánicas combinadas con agua y disolución saturada de cloruro de sodio, se secan con sulfato de magnesio y se elimina el disolvente. Después de HPLC preparativa en fase normal (columna: gel de sílice, flujo: 150 ml/min, eluyente: isohexano/acetato de etilo = 9:1), se obtiene el compuesto diana con un rendimiento de un 26%.

HPLC (procedimiento 3) $T_r = 4,60$ min.

20 EM (DCI/ NH_3): $m/z = 238$ ($M + NH_4$)⁺

Instrucciones generales de trabajo [D]

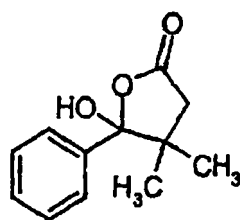
25 Saponificación de éster

Se disuelve el éster para saponificar en una mezcla de THF/metanol (1:1) y se enfría la disolución a 0°C . Se añaden gota a gota lentamente a esta temperatura 2 eq de lejía de sosa 1 N. Después de terminada la reacción (control
30 de reacción mediante TLC), se añaden iguales proporciones de lejía de sosa 1 N y diclorometano. Se extrae la fase orgánica dos veces con lejía de sosa 1 N. A continuación, se acidifican las fases acuosas combinadas con ácido clorhídrico concentrado y se extrae el producto tres veces con diclorometano. Después del secado sobre sulfato de sodio, filtración y evaporación del disolvente, se obtiene el producto y se usa sin purificación adicional para la siguiente
35 etapa de síntesis.

Según estas instrucciones, se prepara el siguiente compuesto:

Ejemplo 4A

40 5-Hidroxi-4,4-dimetil-5-fenildihidro-2(3H)-furanona



A partir de 6,52 g (29,6 mmol) de éster metílico del ácido 3,3-dimetil-4-oxo-4-fenilbutanoico se obtienen 5,20 g (83% d.t.) de producto.

55 HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,88$ min.

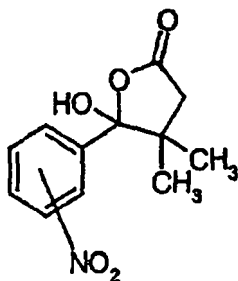
EM (DCI): $m/z = 224$ ($M + NH_4$)⁺

60

65

Ejemplo 5A

5-Hidroxi-4,4-dimetil-5-(3-nitrofenil)dihidro-2(3H)-furanona y 5-hidroxi-4,4-dimetil-5-(4-nitrofenil)dihidro-2(3H)-furanona



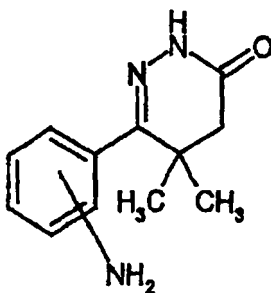
Se enfría a -15°C ácido nítrico fumante (12 ml) en un matraz en atmósfera de argón. Se añaden en porciones a esta temperatura 5 g (24,5 mmol) de 5-hidroxi-4,4-dimetil-5-fenildihidro-2(3H)-furanona en forma de sólido. Se agita posteriormente otra media hora a -15°C , después se vierte sobre hielo y se extrae tres veces con diclorometano. Se secan los extractos combinados sobre sulfato de magnesio. La purificación se realiza mediante cromatografía en columna (diclorometano-metanol 97:3). Se obtienen 6,23 g de una mezcla de productos de los compuestos del título en forma de producto en bruto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,06$ min.

EM (DCI): $m/z = 269$ ($M + \text{NH}_4$)⁺.

Ejemplo 6A

6-(3-Aminofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona y 6-(4-aminofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona



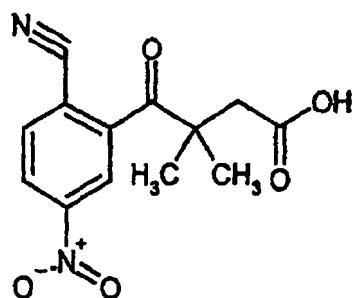
Se disuelven 2,98 g (11,9 mmol) de una mezcla de 5-hidroxi-4,4-dimetil-5-(3-nitrofenil)dihidro-2(3H)-furanona y 5-hidroxi-4,4-dimetil-5-(4-nitrofenil)dihidro-2(3H)-furanona en 40 ml de etanol a TA, y se mezclan con 8,91 g (178 mmol) de monohidrato de hidrazina. Después, se añaden 300 mg de paladio/carbono (10% en peso) y se calienta a reflujo la mezcla de reacción durante 20 horas. A continuación, se filtra en caliente a través de Celite, se lava posteriormente con etanol caliente y se concentra hasta sequedad. Se cristaliza con etanol. Se obtienen 1,09 g (34% d.t.) de una mezcla de productos con 80% de producto meta y 20% de para. Una nueva cristalización de las aguas madre proporciona 1,03 g (30% d.t.) de una mezcla de productos con 74% de producto para y 26% de meta. Se combinan ambas fracciones y se separan en una HPLC preparativa (procedimiento 12) en el producto para y meta.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 2,53$ min (para) o 2,83 min (meta).

EM (EI): $m/z = 217$ (M)⁺.

Ejemplo 7A

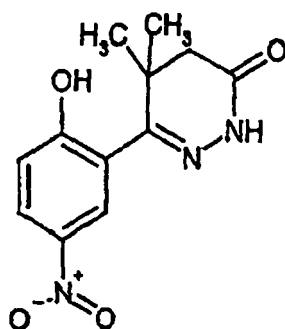
Ácido 4-(2-ciano-5-nitrofenil)-3,3-dimetil-4-oxobutanoico



20 Se realiza la preparación de ácido 4-(2-ciano-5-nitrofenil)-3,3-dimetil-4-oxobutanoico a partir de ácido 4-(2-fluoro-5-nitrofenil)-3,5-dimetil-4-oxobutanoico basándose en la bibliografía *Heterocycles* **1987**, 26, 1227 y *Synth. Commun.* **1985**, 15, 479.

Ejemplo 8A

6-(2-Hidroxi-5-nitrofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona



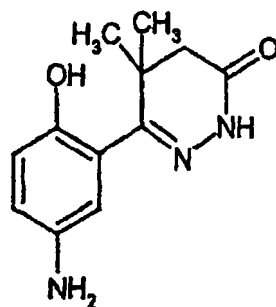
40 Se disuelven 26,00 g (94,12 mmol) de ácido 4-(2-ciano-5-nitrofenil)-3,3-dimetil-4-oxobutanoico en 400 ml de etanol y se añaden a reflujo 47,12 g (941,19 mmol) de hidrato de hidrazina. Se agita durante 5 h a ebullición y a continuación se concentra la disolución hasta 100 ml. Se mezcla el residuo con agua y se concentra el volumen a 200 ml. A continuación, se separan por filtración con succión los cristales y se lavan con agua y dietiléter. Después de secar a vacío, se obtienen 20,03 g (81% d.t.) de producto.

45 HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,50$ min.

EM (DCI/ NH_3): $m/z = 281$ ($\text{M} + \text{NH}_4$)⁺.

Ejemplo 9A

6-(5-Amino-2-hidroxifenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona



ES 2 286 499 T3

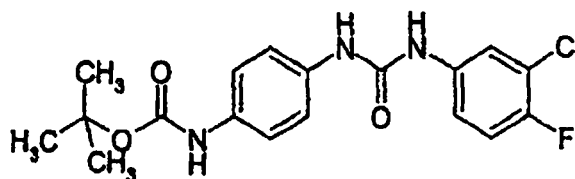
Se disuelven 3,00 g (11,40 mmol) de 6-(2-hidroxi-5-nitrofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona en 150 ml de etanol y se mezclan con 0,30 g de paladio/carbono (al 10%). Se añaden gota a gota a ebullición 5,70 g (113,96 mmol) de hidrato de hidrazina. Después de 18 h de agitación a reflujo, se elimina el disolvente y se cristaliza el residuo oleoso con dietiléter. Se agita con agua y se separan por filtración con succión los cristales. Después de lavado con dietiléter, se seca a vacío. Se obtienen 1,84 g (69% d.t.) de producto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 2,30$ min.

EM (ESI pos): $m/z = 234$ (M+H)⁺.

Ejemplo 10A

4-(((3-Cloro-4-fluorofenil)amino)carbonil)amino)fenilcarbamato de *tert*-butilo



Se añaden a TA 2,34 g (13,61 mmol) de 3-cloro-4-fluorofenilisocianato a una suspensión recubierta con argón de 2,70 g (12,96 mmol) de 4-(*tert*-butoxicarbonilamino)anilina en 50 ml de diclorometano. Precipita inmediatamente un sedimento. Posteriormente, se añaden otros 20 ml de diclorometano.

Después de un tiempo de agitación de 30 min (TLC1 ciclohexano/acetato de etilo 1:1), se separa por filtración con succión el sedimento y se lava con pentano (TLC2 ciclohexano/acetato de etilo 1:1). Se preseca el producto a 50°C en rotavapor antes de secar a alto vacío.

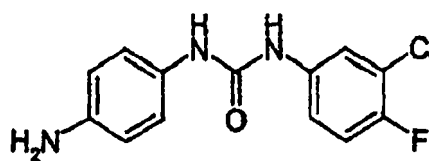
Se obtienen 4,5 g (90% d.t.) de producto.

Valor de F_r (ciclohexano/acetato de etilo 1:1): 0,42.

HPLC (procedimiento 1): $T_r = 4,43$ min.

Ejemplo 11A

N-(4-Aminofenil)-*N'*-(3-cloro-4-fluorofenil)urea



Se agita una suspensión de 4,53 g (11,93 mmol) del ejemplo 10A en 50 ml de ácido clorhídrico 4 N/dioxano durante 2 h en atmósfera de argón a TA (TLC1 diclorometano/metanol 100:5). Se separa por filtración con succión el sedimento formado, se lava con dioxano y dietiléter (TLC2 diclorometano/metanol/amoniaco 9:1:0,1). Se preseca el producto a 50°C antes de secar a alto vacío.

Se obtienen 3,5 g (cuant.) de producto.

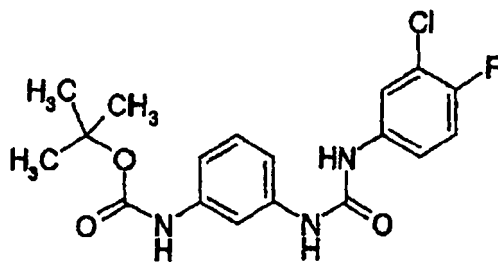
Valor de F_r (diclorometano/metanol/amoniaco 9:1:0,1): 0,59.

HPLC (procedimiento 1): $T_r = 2,56$ min.

ES 2 286 499 T3

Ejemplo 12A

3-(((3-Cloro-4-fluorofenil)amino)carbonil)amino)fenilcarbamato de *tert*-butilo



Se añaden 2,59 g (15,13 mmol) de 3-cloro-4-fluorofenilisocianato a una disolución de 3,00 g (14,41 mmol) de 3-(*tert*-butoxicarbonilamino)anilina en 50 ml de diclorometano. Después de pocos minutos, precipita un sedimento. Se agita otras 2 h a TA (TLC1 ciclohexano/acetato de etilo 1:1).

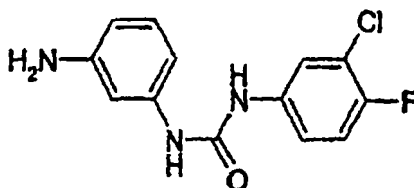
Se separa por filtración con succión el sedimento, se lava con diclorometano y diisopropiléter (TLC2 ciclohexano/acetato de etilo 1:1) y se seca a alto vacío.

Valor de F_r (ciclohexano/acetato de etilo 1:1): 0,63

HPLC (procedimiento 2): $T_r = 2,95$ min.

Ejemplo 13A

N-(3-Aminofenil)-*N'*-(3-cloro-4-fluorofenil)urea



Se agita una suspensión de 5,00 g (13,16 mmol) del ejemplo 12A en 100 ml de ácido clorhídrico 4 N/dioxano durante 17 h a TA (TLC1 diclorometano/metanol 100:5). Se separa por filtración con succión el sólido, se lava con dioxano y dietiléter (TLC2 diclorometano/metanol 100:5) y se seca a alto vacío durante 2 días.

Se obtienen 4,6 g (cuant.) de producto.

Valor de F_r (diclorometano/metanol 100:5): 0,14.

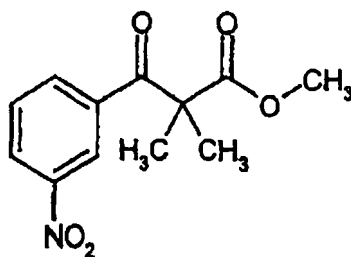
HPLC (procedimiento 1): $T_r = 3,01$ min.

Instrucciones generales de trabajo [E]

Síntesis de β -cetoésteres (instrucciones análogas a M.H. Stefaniak, F. Tinardon, J.D. Wallis, *Synlett*. 1997, 677-678).

Se disuelve en atmósfera de argón en un matraz de tres bocas calentado de 500 ml 1 equivalente del correspondiente cloruro del ácido 3-nitrobenzoico sustituido en dietiléter absoluto (disolución 0,25 M), y se mezcla con 1 equivalente de 1-metoxi-2-metil-1-trimetilsiloxipropeno (C. Ainsworth, F. Chen, Y.-N. Kuo, *J. Organomet. Chem.* 1972, 46, 59-71). Después de la adición de 1 equivalente (dado el caso 3 equivalentes) de complejo de trifluoruro de boro-dietiléter, se calienta a reflujo durante 24 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción, se lava respectivamente una vez con lejía de sosa 1 N, agua y solución saturada de sal común. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de magnesio. Después de filtración y eliminación del disolvente, se realiza la purificación en cromatografía en columna del producto en bruto (gel de sílice: ciclohexano-acetato de etilo 9:1).

Ejemplo 14A

Éster metílico del ácido 2,2-dimetil-3-(3-nitrofenil)-3-oxopropanoico

A partir de 10 g (53,9 mmol) de cloruro del ácido 3-nitrobenzoico, con 9,40 g (53,9 mmol) de 1-metoxi-2-metil-1-trimetilsiloxipropeno y 7,65 g (53,9 mmol) de complejo de trifluoruro de boro-dietiléter, se obtienen 4,93 g (25% d.t.) de producto.

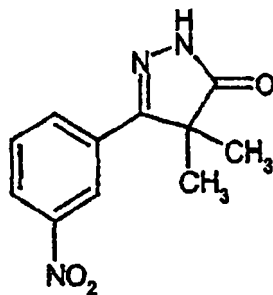
HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,49$ min.

EM (DCI): $m/z = 269$ ($M + NH_4$)⁺.

Instrucciones generales de trabajo [F]: síntesis de pirazolona

Se calienta a reflujo 1 equivalente del β -cetoéster junto con 5 equivalentes de hidrato de hidrazina en etanol (disolución 0,23 M) durante 4 horas. A este respecto, precipita el producto de reacción de la mezcla de reacción o precipita después de la eliminación de una parte del disolvente con agua y ciclohexano. Se separa por filtración con succión el sedimento, se lava con dietiléter y después se seca a vacío.

Ejemplo 15A

4,4-Dimetil-5-(3-nitrofenil)-2,4-dihidro-3H-pirazol-3-ona

A partir de 8,53 g (34 mmol) de éster metílico del ácido 2,2-dimetil-3-(3-nitrofenil)-3-oxopropanoico, con 8,50 g (170 mmol) de hidrato de hidrazina, se obtienen 6,63 g (83% d.t.) de producto.

P.f.: 164,6°C.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,99$ min.

EM (DCI): $m/z = 251$ ($M + NH_4$)⁺.

Instrucciones generales de trabajo [G]: hidrogenación catalítica del grupo nitro en anillo aromático

Se disuelven 20 mmol de la sustancia para hidrogenar en 100 ml de metanol desgasificado y después se mezclan en atmósfera de argón con 250 mg de paladio sobre carbono activo. Se hidrogena en atmósfera de hidrógeno (presión normal) hasta que el control de TLC muestra una reacción completada. Después, se separa por filtración con succión a través de tierra de diatomeas, se concentra el filtrado, se seca el residuo a vacío y se sigue procesando sin purificación adicional.

ES 2 286 499 T3

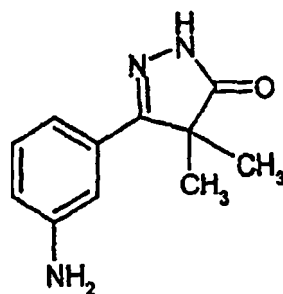
Ejemplo 16A

4,4-Dimetil-5-(3-aminofenil)-2,4-dihidro-3H-pirazol-3-ona

5

10

15



20

A partir de 4,60 g (19,2 mmol) de 4,4-dimetil-5-(3-nitrofenil)-2,4-dihidro-3H-pirazol-3-ona, se obtienen 3,66 g (91% d.t.) de producto.

HPLC (procedimiento 3): Tr= 3,04 min.

25

EM (ESIpos): m/z= 204 (M+H)⁺.

Instrucciones generales de trabajo [H]: síntesis de hidrazinocarboxamida

30

Se dispone 1 equivalente de cloruro de 2-[3-(acetilamino)benzoil]hidrazinio en diclorometano (disolución 0,15 M) y se agita junto con 2 equivalentes de diisopropietilamina y 1 equivalente del isocianato correspondiente durante 16 horas a temperatura ambiente. Se separa por filtración con succión el sedimento formado, se lava con dietiléter y se seca a vacío. Se sigue haciendo reaccionar el producto en bruto directamente después.

35

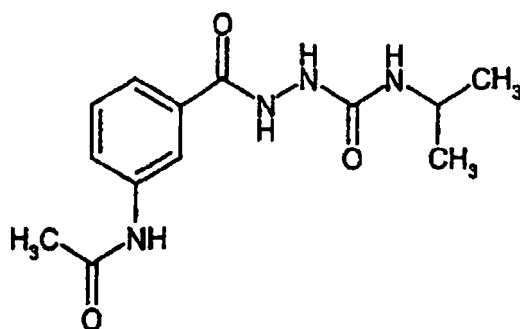
Ejemplo 17A

2-[3-(Acetilamino)benzoil]-N-isopropilhidrazinocarboxamida

40

45

50



55

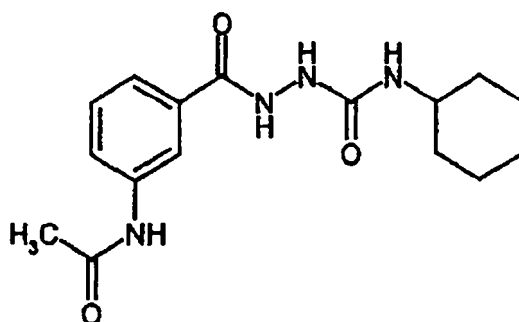
Se hacen reaccionar 7,00 g (30,48 mmol) de cloruro de 2-[3-(acetilamino)benzoil]hidrazinio con 7,88 g (60,96 mmol) de diisopropietilamina y 2,59 g (30,48 mmol) de isopropilisocianato. Se sigue haciendo reaccionar el producto en bruto directamente después.

HPLC (procedimiento 3): T_r= 2,95 min.

60

65

Ejemplo 18A

2-[3-(Acetilamino)benzoil]-N-ciclohexilhidrazinocarboxamida

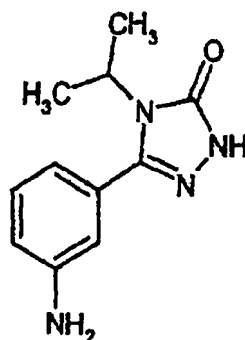
20 Se hacen reaccionar 7,00 g (30,48 mmol) de cloruro de 2-[3-(acetilamino)benzoil]hidrazinio con 7,88 g (60,96 mmol) de diisopropiletilamina y 3,82 g (30,48 mmol) de ciclohexilisocianato. Se sigue haciendo reaccionar el producto en bruto directamente después.

25 HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,46$ min.

Instrucciones generales de trabajo [I]: síntesis de 3-aminotriazolonas

30 Se disuelve 1 equivalente de la hidrazinocarboxamida correspondiente en lejía de sosa 1 N (disolución 0,16 M) y se mezcla con 6,15 equivalentes de hidróxido de sodio. Se deja agitar durante 48 horas a 100°C. Se ajusta la disolución de reacción a pH 7 con ácido clorhídrico, se separa por filtración con succión el sedimento, se lava con agua y se seca a vacío.

Ejemplo 19A

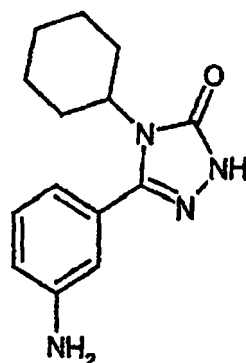
5-(3-Aminofenil)-4-isopropil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona

55 A partir de 6,06 g (32,55 mmol) de 2-[3-(acetilamino)benzoil]-N-isopropilhidrazinocarboxamida (bruto) y 8,00 g (200,02 mmol) de hidróxido de sodio en 200 ml de lejía de sosa 1 N, se obtienen 2,81 g (40% d.t.) de producto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 2,76$ min.

Ejemplo 20A

5-(3-Aminofenil)-4-ciclohexil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona



A partir de 7,43 g (32,55 mmol) de 2-[3-(acetilamino)benzoil]-N-ciclohexilhidrazinocarboxamida (bruta) y 8,00 g (200,02 mmol) de hidróxido de sodio en 200 ml de lejía de sosa 1 N, se obtienen 5,59 g (66% d.t.) de producto.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 3,31$ min.

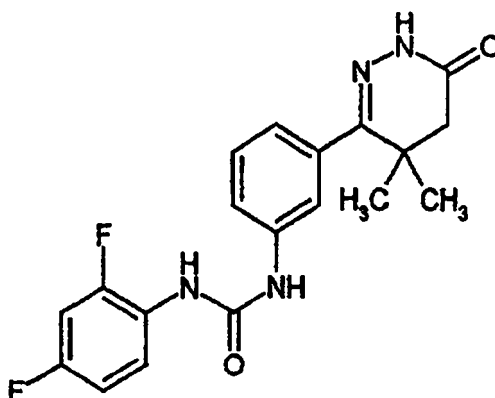
Descripción de la figura

Fig. 1: La Fig. 1 muestra la secuencia de aminoácidos de la proteína UL86 de HCMV de tipo silvestre (nº acceso P16729, SEC ID Nº 1).

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

N-(2,4-Difluorofenil)-N'-[3-(4,4-dimetil-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-3-piridazinil)-fenil]urea



Se mezclan 50 mg (0,23 mmol) de 6-(3-aminofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona con 2 ml de THF abs. a temperatura ambiente, y a continuación se añaden 71,4 mg (0,46 mmol) de 2,4-difluorofenilisocianato. Al inicio, no se disuelve totalmente la 6-(3-aminofenil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-3(2H)-piridazinona. Sólo después de la adición del isocianato, se obtiene después de un breve tiempo una disolución amarilla clara, de la que sin embargo precipita rápidamente un sedimento blanco. Se deja agitar durante toda la noche y se separa por filtración después el sedimento. Se lava posteriormente con dietiléter y se seca el sólido blanco a vacío. Se obtienen 46,4 mg (54% d.t.) de producto.

P.f.: 213°C.

RMN-¹H (200 MHz, DMSO): $\delta = 1,16$ (s, 6H), 2,35 (s, 2H), 6,97-7,11 (m, 2H), 7,25-7,39 (m, 3H), 7,65 (s, 1H), 7,99-8,17 (m, 1H), 8,50 (s a, 1H), 9,12 (s a, 1H), 10,99 (s, 1H).

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,12$ min.

EM (ESIpos): $m/z = 373$ (M+H)⁺.

ES 2 286 499 T3

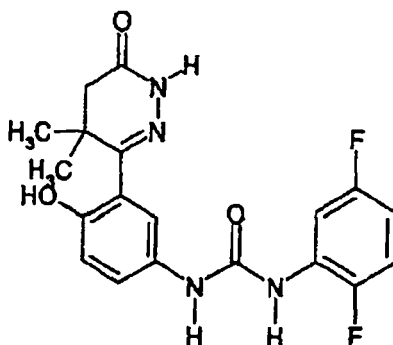
Ejemplo 2

N-(2,5-Difluorofenil)-*N'*-[3-(4,4-dimetil-6-oxo-1,4,5,6-tetrahidro-3-piridazinil)-4-hidroxifenil]urea

5

10

15



Se realiza la síntesis análogamente al ejemplo 1 a partir de los correspondientes reactantes.

20

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,00$ min.

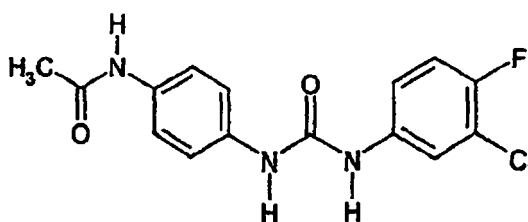
EM (ESIpos): $m/z = 389$ (M+H)⁺.

25 Ejemplo 3

N-[4-({[3-Cloro-4-fluorofenil]amino]carbonil]amino)fenil]acetamida

30

35



El compuesto es adquirible comercialmente en la compañía Salor (Deisenhofen, Alemania, n° art. S90.580-1).

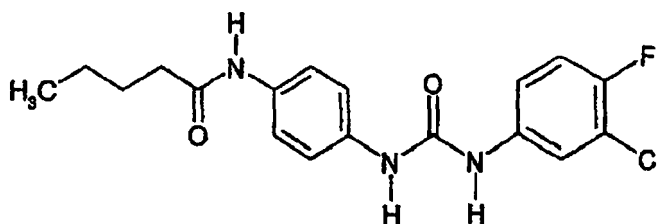
40

Ejemplo 4

N-[4-({[3-Cloro-4-fluorofenil]amino]carbonil]amino)fenil]pentanamida

45

50



Se añaden 70,7 mg (0,894 mmol) de piridina y 64,7 mg (0,536 mmol) de cloruro de pentanoílo a una disolución de 100,0 mg (0,358 mmol) del ejemplo 11A en 5 ml de DMF. Se agita durante 18 h a TA. Después de la adición de agua, precipita un sedimento blanco, que se separa por filtración con succión y se lava con agua y pentano. Se seca el producto a alto vacío. Se obtienen 62 mg (80% d.t.) de producto.

55

F_r (ciclohexano/acetato de etilo 1:3) = 0,44.

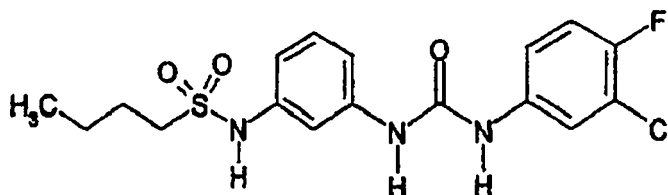
60

HPLC (procedimiento 2): $T_r = 2,61$ min.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 9,72$ (s, 1H, NH), 8,79 (s, 1H, NH), 8,62 (s, 1H, NH), 7,83-7,74 (m, 1H, C₆H₃ClF), 7,55-7,32 (m, 4H, p-C₆H₄), 7,32-7,25 (m, 2H, C₆H₃ClF), 2,27 (t, 2H, CH₂), 1,58 (c, 2H, CH₂), 1,32 (sext., 2H, CH₂), 0,90 (t, 3H, CH₃).

65

Ejemplo 5

N-[3-({(3-Cloro-4-fluorofenil)amino}carbonil)amino]fenil]-1-butano-sulfonamida

Se añaden 169,7 mg (2,145 mmol) de piridina y 168,0 mg (1,073 mmol) de cloruro de 1-butanosulfonilo a una disolución de 200,0 mg (0,715 mmol) del ejemplo 13A en una mezcla de 2 ml de DMF y 5 ml de THF. Se agita durante toda la noche a TA. Después de la adición de agua, no precipita ningún sedimento. Se concentra la mezcla a vacío. Se purifica el producto mediante HPLC (columna RP18; fase móvil: acetonitrilo-agua, gradiente 15:85→85:15). Se obtienen 51 mg (18% d.t.) de producto.

F_r (ciclohexano/acetato de etilo 1:2): 0,51.

HPLC (procedimiento 1): T_r = 4,28 min.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 9,74 (s, 1H, NH), 8,85 (s, 1H, NH), 8,78 (s, 1H, NH), 7,83-7,76 (m, 1H, C₆H₃ClF), 7,38-7,27 (m, 3H, m-C₆H₄, C₆H₃ClF), 7,24-7,18 (m, 2H, m-C₆H₄), 6,87-6,78 (m, 1H, m-C₆H₄), 3,08 (t, 2H, CH₂), 1,65 (c, 2H, CH₂), 1,35 (sext., 2H, CH₂), 0,83 (t, 3H, CH₃).

Instrucciones generales de trabajo [J]: ureas

Se dispone 1 equivalente de anilina en THF (disolución 0,14 M) y se mezcla con 1 equivalente del isocianato correspondiente. Se agita la disolución durante 1 h a temperatura ambiente.

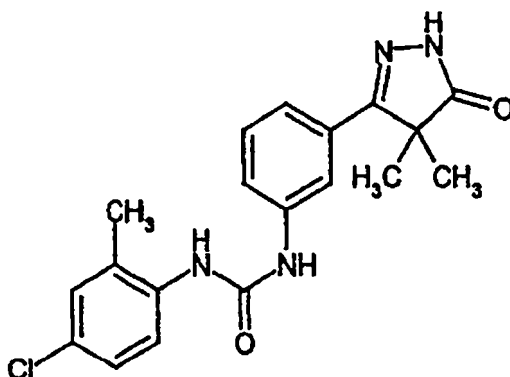
Se separa el disolvente a vacío y se purifica el producto mediante HPLC preparativa (CromSil C18, 250 x 30, flujo: 50 ml/min, tiempo de recorrido: 38 min, detección a 210 nm, gradiente: acetonitrilo al 10% (3 min) → acetonitrilo al 90% (31 min) → acetonitrilo al 90% (34 min) → acetonitrilo al 10% (34,01 min)).

Los ejemplos 6 y 7 pueden prepararse según el procedimiento de síntesis general [J].

Ejempl o	Estructura	Peso molecu -lar	EM (ESI+) m/z	HPL C T_r (min)	Procedimien -to de HPLC
6		389,82	390	4,25	3
7		429,88	430	4,61	3

Ejemplo 8

N-(4-Cloro-2-metilfenil)-*N'*-[3-(4,4-dimetil-5-oxo-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-il)fenil]urea



Se mezclan 46,2 mg (0,28 mmol) de 4-cloro-2-metilfenilisocianato con una disolución de 40 mg de 5-(3-amino-fenil)-4,4-dimetil-2,4-dihidro-3*H*-pirazol-3-ona en 1 ml de acetato de etilo y 0,2 ml de tetrahidrofurano, y se agita durante toda la noche a temperatura ambiente. A este respecto, se observa la formación de un sedimento blanco.

Procesamiento: Se concentra la mezcla de reacción y se purifica el residuo obtenido después de recogida en DMSO mediante HPLC-FI. Así se obtienen 42 mg (58% d.t.) de producto.

P.f.: 226,8°C.

HPLC (procedimiento 3): $T_r = 4,33$ min.

EM (ESIpos): $m/z = 371$ (M+H)⁺.

RMN-¹H (200 MHz, DMSO): $\delta = 1,37$ (s, 6H), 2,25 (s, 3H), 7,21 (dd, 1H), 7,28 (d, 1H), 7,35-7,46 (m, 3H), 7,88 (d, 1H), 8,02 (s a, 1H), 8,11 (s a, 1H), 9,23 (s a, 1H), 11,54 (s a, 1H).

B. Evaluación de la actividad fisiológica

Puede mostrarse el efecto *in vitro* de los compuestos según la invención en el siguiente ensayo.

Cultivo de virus

Se cultivan citomegalovirus humano (HCMV), cepa DavisSmith (ATCC VR807) o AD169 (ATCC VR538) *in vitro* en fibroblastos de prepucio embrionarios humanos (células NHDF). Después de la infección de las células NHDF con una multiplicidad de la infección (MOI) de 0,01, se recogen las células infectadas con virus 5-10 días más tarde y se mantienen en presencia de medio esencial mínimo (MEM), 10% de suero fetal bovino (SFB) con 10% de DMSO a -80°C. Para la preparación de una disolución madre libre de células, se toma sólo el sobrenadante del cultivo celular y se congela directamente a -80°C. Después de dilución en serie de las células infectadas por virus o del sobrenadante del cultivo celular (virus libre de células) en etapas de diez, se realiza la determinación de la titulación en placas de 24 pocillos de células NHDF confluentes después de tinción *in vivo* con rojo neutro.

Ensayo de citopatogenicidad anti-HCMV (anti-citomegalovirus humano)

Se utilizan los compuestos de ensayo en forma de disoluciones 50 milimolar (mM) en dimetilsulfóxido (DMSO). Ganciclovir®, Foscarnet® y Cidofovir® sirven como compuestos de referencia. Después de la adición de respectivamente 2 μ l de disoluciones madre 50, 5, 0,5 y 0,05 mM en DMSO cada uno a 98 μ l de medio de cultivo celular en la fila 2 A-H en determinación por duplicado, se llevan a cabo diluciones 1:2 con 50 μ l de medio cada vez hasta la fila 11 de la placa de 96 pocillos. Los pocillos en las filas 1 y 12 contienen cada uno 50 μ l de medio. Se pipetea después a las placas 150 μ l cada vez de una suspensión de 1×10^4 células (fibroblastos de prepucio humano [NHDF]) (fila 1= control celular) o a las filas 2-12 una mezcla de células NHDF infectadas con HCMV y no infectadas (MOI= 0,001 -0,002), es decir, 1-2 células infectadas por 1.000 células no infectadas. La fila 12 (sin sustancia) sirve como control vírico. Las concentraciones de ensayo finales se encuentran a 250-0,0005 μ M. Se incuban las placas durante 6 días a 37°C/5% de CO₂, es decir, hasta que todas las células en los controles víricos están infectadas (100% de efecto citopatogénico [ECP]). Se fijan y colorean después las células mediante la adición de una mezcla de formalina y colorante Giemsa (30 minutos), se lavan con agua bidestilada y se secan en estufa de secado a 50°C. Después, se examinan visualmente las placas con un microscopio suspendido (multiplicador de placa de la compañía Technomara). Resultaron para las sustancias según la invención los valores de CI₅₀ indicados en la Tabla 1.

ES 2 286 499 T3

TABLA 1

Actividad antiviral in vitro

Ejemplo	CI ₅₀ (μM)	IS
1	1	125
2	0,4	325
3	0,5	40
4	0,08	750
5	0,14	70
6	0,4	150
7	1,5	30
8	0,6	30

25 Selección y análisis de mutantes resistentes

Para ello, se siembran células NHDF en recipientes de cultivo de tejido. Se siembran 5×10^3 células por pocillo en placas de 96 pocillos y se infectan con HCMV AD169 libre de células con una MOI de 0,03. Se cultivan las infecciones bajo una presión de sustancia que corresponde a 10 veces el valor de CI₅₀ de la sustancia. Preferiblemente, se preparan 30-100 placas de 96 pocillos inoculadas como se ha descrito. Se vuelven a analizar los pocillos que presentan un efecto citopático (ECP) comparable con una infección vírica sin presión de sustancia, es decir, se pasa el contenido de los pocillos que contienen virus (células y sobrenadante celular) a cultivos celulares recientes y se sigue cultivando bajo presión de sustancia. Finalmente, se preparan disoluciones madre de virus como se describen anteriormente y se congelan. Después de dilución en serie de las células infectadas con virus o los sobrenadantes celulares de las células infectadas con virus en etapas de diez, se realiza la determinación de la titulación en placas de 24 pocillos de células NHDF confluentes después de tinción *in vivo* con rojo neutro. Finalmente, se realiza la determinación de la sensibilidad frente a diversas sustancias (determinación del valor de CI₅₀) como se describe anteriormente.

40 Determinación de la secuencia de UL86

Se cultivan *in vitro* los mutantes de HCMV AD169 seleccionados como se describe anteriormente en fibroblastos de prepucio embrionarios humanos (células NHDF) bajo presión de sustancia ($10 \times$ CI₅₀ de HCMV AD169). Después de la infección de las células NHDF con una multiplicidad de la infección (MOI) de 0,01, se recogen las células infectadas con virus 5-10 días más tarde y se realiza un aislamiento del ADN total de estas células con ayuda de procedimientos estándar establecidos (por ejemplo, extracción con fenol y precipitación con etanol). Los servicios de secuenciación de Qiagen (Qiagen, Hilden) determinaron, después de la amplificación del gen UL86 vírico mediante PCR la secuencia de ADN, que después se reescribió en secuencia proteica. En comparación con la cepa de partida HCMV AD169, podían detectarse en los virus resistentes las desviaciones representadas en la Tabla 2 en la secuencia proteica de la proteína de cápside principal (UL86). Se dan igualmente los valores de CI₅₀ (μM) de diversas sustancias en estos mutantes en comparación con la cepa de partida (n.d.= no medido). Las sustancias con acción sobre UL86 muestran en los mutantes de UL86 una actividad fuertemente reducida, mientras que el inhibidor de la replicación de ADN ganciclovir es activo como control sin cambios. Según el tipo de sustancia, determinadas mutaciones conducen a una distinta resistencia fuertemente marcada. Los casos en que pudo detectarse un valor elevado de CI₅₀ > 10 x, se representan en negrita y subrayados.

Puede analizarse la idoneidad de los compuestos según la invención para el tratamiento de infecciones por HCMV en el siguiente modelo animal:

ES 2 286 499 T3

TABLA 2

Cepas de HCMV con mutaciones en UL86 y su sensibilidad frente a diversos inhibidores de UL86 de HCMV en comparación con HCMV-AD169 de tipo silvestre

CI50 (μ M)	Clon AD169 de HCMV con mutación en UL86												
	Tipo silvestre	R435C	D441N	D563N	P596T	V601M	R682H	A685T	P1189T	Q1223R	A1226T	E1320Q	K1338N
Ganciclovir	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	1	1,5	20	>125	4	20	20	8	>125	20	>125	>125	>125
2	0,4	0,5	1,5	5	2	3	5	1	>125	5	>125	15	>125
3	0,5	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20	>20
4	0,08	>20	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	0,2	2	>60
5	0,14	5	n.d.	1,4	0,8	1,8	n.d.	0,4	n.d.	1,4	n.d.	2	>2
7	1,5	3	n.d.	1,5	7,8	12	n.d.	4,5	n.d.	12	n.d.	24	1,5
8	0,5	1,3	n.d.	>21	>21	>21	n.d.	>21	n.d.	>21	n.d.	>21	>21

Modelo de xenoinjerto Gelfoam[®] de HCMV

Animales

Se adquieren ratones hembra inmunodeficientes de 3-4 semanas (16-18 g) Fox Chase SCID o Fox Chase SCID-NOD o SCID-beis de criadores comerciales (Bomholtgaard, Jackson, EE.UU.). Se mantienen los animales en condiciones estériles (incluyendo paja y pienso) en aisladores.

Preparación de las esponjas, trasplante, tratamiento y examen

Se humedecen esponjas de colágeno de 1 x 1 x 1 cm de tamaño (Gelfoam[®], compañía Peasel & Lorey, n° art. 407534; K.T. Chong y col., "Abstracts of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy", 1999, pág. 439) en primer lugar con disolución salina tamponada con fosfato (PBS), se eliminan las burbujas de aire incluidas mediante desgasificación y después se mantienen en MEM + 10% de SFB. Se retiran 1×10^6 células NHDF infectadas con virus (infección con HCMV-Davis o HCMV AD169, MOI= 0,03) 3 horas después de la infección y se añaden gota a gota en 20 μ l de MEM, 10% de FBS sobre una esponja húmeda. 12-13 horas más tarde, se incuban las esponjas infectadas con 25 μ l de PBS/0,1% de BSA/DTT 1 mM con factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) 5 ng/ μ l. Para el trasplante, se anestesian los ratones inmunodeficientes con avertina o con una mezcla de ketamina/xilazina/azepromazina, se elimina el pelaje dorsal con ayuda de una maquinilla, se abre la epidermis 1-2 cm, se vacía y se trasplantan las esponjas húmedas bajo la piel dorsal. Se cierra la herida quirúrgica con adhesivo de tejido. 6 horas después del trasplante, se tratan los ratones por primera vez (el día de la operación se tratan una vez). Los días siguientes, se tratan durante un intervalo de tiempo de 8 días tres veces al día (a las 07:00 y 14:00 y 19:00), dos veces al día (a las 08:00 y 18:00) o una vez al día (a las 14:00) por vía oral con sustancia. La dosis diaria asciende a 3 ó 10 ó 30 ó 60 ó 100 mg/kg de peso corporal, el volumen de administración a 10 ml/kg de peso corporal. Se realiza la formulación de las sustancias en forma de una suspensión de tilosa al 0,5% con 2% de DMSO o en una suspensión de tilosa al 0,5%. 9 días después del trasplante y 16 horas después de la última administración de sustancia, se sacrifican indoloramente los animales y se extraen las esponjas. Se liberan las células infectadas con virus de la esponja mediante digestión con collagenasa (330 U/1,5 ml) y se mantienen en presencia de MEM, 10% de suero fetal bovino, 10% de DMSO a -140°C. Se realiza el examen después de dilución en serie de las células infectadas con virus en etapas de diez mediante determinación de la titulación en placas de 24 pocillos de células NHDF confluentes después de coloración *in vivo* con rojo neutro. Se calcula el número de partículas víricas infecciosas después de tratamiento con sustancia en comparación con el grupo de control tratado con placebo. Para las sustancias según la invención, resultan los resultados aproximados indicados en la Tabla 3.

TABLA 3

Actividad antiviral in vivo

Ejemplo	DE ₅₀ (mg/kg/día)
1	50
2	45
4	70

ES 2 286 499 T3

C. Ejemplos de realización para composiciones farmacéuticas

Los compuestos según la invención pueden transformarse del modo siguiente en preparados farmacéuticos:

5 *Comprimidos*

Composición

10 100 mg del compuesto del ejemplo 1, 50 mg de lactosa (monohidratada), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirrolidona (PVP 25) (compañía BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

Peso de comprimidos: 212 mg, diámetro: 8 mm. Radio de curvatura: 12 mm.

Preparación

15 Se granula la mezcla de principio activo, lactosa y almidón con una disolución del PVP al 5% (m/m) en agua. Se mezclan los gránulos después del secado con el estearato de magnesio durante 5 min. Se comprime esta mezcla con una prensa de comprimidos habitual (véase anteriormente el formato del comprimido). Como valor de referencia para la compresión se usa una fuerza de compresión de 15 kN.

20 *Suspensión administrable por vía oral*

Composición

25 1.000 mg del compuesto del ejemplo 1, 1.000 mg de etanol (al 96%), 400 mg de Rhodigel (goma xantana de la compañía FMC, Pensilvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

Una dosis única de 100 mg del compuesto según la invención corresponde a 10 ml de suspensión oral.

Preparación

30 Se suspende el Rhodigel en etanol, se añade el principio activo a la suspensión. Se realiza la adición del agua con agitación. Se agita hasta la terminación del hinchamiento del Rhodigel, aprox. 6 h.

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la selección de compuestos con actividad anti-herpesvirus, **caracterizado** porque

5

i) se ponen en contacto herpesvirus con compuestos de ensayo,

ii) se escogen herpesvirus resistentes,

10

iii) se secuencian el gen que codifica la proteína de cápside principal de estos herpesvirus resistentes y se deriva la secuencia de proteína resultante de la proteína de cápside principal, y

iv) se seleccionan aquellos compuestos en los que aparecen herpesvirus resistentes con una o varias sustituciones aminoacídicas en la proteína de cápside principal.

15

2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el herpesvirus es un citomegalovirus humano (HCMV).

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Fig. 1:

MENWSALELLPKVGIPTDFLTHVKTSAGEEMFEALRIYYGDDPERYNI
 HFEAIFGTFCNRLEWVYFLTSGLAAAAHAIKFHDLNKLTTGKMLFHVQ
 VPRVASGAGLPTSROTTIMVTKYSEKSPITIPFELSAACLTYLRETFE
 GTILDKILNVEAMHTVLRALKNTADAMERGLIHSFLQTLRLKAPPYFV
 VQTLVENATLARQALNRIQRSNILQSFKAKMLATLFLNLRTRDRDYVL
 KFLTRLAEAATDSILDNPPTYTTSSGAKISGVMVSTANVMQIIMSLLS
 SHITKETVSAPATYGNFVLSPENAVTAISYHSILADFNSYKAHLTSGQ
 PHLPNDSLSQAGAHSLTPLSMDVIRLGEKTVIMENLRRVYKNTDTKDP
 LERNVDLTFPPVGLYLPEDRGYTTVESKVKLNDRNALPTTAYLLN
 RDRAVQKIDFVDALKTLCHPVLHEPAPCLQTFTERGPPSEPAMQRLLE
 CRFQQEPMGGAARRIPHFYRVRREVPRTVNEMKQDFVVTDFYKVGNI
 LYTELHPFFDFTHCQENSETVALCTPRIVIGNLPDGLAPGPFHELRTW
 EIMEHMRLRPPPDYEETLRLFKTTVTSNPYPELCYLVVDLVHGNVDAF
 LLIRTFVARCIVNMFHTRQLLVFAHSYALVTLIAEHLADGALPPQLLF
 HYRNLVAVLRLVTRI SALPGLNNGQLAEEPLSAYVNALHDHRLWPPFV
 THLPRNMEGVQVVADRQPLNPANIEARHHGVSDVPRLGAMDADEPLFV
 DDYRATDDEWTLQKVFYLCMPAMTNNRACGLGLNLKTLVDFYRPA
 FLLMPAATAVSTSGTTSKESTSGVTPEDSIAAQRQAVGEMLTTELVEDV
 ATDAHTPLLQACRELFLAVQFVGEHVKVLEVRAPLDHAQRQGLPDFIS
 RQHVLYNGCCVVTAPKTLIEYSLPVPFHRFYSNPTICAALSDDIKRYV
 TEFPHYHRHDGGFPLPTAFAHEYHNWLRSPFSRYSATCPNVLHSMVTL
 AAMLYKISPVSLVLQTKAHIHPGFALTAVRTDTFEVDMLLYSGKSCTS
 VIINNPIVTKEERDISTTYHVTQNINTVDMGLGYTSNTCVAYVNRVRT
 DMGVRVQDLFRVFPNMVYRHDEVDRWIRHAAGVERPQLLDTETISMLT
 FGSMSERNAAATVHGQKAACELILTPTMDVNYFKIPNNPRGRASCML
 AVDPYDTEAATKAIYDHREADAQTFAATHNPWASQAGCLSDVLYNTRH
 RERLGYNSKFYSPCAQYFNTEEIIAANKTLFKTIDEYLLRAKDCIRGD
 TDTQYVCVEGTEQLIENPCRLTQEALPILSTTTLALMETKLKGGAGAF
 ATSETHFGNYVVGEIIPLOQSMFLNS

ES 2 286 499 T3

LISTA DE SECUENCIAS

<110> Bayer AG, BHC

<120> Procedimiento para la inhibición de la replicación de herpesvirus

<130> Le A 36 269

<160> 1

<170> PatentIn versión 3.1

<210> 1

<211> 1370

<212> PRT

<213> Citomegalovirus humano

<400> 1

```

Met Glu Asn Trp Ser Ala Leu Glu Leu Leu Pro Lys Val Gly Ile Pro
1           5           10           15
Thr Asp Phe Leu Thr His Val Lys Thr Ser Ala Gly Glu Glu Met Phe
           20           25           30
Glu Ala Leu Arg Ile Tyr Tyr Gly Asp Asp Pro Glu Arg Tyr Asn Ile
           35           40           45
His Phe Glu Ala Ile Phe Gly Thr Phe Cys Asn Arg Leu Glu Trp Val
           50           55           60
Tyr Phe Leu Thr Ser Gly Leu Ala Ala Ala His Ala Ile Lys Phe
65           70           75           80
His Asp Leu Asn Lys Leu Thr Thr Gly Lys Met Leu Phe His Val Gln
           85           90           95
Val Pro Arg Val Ala Ser Gly Ala Gly Leu Pro Thr Ser Arg Gln Thr
           100          105          110
Thr Ile Met Val Thr Lys Tyr Ser Glu Lys Ser Pro Ile Thr Ile Pro
           115          120          125
Phe Glu Leu Ser Ala Ala Cys Leu Thr Tyr Leu Arg Glu Thr Phe Glu
           130          135          140
Gly Thr Ile Leu Asp Lys Ile Leu Asn Val Glu Ala Met His Thr Val
45          145          150          155          160
Leu Arg Ala Leu Lys Asn Thr Ala Asp Ala Met Glu Arg Gly Leu Ile
           165          170          175
His Ser Phe Leu Gln Thr Leu Leu Arg Lys Ala Pro Pro Tyr Phe Val
50           180          185          190
val Gln Thr Leu Val Glu Asn Ala Thr Leu Ala Arg Gln Ala Leu Asn
           195          200          205
Arg Ile Gln Arg Ser Asn Ile Leu Gln Ser Phe Lys Ala Lys Met Leu
55          210          215          220

```

ES 2 286 499 T3

Ala Thr Leu Phe Leu Leu Asn Arg Thr Arg Asp Arg Asp Tyr Val Leu
 225 230 235 240
 Lys Phe Leu Thr Arg Leu Ala Glu Ala Ala Thr Asp Ser Ile Leu Asp
 5 245 250 255
 Asn Pro Thr Thr Tyr Thr Thr Ser Ser Gly Ala Lys Ile Ser Gly Val
 260 265 270
 Met Val Ser Thr Ala Asn Val Met Gln Ile Ile Met Ser Leu Leu Ser
 10 275 280 285
 Ser His Ile Thr Lys Glu Thr Val Ser Ala Pro Ala Thr Tyr Gly Asn
 15 290 295 300
 Phe Val Leu Ser Pro Glu Asn Ala Val Thr Ala Ile Ser Tyr His Ser
 305 310 315 320
 Ile Leu Ala Asp Phe Asn Ser Tyr Lys Ala His Leu Thr Ser Gly Gln
 20 325 330 335
 Pro His Leu Pro Asn Asp Ser Leu Ser Gln Ala Gly Ala His Ser Leu
 340 345 350
 Thr Pro Leu Ser Met Asp Val Ile Arg Leu Gly Glu Lys Thr Val Ile
 25 355 360 365
 Met Glu Asn Leu Arg Arg Val Tyr Lys Asn Thr Asp Thr Lys Asp Pro
 370 375 380
 Leu Glu Arg Asn Val Asp Leu Thr Phe Phe Phe Pro Val Gly Leu Tyr
 30 385 390 395 400
 Leu Pro Glu Asp Arg Gly Tyr Thr Thr Val Glu Ser Lys Val Lys Leu
 405 410 415
 Asn Asp Thr Val Arg Asn Ala Leu Pro Thr Thr Ala Tyr Leu Leu Asn
 35 420 425 430
 Arg Asp Arg Ala Val Gln Lys Ile Asp Phe Val Asp Ala Leu Lys Thr
 435 440 445
 Leu Cys His Pro Val Leu His Glu Pro Ala Pro Cys Leu Gln Thr Phe
 40 450 455 460
 Thr Glu Arg Gly Pro Pro Ser Glu Pro Ala Met Gln Arg Leu Leu Glu
 465 470 475 480
 Cys Arg Phe Gln Gln Glu Pro Met Gly Gly Ala Ala Arg Arg Ile Pro
 45 485 490 495
 His Phe Tyr Arg Val Arg Arg Glu Val Pro Arg Thr Val Asn Glu Met
 500 505 510
 Lys Gln Asp Phe Val Val Thr Asp Phe Tyr Lys Val Gly Asn Ile Thr
 515 520 525
 Leu Tyr Thr Glu Leu His Pro Phe Phe Asp Phe Thr His Cys Gln Glu
 530 535 540
 Asn Ser Glu Thr Val Ala Leu Cys Thr Pro Arg Ile Val Ile Gly Asn
 545 550 555 560
 Leu Pro Asp Gly Leu Ala Pro Gly Pro Phe His Glu Leu Arg Thr Trp
 565 570 575
 Glu Ile Met Glu His Met Arg Leu Arg Pro Pro Pro Asp Tyr Glu Glu
 580 585 590

65

ES 2 286 499 T3

Thr Leu Arg Leu Phe Lys Thr Thr Val Thr Ser Pro Asn Tyr Pro Glu
 595 500 605
 Leu Cys Tyr Leu Val Asp Val Leu Val His Gly Asn Val Asp Ala Phe
 610 615 620
 Leu Leu Ile Arg Thr Phe Val Ala Arg Cys Ile Val Asn Met Phe His
 625 630 635 640
 Thr Arg Gln Leu Leu Val Phe Ala His Ser Tyr Ala Leu Val Thr Leu
 645 650 655
 Ile Ala Glu His Leu Ala Asp Gly Ala Leu Pro Pro Gln Leu Leu Phe
 660 665 670
 His Tyr Arg Asn Leu Val Ala Val Leu Arg Leu Val Thr Arg Ile Ser
 675 680 685
 Ala Leu Pro Gly Leu Asn Asn Gly Gln Leu Ala Glu Glu Pro Leu Ser
 690 695 700
 Ala Tyr Val Asn Ala Leu His Asp His Arg Leu Trp Pro Pro Phe Val
 705 710 715 720
 Thr His Leu Pro Arg Asn Met Glu Gly Val Gln Val Val Ala Asp Arg
 725 730 735
 Gln Pro Leu Asn Pro Ala Asn Ile Glu Ala Arg His His Gly Val Ser
 740 745 750
 Asp Val Pro Arg Leu Gly Ala Met Asp Ala Asp Glu Pro Leu Phe Val
 755 760 765
 Asp Asp Tyr Arg Ala Thr Asp Asp Glu Trp Thr Leu Gln Lys Val Phe
 770 775 780
 Tyr Leu Cys Leu Met Pro Ala Met Thr Asn Asn Arg Ala Cys Gly Leu
 785 790 795 800
 Gly Leu Asn Leu Lys Thr Leu Leu Val Asp Leu Phe Tyr Arg Pro Ala
 805 810 815
 Phe Leu Leu Met Pro Ala Ala Thr Ala Val Ser Thr Ser Gly Thr Thr
 820 825 830
 Ser Lys Glu Ser Thr Ser Gly Val Thr Pro Glu Asp Ser Ile Ala Ala
 835 840 845
 Gln Arg Gln Ala Val Gly Glu Met Leu Thr Glu Leu Val Glu Asp Val
 850 855 860
 Ala Thr Asp Ala His Thr Pro Leu Leu Gln Ala Cys Arg Glu Leu Phe
 865 870 875 880
 Leu Ala Val Gln Phe Val Gly Glu His Val Lys Val Leu Glu Val Arg
 885 890 895
 Ala Pro Leu Asp His Ala Gln Arg Gln Gly Leu Pro Asp Phe Ile Ser
 900 905 910
 Arg Gln His Val Leu Tyr Asn Gly Cys Cys Val Val Thr Ala Pro Lys
 915 920 925
 Thr Leu Ile Glu Tyr Ser Leu Pro Val Pro Phe His Arg Phe Tyr Ser
 930 935 940
 Asn Pro Thr Ile Cys Ala Ala Leu Ser Asp Asp Ile Lys Arg Tyr Val
 945 950 955 960

ES 2 286 499 T3

Thr Glu Phe Pro His Tyr His Arg His Asp Gly Gly Phe Pro Leu Pro
 965 970 975
 5 Thr Ala Phe Ala His Glu Tyr His Asn Trp Leu Arg Ser Pro Phe Ser
 980 985 990
 Arg Tyr Ser Ala Thr Cys Pro Asn Val Leu His Ser Val Met Thr Leu
 995 1000 1005
 10 Ala Ala Met Leu Tyr Lys Ile Ser Pro Val Ser Leu Val Leu Gln
 1010 1015 1020
 Thr Lys Ala His Ile His Pro Gly Phe Ala Leu Thr Ala Val Arg
 1025 1030 1035
 15 Thr Asp Thr Phe Glu Val Asp Met Leu Leu Tyr Ser Gly Lys Ser
 1040 1045 1050
 Cys Thr Ser Val Ile Ile Asn Asn Pro Ile Val Thr Lys Glu Glu
 1055 1060 1065
 20 Arg Asp Ile Ser Thr Thr Tyr His Val Thr Gln Asn Ile Asn Thr
 1070 1075 1080
 Val Asp Met Gly Leu Gly Tyr Thr Ser Asn Thr Cys Val Ala Tyr
 1085 1090 1095
 25 Val Asn Arg Val Arg Thr Asp Met Gly Val Arg Val Gln Asp Leu
 1100 1105 1110
 Phe Arg Val Phe Pro Met Asn Val Tyr Arg His Asp Glu Val Asp
 1115 1120 1125
 30 Arg Trp Ile Arg His Ala Ala Gly Val Glu Arg Pro Gln Leu Leu
 1130 1135 1140
 Asp Thr Glu Thr Ile Ser Met Leu Thr Phe Gly Ser Met Ser Glu
 1145 1150 1155
 35 Arg Asn Ala Ala Ala Thr Val His Gly Gln Lys Ala Ala Cys Glu
 1160 1165 1170
 40 Leu Ile Leu Thr Pro Val Thr Met Asp Val Asn Tyr Phe Lys Ile
 1175 1180 1185
 Pro Asn Asn Pro Arg Gly Arg Ala Ser Cys Met Leu Ala Val Asp
 1190 1195 1200
 45 Pro Tyr Asp Thr Glu Ala Ala Thr Lys Ala Ile Tyr Asp His Arg
 1205 1210 1215
 Glu Ala Asp Ala Gln Thr Phe Ala Ala Thr His Asn Pro Trp Ala
 1220 1225 1230
 50 Ser Gln Ala Gly Cys Leu Ser Asp Val Leu Tyr Asn Thr Arg His
 1235 1240 1245
 Arg Glu Arg Leu Gly Tyr Asn Ser Lys Phe Tyr Ser Pro Cys Ala
 1250 1255 1260
 55 Gln Tyr Phe Asn Thr Glu Glu Ile Ile Ala Ala Asn Lys Thr Leu
 1265 1270 1275
 Phe Lys Thr Ile Asp Glu Tyr Leu Leu Arg Ala Lys Asp Cys Ile
 1280 1285 1290
 60 Arg Gly Asp Thr Asp Thr Gln Tyr Val Cys Val Glu Gly Thr Glu
 1295 1300 1305
 65

ES 2 286 499 T3

	Gln	Leu	Ile	Glu	Asn	Pro	Cys	Arg	Leu	Thr	Gln	Glu	Ala	Leu	Pro
							1315					1320			
5	Ile	Leu	Ser	Thr	Thr	Thr	Leu	Ala	Leu	Met	Glu	Thr	Lys	Leu	Lys
							1330						1335		
	Gly	Gly	Ala	Gly	Ala	Phe	Ala	Thr	Ser	Glu	Thr	His	Phe	Gly	Asn
							1345						1350		
10	Tyr	Val	Val	Gly	Glu	Ile	Ile	Pro	Leu	Gln	Gln	Ser	Met	Leu	Phe
							1360						1365		
	Asn	Ser													
15															
20															
25															
30															
35															
40															
45															
50															
55															
60															
65															