



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 335 316**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/73** (2006.01)

**C07D 413/04** (2006.01)

**A61K 31/4439** (2006.01)

**A61K 31/44** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07722932 .6**

96 Fecha de presentación : **26.02.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **1991529**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.11.2008**

54 Título: **Arilsulfonamidas sustituidas como agentes antivirales.**

30 Prioridad: **03.03.2006 DE 10 2006 009 928**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**24.03.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**24.03.2010**

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

72 Inventor/es: **Svenstrup, Niels;**  
**Zimmermann, Holger;**  
**Karthaus, Dagmar;**  
**Goeller, Andreas;**  
**Heimbach, Dirk;**  
**Henninger, Kerstin;**  
**Lang, Dieter;**  
**Paulsen, Daniela;**  
**Riedl, Bernd;**  
**Schohe-Loop, Rudolf;**  
**Schuhmacher, Joachim y**  
**Wunberg, Tobias**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 335 316 T3

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

DESCRIPCIÓN

Arilsulfonamidas sustituidas como agentes antivirales.

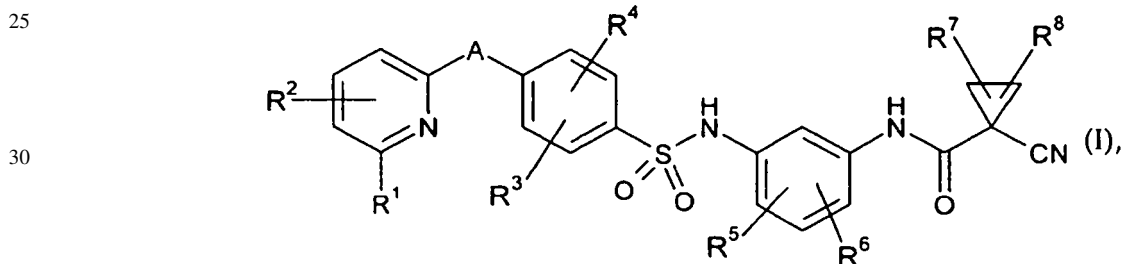
5 La invención se refiere a arilsulfonamidas sustituidas y a procedimientos para su preparación, así como a su uso para la preparación de fármacos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente para uso como agentes antivirales, especialmente contra citomegalovirus.

10 El documento WO 02/085869 describe arilsulfonamidas sustituidas como agentes antivirales, especialmente contra citomegalovirus.

15 Un objetivo de la presente invención es poner a disposición nuevos compuestos con la misma acción antiviral o mejorada, farmacocinética mejorada, especialmente una semivida más larga y/o biodisponibilidad oral mejorada, y cuyas rutas de degradación metabólicas no se diferencian significativamente entre el ser humano y especies TOX corrientes como, por ejemplo, rata y perro para el tratamiento de enfermedades infecciosas virales en seres humanos y animales.

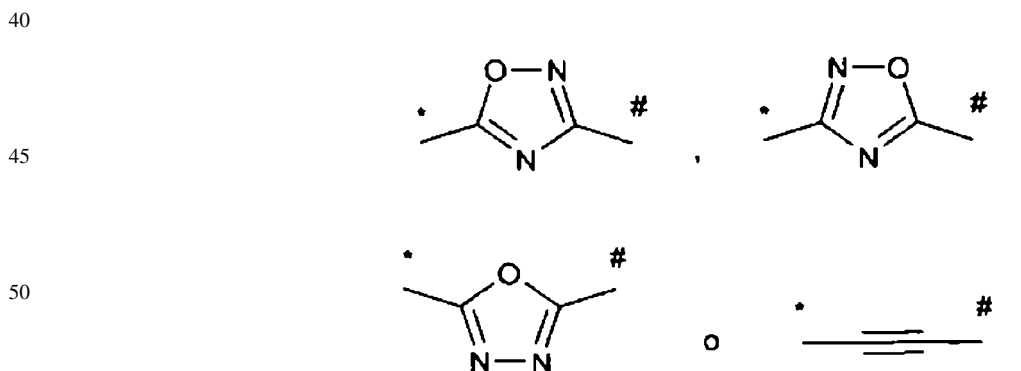
20 Se encontró de manera sorprendente que las arilsulfonamidas sustituidas descritas en la presente invención son antiviralmente eficaces, muestran propiedades farmacocinéticas mejoradas y sus rutas de degradación metabólicas no se diferencian significativamente en el ser humano, rata y perro.

Son objeto de la invención compuestos de fórmula



en la que

A representa un grupo de fórmula



55 en las que

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo,

y

# es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

R<sup>1</sup> representa hidrógeno, amino o metilcarbonilamino,

65 R<sup>2</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>3</sup> representa hidrógeno, halógeno o ciano,

## ES 2 335 316 T3

R<sup>4</sup> representa hidrógeno, halógeno o ciano,

R<sup>5</sup> representa hidrógeno o halógeno,

5 R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>7</sup> representa hidrógeno, halógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

10 R<sup>8</sup> representa hidrógeno, halógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

15 Los compuestos según la invención son los compuestos de fórmula (I) y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, así como los compuestos comprendidos por la fórmula (I) mencionados a continuación como ejemplo(s) de realización y sus sales, solvatos y solvatos de las sales, en tanto que en el caso de los compuestos mencionados a continuación comprendidos por la fórmula (I) no se trate ya de sales, solvatos y solvatos de las sales.

20 Los compuestos según la invención pueden existir en función de su estructura en formas estereoisómeras (enantiómeros, diastereómeros). Por tanto, la invención se refiere a los enantiómeros o diastereómeros y sus mezclas respectivas. A partir de tales mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros pueden aislarse de manera conocida los constituyentes estereoisoméricamente unitarios.

25 Si los compuestos según la invención pueden presentarse en formas tautómeras, la presente invención comprende todas las formas tautómeras.

30 Como sales se prefieren en el marco de la presente invención sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. Pero también están comprendidas sales que por sí mismas no son adecuadas para aplicaciones farmacéuticas pero pueden usarse, por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de los compuestos según la invención.

35 Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención 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 naftalendisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

40 Sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención también comprenden sales de bases habituales, como a modo de ejemplo y preferiblemente sales de metales alcalinos (por ejemplo, sales de sodio y potasio), sales alcalinotérricas (por ejemplo, sales de calcio y magnesio) y sales de amonio derivadas de amoníaco o aminas orgánicas con 1 a 16 átomos de C, como a modo de ejemplo y preferiblemente etilamina, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, dicitclohexilamina, dimetilaminoetanol, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, arginina, lisina, etilendiamina y *N*-metilpiperidina.

45 Se denominan solvatos en el marco de la invención a aquellas formas de los compuestos según la invención que forman un complejo en estado sólido o líquido mediante coordinación con moléculas de disolvente. Hidratos son una forma especial de solvatos en los que la coordinación se realiza con agua.

50 Además, la presente invención también comprende profármacos de los compuestos según la invención. El término "profármacos" comprende compuestos que, por sí mismos, puede ser biológicamente activos o inactivos, sin embargo durante su tiempo de permanencia en el cuerpo reaccionan para dar compuestos según la invención (por ejemplo, metabólica o hidrolíticamente).

55 En el marco de la presente invención, los sustituyentes tienen, mientras que no se especifique lo contrario, el siguiente significado:

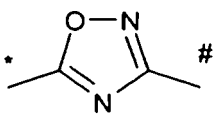
*Alquilo* representa un resto alquilo lineal o ramificado con generalmente 1 a 3, con especial preferencia 1 a 2 átomos de carbono, a modo de ejemplo y preferiblemente representa metilo, etilo, *n*-propilo y isopropilo.

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

65 En la fórmula del grupo que puede representar A, el punto final de la línea junto a la cual está respectivamente un \* o # no representa un átomo de carbono o un grupo CH<sub>2</sub>, sino que es constituyente del enlace al átomo al que está unido A.

## ES 2 335 316 T3

Se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

A  representa un grupo de fórmula

5



10 en la que

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo

y

15 # es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

R<sup>1</sup> representa hidrógeno, amino o metilcarbonilamino,

20 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representan hidrógeno,

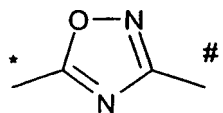
R<sup>5</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

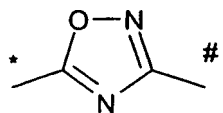
25 R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> representan hidrógeno,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

30 También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

A  representa un grupo de fórmula

35



40 en la que

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo

y

45 # es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

R<sup>1</sup> representa amino o metilcarbonilamino,

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representan hidrógeno,

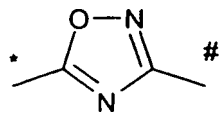
50 R<sup>5</sup> representa hidrógeno,

R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

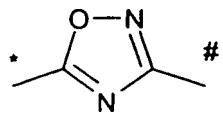
55 R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> representan hidrógeno,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

60 También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que

A  representa un grupo de fórmula

65



## ES 2 335 316 T3

en la que

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo,

y

# es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>1</sup> representa amino.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>2</sup> representa hidrógeno.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>3</sup> representa hidrógeno.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>4</sup> representa hidrógeno.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>5</sup> representa hidrógeno.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>6</sup> representa flúor.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>5</sup> representa hidrógeno y R<sup>6</sup> representa flúor.

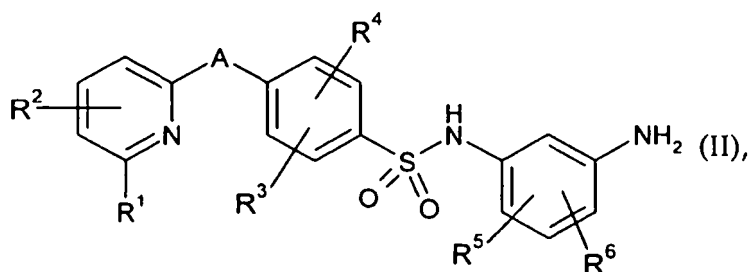
También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>7</sup> representa hidrógeno.

También se prefieren compuestos de fórmula (I) en la que R<sup>8</sup> representa hidrógeno.

Las definiciones de restos especificadas por separado en las respectivas combinaciones o combinaciones preferidas de restos también se sustituyen discrecionalmente por definiciones de restos de otra combinación independientemente de las combinaciones especificadas respectivas de los restos.

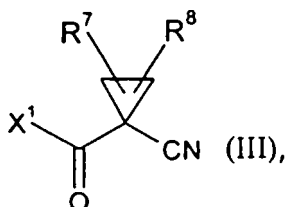
Se prefieren muy especialmente combinaciones de dos o varios de los intervalos preferidos anteriormente mencionados.

Además, es objeto de la invención un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula (I) haciendo reaccionar compuestos de fórmula



en la que

A, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente, con compuestos de fórmula



en la que

R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

y

X<sup>1</sup> representa halógeno, preferiblemente cloro o bromo, o hidroxilo.

## ES 2 335 316 T3

La reacción se realiza, en caso de que X<sup>1</sup> sea igual a halógeno, en general en disolventes inertes, en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de 0°C a 40°C a presión normal.

Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos halogenados como cloruro de metileno, triclorometano o 1,2-dicloroetano, éteres como dioxano, tetrahidrofurano o 1,2-dimetoxietano, u otros disolventes como acetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, 2-butanona o acetonitrilo, se prefiere tetrahidrofurano o cloruro de metileno.

Las bases son, por ejemplo, carbonatos alcalinos como carbonato de cesio, carbonato de sodio o potasio, o bases orgánicas como trialkilaminas, por ejemplo, trietilamina o diisopropiletilamina, *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina, 4-dimetilaminopiridina o piridina, se prefiere diisopropiletilamina.

La reacción se realiza, en caso de que X<sup>1</sup> sea igual a hidroxilo, en general en disolventes inertes, en presencia de reactivos de deshidratación, opcionalmente en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de 0°C a temperatura ambiente a presión normal.

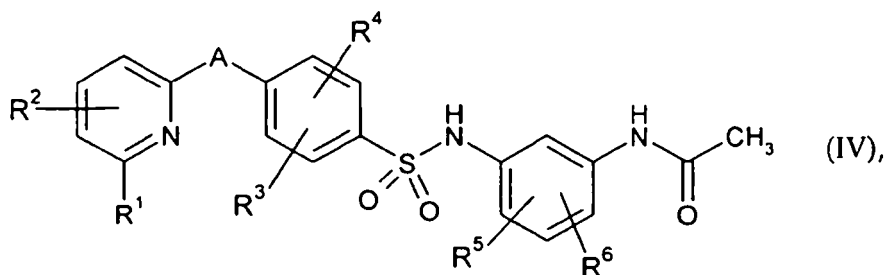
Como reactivos de deshidratación son adecuados a este respecto, por ejemplo, carbodiimidas como, por ejemplo, *N,N'*-dietil-, *N,N'*-dipropil-, *N,N'*-diisopropil-, *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida, clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminoisopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDC) (opcionalmente en presencia de pentafluorofenol (PFP)), *N*-ciclohexilcarbodiimid-*N'*-propiloximetil-poliestireno (carbodiimida de PS) o compuestos de carbonilo como carbonildiimidazol, o compuestos de acilamino como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, o anhídrido de ácido propanofosfónico, o cloroformiato de isobutilo, o cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo o hexafluorofosfato de benzotriazoliloxi-tri(dimetilamino)fosfonio, o hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU) o hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU), o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilamino)-fosfonio (BOP), o mezclas de éstos, con bases. La condensación se realiza preferiblemente con HATU.

Las bases son, por ejemplo, carbonatos alcalinos como, por ejemplo, carbonato o hidrogenocarbonato de sodio o potasio, o bases orgánicas como trialkilaminas, por ejemplo, trietilamina o diisopropiletilamina, o *N*-metilmorfolina, *N*-metilpiperidina o 4-dimetilaminopiridina, se prefiere diisopropiletilamina.

Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos halogenados como diclorometano o triclorometano, hidrocarburos como, por ejemplo, benceno o nitrometano, dioxano, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, acetonitrilo, tetrahidrofurano o triamida de ácido hexametilfosfórico, o mezclas de los disolventes, se prefiere especialmente diclorometano, tetrahidrofurano o dimetilformamida.

Los compuestos de fórmula (III) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los productos de partida correspondientes.

Los compuestos de fórmula (II) son conocidos o pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula



en la que

A, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente, con un ácido.

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

Los ácidos son, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalendisulfónico o ácido trifluoroacético, se prefiere especialmente ácido clorhídrico.

## ES 2 335 316 T3

Los disolventes polares son, por ejemplo, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol o *tert*-butanol, o tetrahidrofurano, dioxano o ácido acético, o mezclas de los disolventes o una mezcla de disolvente y agua, se prefiere especialmente etanol.

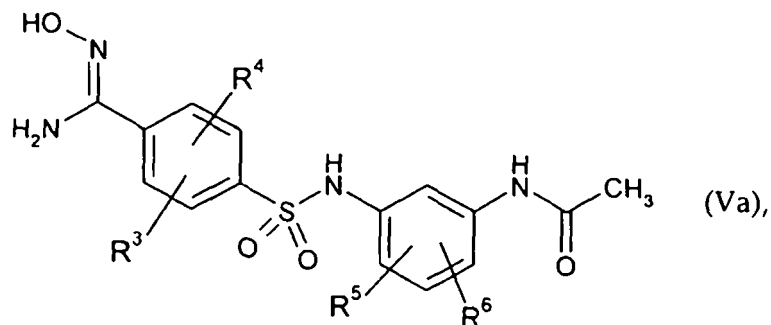
5 Los compuestos de fórmula (IV) son conocidos o pueden prepararse haciendo reaccionar según el procedimiento

[A] compuestos de fórmula

10

15

20



25

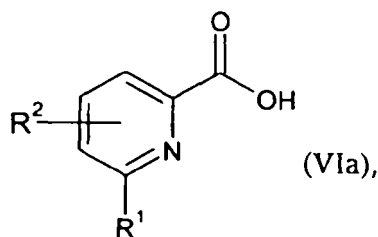
en la que

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

30

con compuestos de fórmula

35



40

en la que

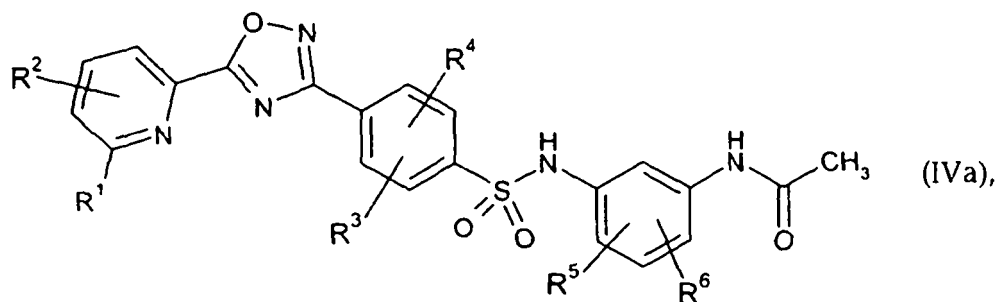
45

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

para dar compuestos de fórmula

50

55



60

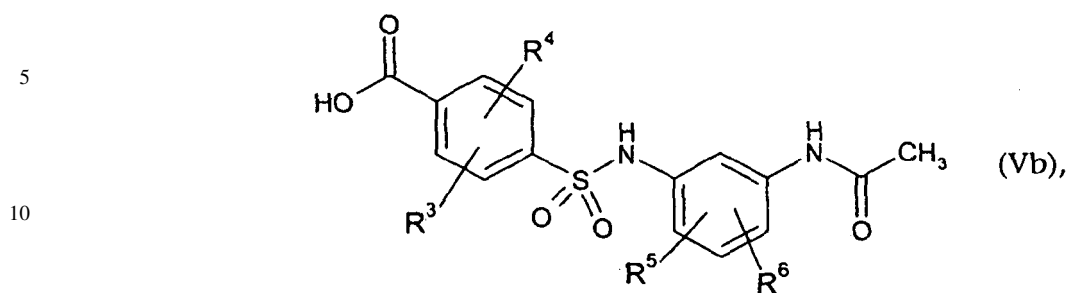
en la que

65

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

o

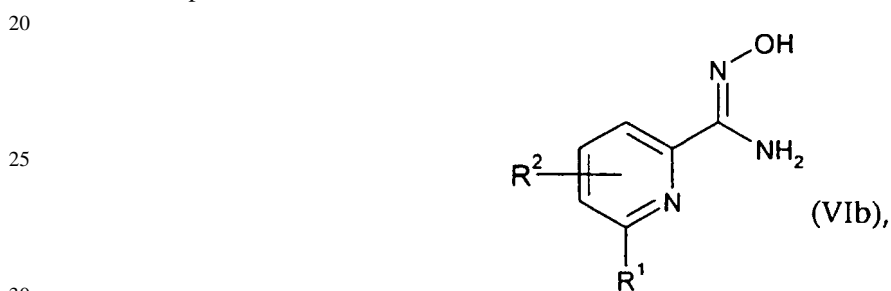
[B] compuestos de fórmula



15 en la que

R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

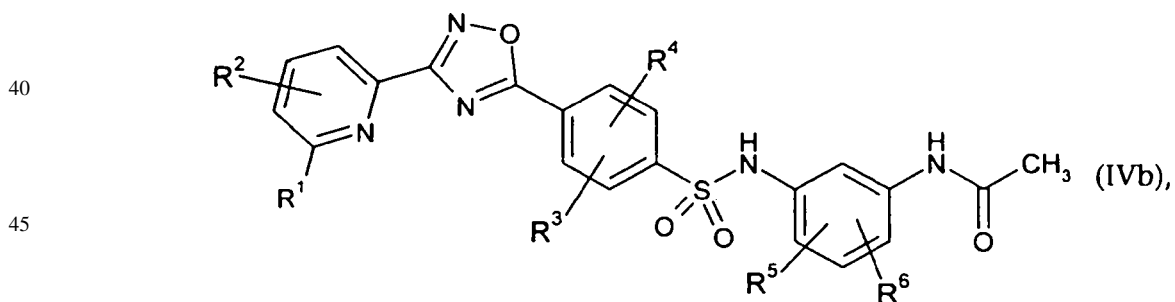
con compuestos de fórmula



30 en la que

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

para dar compuestos de fórmula

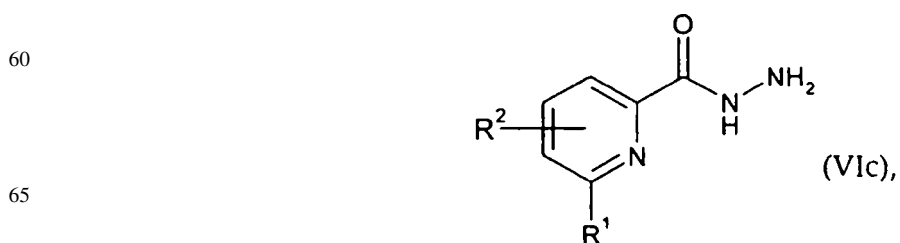


50 en la que

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

o

[C] compuestos de fórmula (Vb) en la primera etapa con compuestos de fórmula



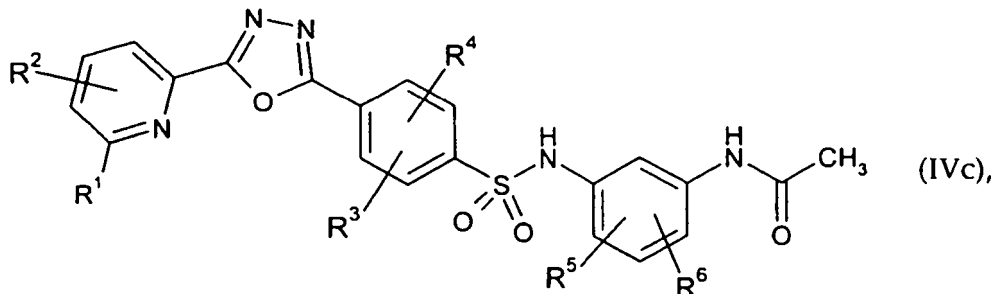
# ES 2 335 316 T3

en la que

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

5 y en la segunda etapa con oxiclорuro de fósforo, para dar compuestos de fórmula

10



15

20

en la que

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

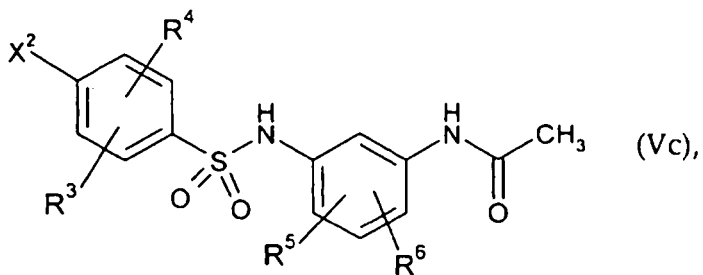
25

o

[D] compuestos de fórmula

30

35



40

en la que

45

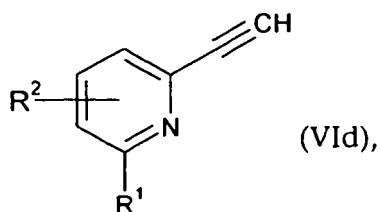
R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen el significado especificado anteriormente, y

X<sup>2</sup> representa halógeno, preferiblemente yodo o bromo,

50

con compuestos de fórmula

55



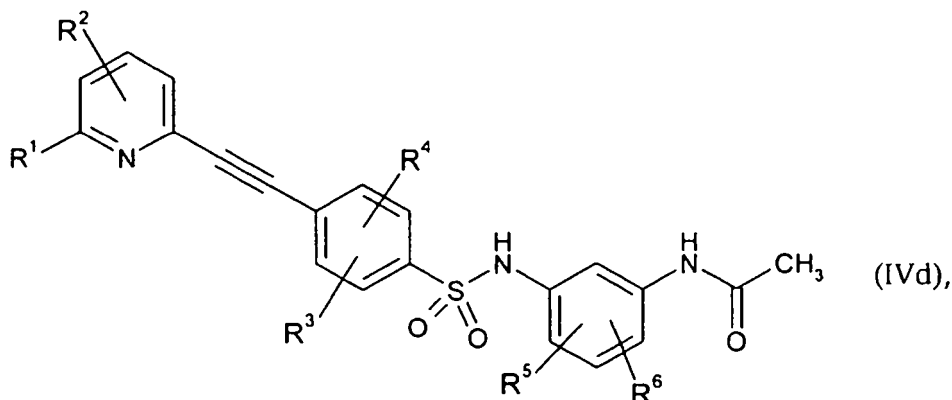
60

en la que

65

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> tienen el significado especificado anteriormente,

para dar compuestos de fórmula



20 en la que

$R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  tienen el significado especificado anteriormente.

25 El grupo amino de  $R^1$  está opcionalmente protegido durante la síntesis con un grupo protector conocido para el experto como, por ejemplo, acilo que se disocia después de la síntesis según condiciones conocidas para el experto.

Los compuestos de fórmulas (IVa), (IVb), (IVc) y (IVd) forman juntos los compuestos de fórmula (IV).

30 La reacción según el procedimiento [A], [B] y la primera etapa según el procedimiento [C] se realiza en general en disolventes inertes en presencia de reactivos de deshidratación, preferiblemente en un intervalo de temperatura de temperatura ambiente a 100°C a presión normal.

35 Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos como benceno o tolueno, u otros disolventes como dioxano, dimetilformamida, dimetilsulfóxido o acetonitrilo, o mezclas de los disolventes, se prefiere especialmente dimetilformamida.

40 Los reactivos de deshidratación son, por ejemplo, carbodiimidas como, por ejemplo, *N,N'*-dietil-, *N,N'*-dipropil-, *N,N'*-diisopropil-, *N,N'*-iciclohexilcarbodiimida, clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminoisopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDC) (opcionalmente en presencia de pentafluorofenol (PFP)), *N*-ciclohexilcarbodiimida-*N'*-propiloximetil-poliestireno (carbodiimida de PS) o compuestos de carbonilo como carbonildiimidazol, o compuestos de 1,2-oxazolio como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-*terc*-butil-5-metil-isoxazolio, o compuestos de acilamino como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, o anhídrido de ácido propanofosfónico, o cloroformiato de isobutilo, o cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo o hexafluorofosfato de benzotriazoliloxi-tri(dimetilamino)fosfonio, o hexafluorofosfato de *O*-(benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU) o hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU), o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)-fosfonio (BOP), o mezclas de éstos, con bases. Se prefiere especialmente carbonildiimidazol.

50 La reacción de la segunda etapa según el procedimiento [C] se realiza en general en disolventes inertes, preferiblemente en un intervalo de temperatura de 50°C a 100°C, a presión normal. También es posible utilizar mezclas de los disolventes, una mezcla de disolvente y  $\text{POCl}_3$  o  $\text{POCl}_3$  puro.

55 Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos como benceno o tolueno, u otros disolventes como dioxano, dimetilsulfóxido, dimetilformamida o acetonitrilo, o mezclas de los disolventes, se prefiere especialmente dioxano y/o dimetilformamida.

60 La reacción según el procedimiento [D] se realiza en general bajo condiciones de reacción de Sonogashira bajo argón en disolventes inertes y desgasificados, en presencia de un catalizador, opcionalmente en presencia de un reactivo adicional, en presencia de una base y opcionalmente trifenilfosfina, preferiblemente en un intervalo de temperatura de temperatura ambiente hasta reflujo del disolvente a presión normal (R.R. Tykwinski, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2003, 42, 1566-1568, K. Sonogashira en *Handbook of organopalladium chemistry for organic synthesis* (Ed. E.-I. Negishi), 1133-1178 Wiley-Interscience, Nueva York (2002)).

65 Los catalizadores son, por ejemplo, catalizadores de paladio habituales para las condiciones de reacción de Sonogashira, se prefieren catalizadores como, por ejemplo, tri(dibencilidenacetona)dipaladio, diclorobis(trifenilfosfino)-paladio, tetrakis(trifenilfosfino)paladio (0), acetato de paladio (II), complejo (1:1) de cloruro de 1,1'-bis[(difenilfosfino)-ferroceno]paladio II con diclorometano.

## ES 2 335 316 T3

Los reactivos adicionales son, por ejemplo, yoduro de cobre (I) y trifenilfosfina.

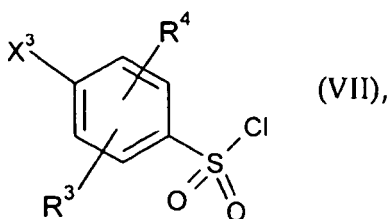
Las bases son, por ejemplo, bases de amina como trietilamina.

5 Los disolventes inertes son, por ejemplo, éteres como dioxano, tetrahidrofurano o 1,2-dimetoxietano, hidrocarburos como benceno, xileno o tolueno, u otros disolventes como nitrobenzono, dimetilformamida, dimetilacetamida, dimetilsulfóxido o *N*-metilpirrolidona, se prefieren disolventes como, por ejemplo, dimetilformamida, dimetilacetamida, dimetilsulfóxido o 1,2-dimetoxietano.

10 Los compuestos de fórmulas (VIa), (VIb), (VIc) y (VI d) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los productos de partida correspondientes.

Los compuestos de fórmulas (Va), (Vb) y (Vc) son conocidos o pueden prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula

15



20

25

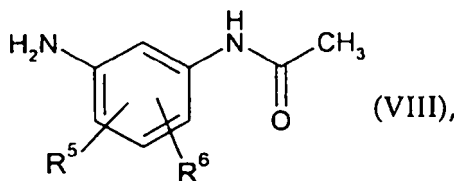
en la que

$R^3$  y  $R^4$  tienen el significado especificado anteriormente, y

30

$X^3$  representa halógeno, preferiblemente yodo o bromo, hidroxicarbonilo o ciano, con compuestos de fórmula

35



40

en la que

45

$R^5$  y  $R^6$  tienen el significado especificado anteriormente.

50 La reacción se realiza en general en disolventes inertes en presencia de una base, preferiblemente en un intervalo de temperatura de 0°C a 40°C a presión normal.

Los disolventes inertes son, por ejemplo, alcoholes como metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol o *tert*-butanol o tetrahidrofurano, acetona, dioxano o piridina, o mezclas de los disolventes o una mezcla de disolvente y agua, se prefiere especialmente tetrahidrofurano o iso-propanol con algo de agua.

55

Las bases son, por ejemplo, acetato de sodio, acetato de potasio, carbonato de sodio, carbonato de potasio o bases de amina como trietilamina o diisopropiltilamina, se prefiere especialmente acetato de sodio.

60 Los compuestos de fórmulas (VII) y (VIII) son conocidos o pueden sintetizarse según procedimientos conocidos a partir de los productos de partida correspondientes.

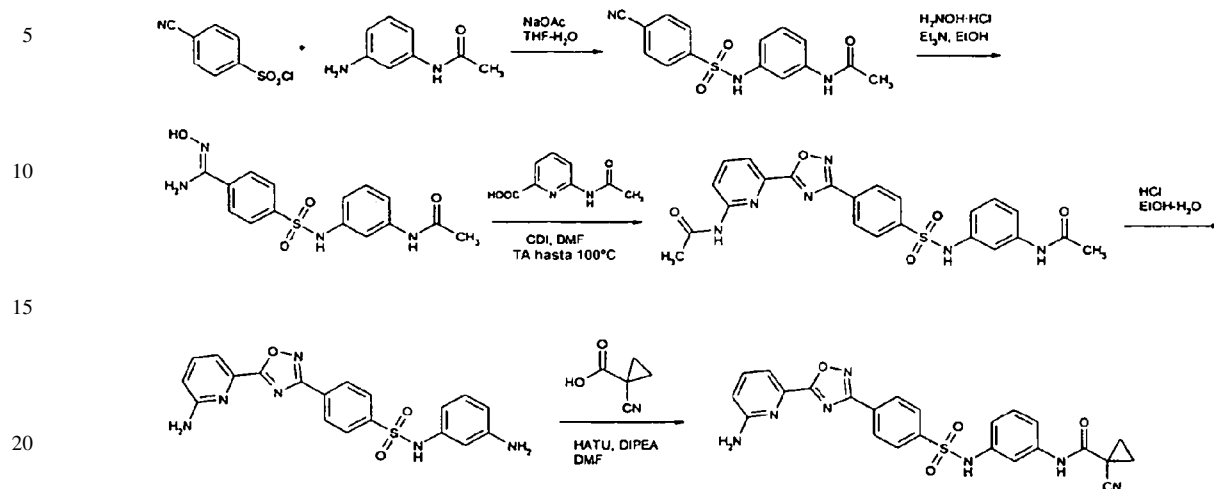
En un procedimiento alternativo, los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse mediante otro orden de acoplamiento de las unidades estructurales de síntesis.

65

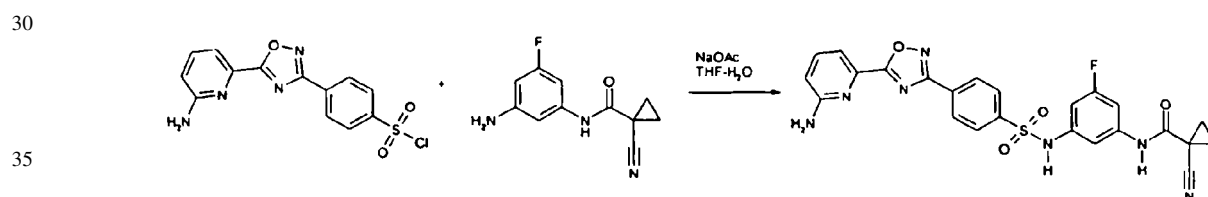
La preparación de los compuestos según la invención puede ilustrarse mediante los siguientes esquemas de síntesis.

# ES 2 335 316 T3

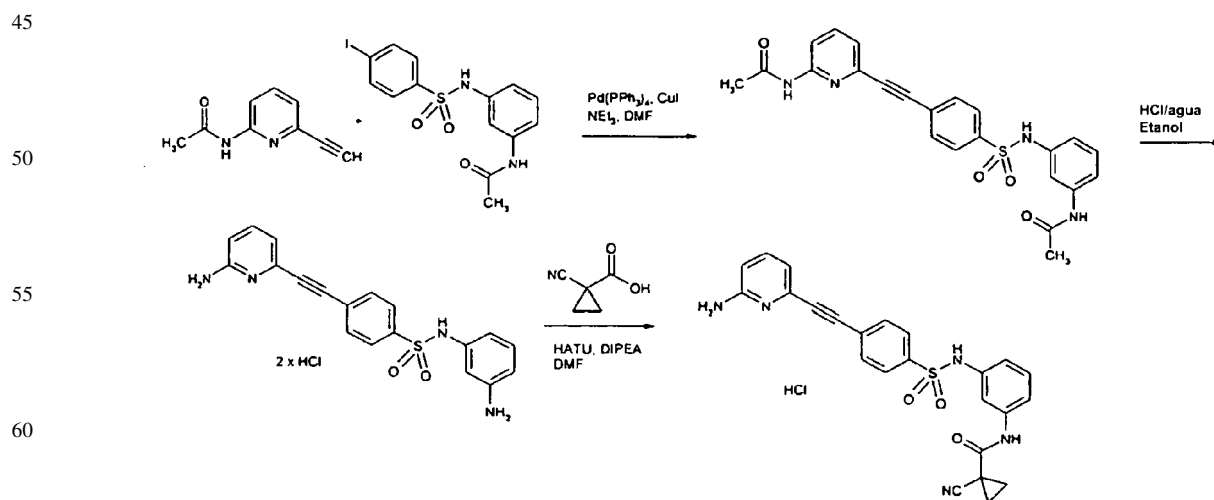
## Esquema de síntesis 1



## Esquema de síntesis 2

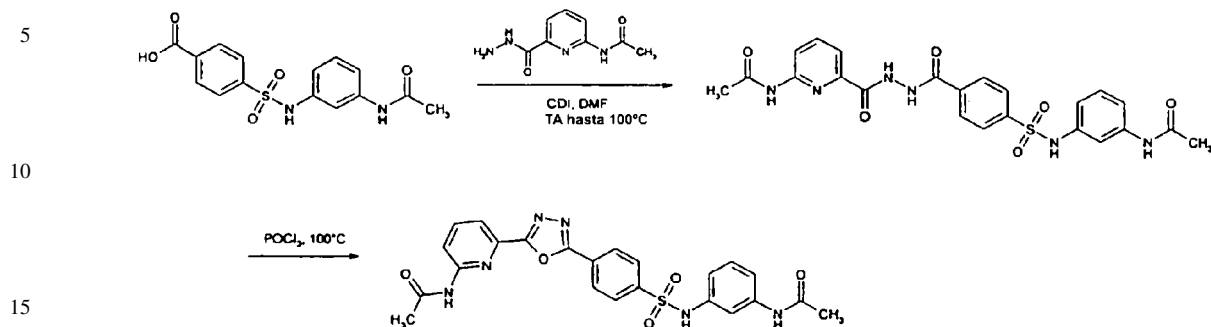


## Esquema de síntesis 3



## ES 2 335 316 T3

### Esquema de síntesis 4



20 Los compuestos según la invención muestran un sorprendente espectro de acción no previsible. Muestran una acción antiviral frente a representantes del grupo de los herpesvirus (virus del herpes), sobre todo frente a citomegalovirus (CMV), especialmente frente al citomegalovirus humano (CMVH).

Como campos de indicación pueden mencionarse, por ejemplo:

- 25
- 1) Tratamiento y profilaxis de infecciones por CMVH en pacientes con SIDA (retinitis, neumonitis, infecciones gastrointestinales).
  - 2) Tratamiento y profilaxis de infecciones por citomegalovirus en pacientes con trasplante de médula ósea y órganos que frecuentemente enferman de forma potencialmente mortal de una neumonitis, encefalitis por CMVH, así como de infecciones por CMVH gastrointestinales y sistémicas.
  - 3) Tratamiento y profilaxis de infecciones por CMVH en recién nacidos y niños pequeños.
  - 35 4) Tratamiento de una infección por CMVH aguda en embarazadas.
  - 5) Tratamiento de infección por CMVH en pacientes inmunodeprimidos durante el cáncer y la terapia del cáncer.
  - 40 6) Tratamiento de pacientes con cáncer positivos a CMVH con el objetivo de disminuir la progresión tumoral mediada por CMVH (véase J. Cinatl y col., FEMS Microbiology Reviews 2004, 28, 59-77).

45 Otro objeto de la presente invención es la utilización de los compuestos según la invención para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, sobre todo de infecciones por virus, especialmente los virus anteriormente mencionados, y las enfermedades infecciosas causadas por éstos. Por una infección viral se entiende a continuación tanto una infección por un virus como también una enfermedad causada por una infección por un virus.

50 Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades previamente mencionadas.

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para la preparación de un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades previamente mencionadas.

55 Los compuestos según la invención se usan preferiblemente para la preparación de fármacos que son adecuados para la profilaxis y/o el tratamiento de infecciones con un representante del grupo de los herpesvirus, especialmente un citomegalovirus, especialmente el citomegalovirus humano.

60 Otro objeto de la presente invención es el uso de una cantidad antiviralmente eficaz de los compuestos según la invención para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente de las enfermedades previamente mencionadas.

65 Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen al menos un compuesto según la invención y al menos uno o varios principios activos distintos, especialmente para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades previamente mencionadas. Como principios activos de combinación adecuados son de mencionar a modo de ejemplo y preferiblemente: principios activos antivirales como valganciclovir, ganciclovir o aciclovir.

## ES 2 335 316 T3

Los compuestos según la invención pueden actuar sistémica y/o localmente. Para este objetivo pueden administrarse de forma adecuada, como por ejemplo oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntiva, ótica, tópica o como implante o prótesis endovascular.

5 Para estas vías de administración, los compuestos según la invención pueden administrarse en formas de administración adecuadas.

10 Para la administración por vía oral son adecuadas formas de administración que funcionan según el estado de la técnica que liberan los compuestos según la invención de forma rápida y/o modificada que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta, como por ejemplo comprimidos (comprimidos sin recubrir o recubiertos, por ejemplo con recubrimientos resistentes a los jugos gástricos o que se disuelven de forma retardada o insolubles, que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos o películas/oblas que se desintegran rápidamente en la cavidad bucal, películas/líofilizados, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o blanda), comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, pellas, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o disoluciones.

20 La administración parenteral puede producirse evitando una etapa de resorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracárdica, intraespinal o intralumbar) o incluyendo una resorción (por ejemplo, intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral son adecuadas como formas de administración, entre otras, preparaciones para inyección e infusión en forma de disoluciones, suspensiones, emulsiones, líofilizados o polvos estériles.

25 Para las otras vías de administración son adecuadas, por ejemplo, formas farmacéuticas para inhalación (entre otras inhaladores de polvo, nebulizadores), gotas, disoluciones, aerosoles nasales; comprimidos, películas/oblas o cápsulas que van a administrarse por vía lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones para el oído o los ojos, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos, leche, pastas, espumas, polvos para extender sobre la piel, implantes o prótesis endovasculares.

30 Los compuestos según la invención pueden convertirse en las formas de administración citadas. Esto puede producirse de una manera conocida en sí mediante mezclado con coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados. Entre estos coadyuvantes figuran, entre otros, vehículos (por ejemplo celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo polietilenglicoles líquidos), emulgentes y dispersantes o humectantes (por ejemplo dodecilsulfato de sodio, oleato de polioxisorbitano), aglutinantes (por ejemplo polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo albúmina), estabilizadores (por ejemplo antioxidantes, como por ejemplo ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo pigmentos inorgánicos como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores del sabor y/o el olor.

40 Otro objeto de la presente invención son fármacos que contienen al menos un compuesto según la invención, normalmente junto con uno o varios coadyuvantes inertes no tóxicos farmacéuticamente adecuados, así como su uso para los fines previamente mencionados.

45 En general, en la administración por vía intravenosa ha demostrado ser ventajoso administrar cantidades de aproximadamente 0,001 a 10 mg/kg, preferiblemente aproximadamente 0,01 a 5 mg/kg de peso corporal, para lograr resultados eficaces, y en la administración por vía oral la dosificación asciende a aproximadamente de 0,01 a 25 mg/kg, preferiblemente 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal.

50 No obstante, dado el caso puede ser necesario apartarse de las cantidades mencionadas y concretamente en función del peso corporal, vía de administración, comportamiento individual frente al principio activo, modo de preparación y momento o intervalo en el que o con el que se realiza la administración. Así, en algunos casos puede ser suficiente arreglárselas con menos de la cantidad mínima previamente mencionada, mientras que en otros casos debe superarse el límite superior mencionado. En caso de administración de cantidades más grandes puede ser recomendable distribuir éstas en varias dosis individuales a lo largo del día.

55 Los datos en porcentaje en las siguientes pruebas y ejemplos son, siempre y cuando no se especifique lo contrario, porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y datos de concentración de disoluciones líquido/líquido se refieren respectivamente al volumen.

### 60 A. Ejemplos

#### Abreviaturas

aprox.	aproximadamente
Boc	terc-butoxicarbonilo

## ES 2 335 316 T3

	CDCl <sub>3</sub>	deuterocloroformo
	DCI	ionización química directa (en EM)
5	DCM	diclorometano
	DIEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
	DMSO	dimetilsulfóxido
10	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	d. t.	del teórico
15	EDC	clorhidrato de <i>N</i> -(3-dimetilaminoisopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
	AE	acetato de etilo (éster etílico de ácido acético)
	EI	ionización por impacto electrónico (en EM)
20	ESI	ionización por electropulverización (en EM)
	Fmoc	9-fluorenilmetoxycarbonilo
25	sat.	saturada
	h	hora
	HPLC	cromatografía líquida de alta presión, de alta resolución
30	a.v.	alto vacío
	conc.	concentrado
35	EM-CL	espectroscopía de masas acoplada a cromatografía de líquidos
	LDA	diisopropilamida de litio
	min	minutos
40	EM	espectroscopía de masas
	MTBE	éter metil- <i>terc</i> -butílico
45	RMN	espectroscopía de resonancia nuclear
	Pd-C	paladio sobre carbón
	porc.	por ciento
50	PyBOP	hexafluorofosfato de 1-benzotriazoliloxi-tripirrolidinofosfonio
	RP-HPLC	HPLC en fase inversa TA temperatura ambiente
55	R <sub>t</sub>	tiempo de retención (en HPLC)
	THF	tetrahidrofurano.

### 60 *Procedimientos generales de EM-CL y HPLC*

65 Procedimiento 1 (*EM-CL*): tipo de instrumento de EM: Micromass ZQ; tipo de instrumento de HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2  $\mu$  Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A  $\rightarrow$  2,5 min 30% de A  $\rightarrow$  3,0 min 5% de A  $\rightarrow$  4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.

## ES 2 335 316 T3

Procedimiento 2 (EM-CL): instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2  $\mu$  Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A  $\rightarrow$  2,5 min 30% de A  $\rightarrow$  3,0 min 5% de A  $\rightarrow$  4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; 5 detección UV: 208-400 nm.

Procedimiento 3 (EM-CL): tipo de instrumento de EM: Micromass ZQ; tipo de instrumento HPLC: Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2  $\mu$  Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A  $\rightarrow$  2,5 min 30% de A  $\rightarrow$  3,0 min 5% de A  $\rightarrow$  4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm. 10

Procedimiento 4 (EM-CL): instrumento: Micromass Platform LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Thermo Hypersil GOLD 3  $\mu$  20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 100% de A  $\rightarrow$  0,2 min 100% de A  $\rightarrow$  2,9 min 30% de A  $\rightarrow$  3,1 min 10% de A  $\rightarrow$  5,5 min 10% de A; horno: 50°C; flujo: 0,8 ml/min; detección UV: 210 nm. 15

Procedimiento 5 (HPLC): instrumento: HP 1100 con detección DAD; columna: Kromasil RP-18, 60 mm x 2 mm, 3,5  $\mu$ m; eluyente A: 5 ml de ácido perclórico/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 2% de B, 0,5 min 2% de B, 4,5 min 90% de B, 9 min 90% de B, 9,2 min 2% de B, 10 min 2% de B; flujo: 0,75 ml/min; horno: 30°C; detección UV: 210 nm. 20

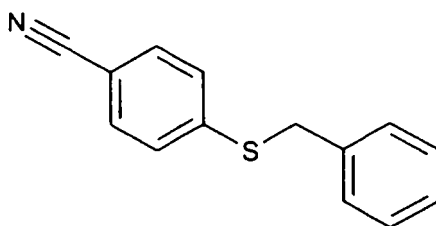
Procedimiento 6 (HPLC): instrumento: HP 1100 con detección DAD; columna: Kromasil RP-18, 60 mm x 2 mm, 3,5  $\mu$ m; eluyente A: 5 ml de ácido perclórico/l de agua, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0 min 2% de B, 0,5 min 2% de B, 4,5 min 90% de B, 6,5 min 90% de B, 6,7 min 2% de B, 7,5 min 2% de B; flujo: 0,75 ml/min; horno: 30°C; detección UV: 210 nm. 25

Procedimiento 7 (EM/CL): tipo de instrumento de EM: Micromass ZQ; tipo de instrumento HPLC: HP 1100 Series; UV DAD; columna: Phenomenex Gemini 3  $\mu$  30 mm x 3,00 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A  $\rightarrow$  2,5 min 30% de A  $\rightarrow$  3,0 min 5% de A  $\rightarrow$  4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min. 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm. 30

### 35 *Compuestos de partida*

#### Ejemplo 1A

#### 40 *4-(Benciltio)benzonitrilo*



Se lava hidruro de sodio (5 g de una dispersión al 60% en aceite) con hexano y se seca a vacío. El residuo se suspende en DMF seca (100 ml) a 0°C y se añade gota a gota bencilmercaptano (14,82 g) durante 30 min. A continuación se 55 agita 30 min a temperatura ambiente. Se añade cuidadosamente 4-fluorobenzonitrilo (14,45 g) y la mezcla de reacción se agita hasta que el material de partida se haya convertido completamente (control por HPLC, aproximadamente 3 horas). La mezcla de reacción se vierte sobre agua con hielo (400 ml) y se agita cinco minutos. El producto se separa por filtración, se lava con agua (tres veces) y se seca sobre el filtro. El producto bruto se recrystaliza en ciclohexano, se separa por filtración y se lava con éter de petróleo y se seca. Se obtienen 23,04 g (86% d. t.) de producto. 60

EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 2,85$  min

EM (ESI):  $m/z = 226$  [M+H]<sup>+</sup>. 65

## ES 2 335 316 T3

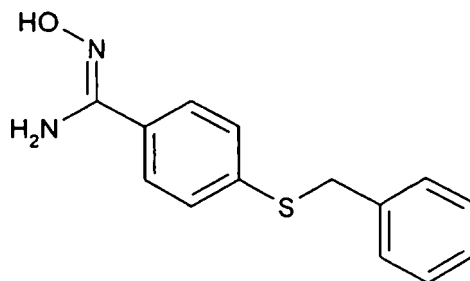
### Ejemplo 2A

#### 4-(Benciltio)-N'-hidroxibenzocarboximidamida

5

10

15



20

25

Se disponen 4-(benciltio)benzonitrilo (23,00 g) y clorhidrato de hidroxilamina (10,66 g) en etanol seco (10 ml) y se añade trietilamina (17 ml). La mezcla de reacción se agita primero 30 min a 50°C y después se calienta 2 horas a reflujo. A continuación se añade agua hasta que la disolución se vuelve turbia. La mezcla de reacción se enfría hasta TA y el sólido resultante se separa por filtración. El sólido se lava con agua y a continuación se seca a 85°C en la estufa de secado. El producto bruto se recristaliza en n-butanol, el producto cristalino se separa por filtración, se lava con éter dietílico y se seca en la estufa de secado a 65°C. Se obtienen 23,40 g (88% d. t.) del producto como sólido.

EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 1,79$  min

EM (ESI):  $m/z = 229$   $[M+H]^+$ .

30

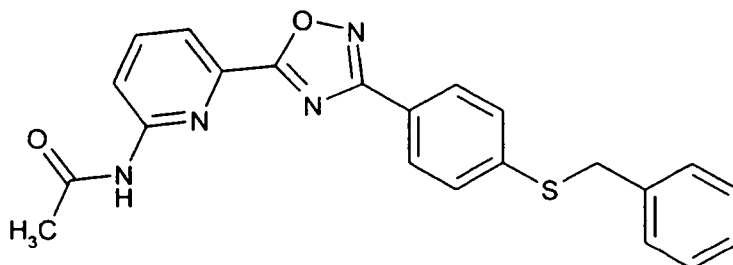
### Ejemplo 3A

#### N-(6-[3-[4-(Benciltio)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-il]piridin-2-il)acetamida

35

40

45



50

55

A ácido 6-acetamidopiridin-2-carboxílico (16,84 g) en DMF seca (75 ml) se añade lentamente 1,1-carbonildiimidazol (15,16 g) en pequeñas porciones (desprendimiento de gas). La disolución resultante se agita 1,5 horas a TA. Luego se añade 4-(benciltio)-N'-hidroxibenzocarboximidamida (23,00 g) y la mezcla de reacción se agita a TA hasta que el material de partida reacciona completamente (aproximadamente 3 horas). La mezcla de reacción se calienta hasta 100°C y se agita 2 horas. A continuación, se añade agua hasta que se establece una ligera turbiedad y la mezcla de reacción se enfría hasta TA. El producto bruto se separa por filtración, se lava tres veces con agua y se seca a 65°C en la estufa de secado. Se obtienen 24,42 g (67% d. t.) del producto como sólido.

EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 2,98$  min

EM (ESI):  $m/z = 403$   $[M+H]^+$

60

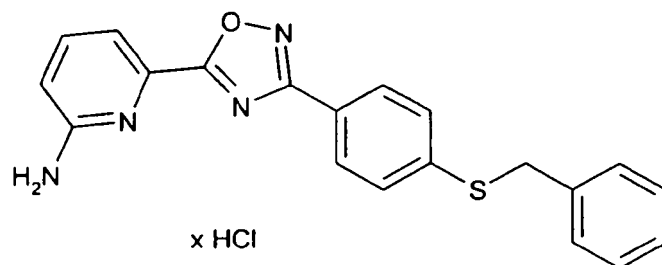
RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,96$  (s, 1H), 8,38 (d, 1H), 8,08 (t, 1H), 8,02-7,95 (m, 3H), 7,53 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,35-7,21 (m, 3H), 4,36 (s, 2H), 2,15 (s, 3H).

65

## ES 2 335 316 T3

### Ejemplo 4A

Clorhidrato de 6-(3-[4-(benciltio)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-il}piridin-2-amina



20 A N-(6-{3-[4-(benciltio)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-il}piridin-2-il)acetamida (40,55 g) en etanol (150 ml) se añaden agua (50 ml) y ácido clorhídrico concentrado (50 ml). La mezcla de reacción se calienta a reflujo hasta que el material de partida reacciona completamente (aproximadamente 3 horas) y a continuación se enfría hasta TA. El sólido se separa por filtración, se lava tres veces con etanol y se seca en una estufa de vacío a 80°C. Se obtienen 36,60 g (92% d. t.) del producto como sólido.

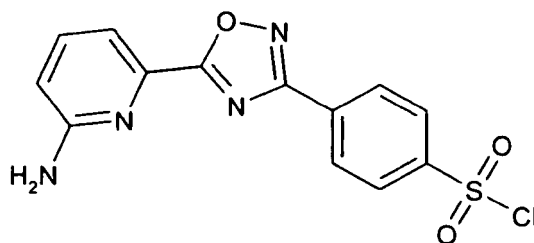
25 EM-CL (procedimiento 2):  $R_t = 2,76$  min

EM (ESI):  $m/z = 361$  [M+H]<sup>+</sup>

30 RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 7,95$  (d, 2H), 7,73 (t, 1H), 7,53 (d, 2H), 7,51 (m, 1H), 7,42 (d, 2H), 7,30 (t, 2H), 7,25 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 4,38 (s, 2H).

### Ejemplo 5A

35 Cloruro de 4-[5-(6-aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoesulfonilo



50 Se enfría 6-{3-[4-(benciltio)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-il}piridin-2-amina (35,95 g) en una mezcla de ácido acético (200 ml) y agua (100 ml) en un baño de hielo hasta 5°C. Poco a poco se introduce cloro hasta que el material de partida reacciona completamente (control por HPLC) no debiendo superar la temperatura 10°C. La mezcla de reacción se agita 15 min a 5°C y luego se diluye con agua con hielo (200 ml). El producto bruto se separa por filtración, se lava con agua con hielo (tres veces) y éter dietílico (tres veces) y a continuación se seca a vacío. Se obtienen 26,00 g (85% d. t.) del producto como sólido.

55 EM-CL (procedimiento 3):  $R_t = 2,22$  min

60 EM (ESI):  $m/z = 337$  [M+H]<sup>+</sup>.

65

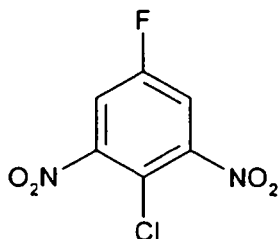
## ES 2 335 316 T3

### Ejemplo 6A

#### 2-Cloro-5-fluoro-1,3-dinitrobenzono

5

10



15

20 A 4-fluoro-2,6-dinitrofenol (26,00 g) en benceno (50 ml) se añaden sucesivamente DMF (10 ml) y cloruro de tionilo (14 ml). La disolución resultante se agita 5 min a TA (precipita un producto intermedio) y luego se calienta 1,5 horas a reflujo (o hasta que el material de partida reacciona completamente). La mezcla de reacción se enfría hasta TA, se concentra y el residuo se vierte en hielo/agua. El precipitado se separa por filtración, se lava tres veces con agua y se seca. Después de la recrystalización en etanol se obtienen 23,50 g (83% d. t.) del producto en forma cristalina.

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ = 8,56 (d, 2H).

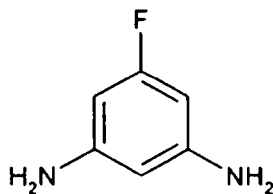
25

### Ejemplo 7A

#### 5-Fluoro-1,3-amino-benceno

30

35



40

45 A 2-cloro-5-fluoro-1,3-dinitrobenzono (10,00 g) en metanol (450 ml) se añaden trietilamina (12,6 ml) y paladio (10% sobre carbón) (6,0 g). La mezcla de reacción se hidrogena a TA bajo una presión de hidrógeno de 3 bar (0,3 MPa) hasta que el material de partida reacciona completamente (2 horas). La mezcla se filtra sobre Celite y se concentra. El residuo se recoge en DCM (150 ml) y se trata con disolución de ácido cítrico al 10%. La fase acuosa se basifica a continuación con solución cáustica 2 N y se extrae con DCM (tres veces cada vez con 100 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio y se concentra. Se obtienen 5,0 g (88% d. t.) del producto como un aceite.

EM-CL (procedimiento 4): R<sub>t</sub> = 0,58 min

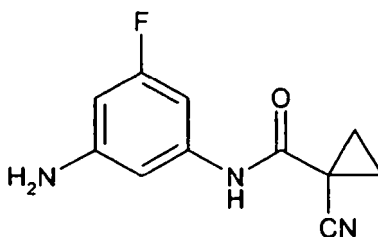
50

EM (ESI): m/z = 127 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 8A

#### N-(3-Amino-5-fluorofenil)-1-cianociclopropanocarboxamida

60



65

## ES 2 335 316 T3

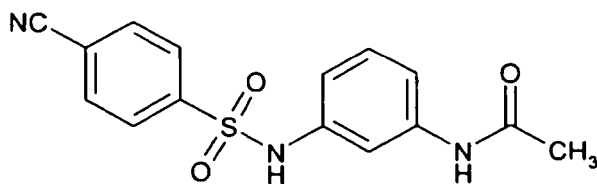
A ácido 1-cianociclopropanocarboxílico (2,05 g) en THF se añade 1,1-carbonildiimidazol (3,29 g) y la disolución resultante se agita 45 min a TA. Se añade 5-fluoro-1,3-amino-benceno (3,00 g) y se agita otras 2,5 horas. A continuación, la disolución de reacción se concentra, el residuo se recoge en DCM (150 ml) y se lava con agua. La fase acuosa se extrae dos veces con DCM. Los extractos orgánicos se reúnen, se secan sobre sulfato de sodio y se concentran. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (eluyente DCM a DCM-metanol 50:1). Después de concentrarse la fracción relevante se aíslan 2,35 g (58% d. t.) de producto.

EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 1,31$  min

EM (ESI):  $m/z = 220$   $[M+H]^+$ .

### Ejemplo 9A

15 *N*-(3-[[4-Cianofenil]sulfonil]amino)fenil)acetamida



25

Se disuelve 3'-aminoacetanilida (13,54 g) en 2-propanol (200 ml) y se mezcla con una disolución de acetato de sodio (8,51 g) en agua (100 ml) a TA. Se añade cloruro de 4-cianobenzosulfonilo (20,0 g), la mezcla de reacción se calienta hasta 30°C y se agita 3 horas a TA. La mezcla se vierte sobre hielo, el sólido resultante se separa por filtración, se lava con agua (tres veces) y a continuación se seca en la estufa de secado. Se obtienen 27,8 g (98% d. t.) de producto como sólido.

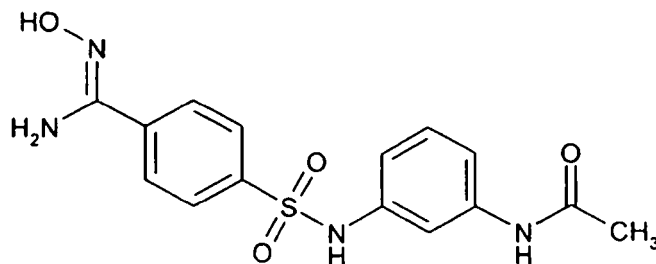
EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 1,79$  min

EM (ESI):  $m/z = 316$   $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,52$  (s, 1H), 9,94 (s, 1H), 8,05 (d, 2H), 7,90 (d, 2H), 7,46 (s, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,13 (t, 1H), 6,72 (d, 1H), 2,00 (s, 3H).

### Ejemplo 10A

20 *N*-(3-[[4-[(*Z*)-Amino(hidroxiimino)metil]fenil]sulfonil]amino)fenil)acetamida



55

Se dispone *N*-(3-[[4-cianofenil]sulfonil]amino)fenil)acetamida (27,00 g) en etanol (190 ml) y sucesivamente se añaden clorhidrato de hidroxilamina (7,14 g) y trietilamina (14,0 ml). La mezcla de reacción se agita 2 horas a 50°C y a continuación se vierte sobre hielo, se separa por filtración y se seca en una estufa de vacío. Se obtienen 25,78 g (86% d. t.) de producto como sólido.

EM-CL (procedimiento 1):  $R_t = 1,14$  min

EM (ESI):  $m/z = 349$   $[M+H]^+$ .

65

## ES 2 335 316 T3

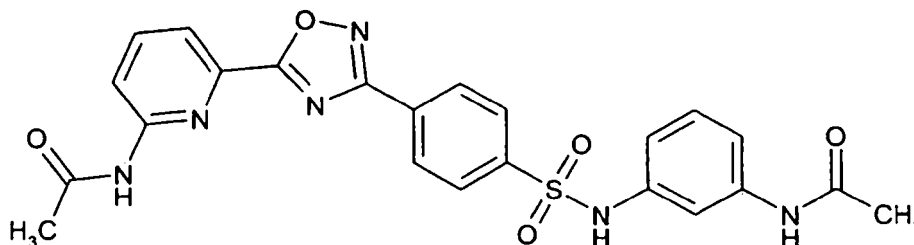
### Ejemplo 11A

*N*-(6-{3-[4-({3-(Acetilamino)fenil}amino)sulfonyl]fenil}-1,2,4-oxadiazol-5-il} piridin-2-il)acetamida

5

10

15



20

A ácido 6-acetilaminopiridin-2-carboxílico (10,86 g) en una mezcla de dioxano (100 ml) y DMF (60 ml) se añade gota a gota 1,1-carbonildiimidazol (9,78 g) disuelto en dioxano (100 ml) y se agita 3 horas a TA. Luego se añade *N*-{3-[(4-[(*Z*)-amino(hidroxiimino)metil]fenil)sulfonyl]amino]fenil}acetamida como sólido y la mezcla de reacción se agita 16 horas a TA. A continuación, la mezcla de reacción se agita 4 horas a 100°C y luego se vierte sobre hielo/agua. El producto se deja reposar 10 minutos, se separa por filtración, se lava con agua (tres veces) y se seca en una estufa de vacío. Se obtienen 25,55 g (90% d. t.) de producto como sólido.

25

HPLC (procedimiento 5):  $R_t = 4,03$  min

EM (ESI):  $m/z = 493$  [M+H]<sup>+</sup>.

30

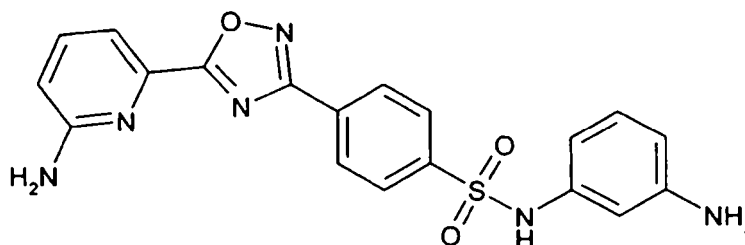
### Ejemplo 12A

*N*-(3-Aminofenil)-4-[5-(6-aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzosulfonamida

35

40

45



50

A *N*-(6-{3-[4-({3-(acetilamino)fenil}amino)sulfonyl]fenil}-1,2,4-oxadiazol-5-il} piridin-2-il)acetamida (20,00 g) en etanol (200 ml) se añade ácido clorhídrico al 15% (150 ml). La mezcla de reacción se agita 6 horas a reflujo y a continuación se ajusta en el calor a pH = 4 con solución cáustica al 10%. Se enfría hasta 5°C y se agita 16 horas. El producto bruto se filtra con succión, se lava con agua (dos veces) y a continuación se seca. Se obtienen 12,73 g (77% d. t.) de producto como sólido.

55

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

EM (ESI):  $m/z = 409$  [M+H]<sup>+</sup>

60

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,16$  (s a, 1H), 8,23 (d, 2H), 7,97 (d, 2H), 7,63 (t, 1H), 7,45 (d, 1H), 6,85 (t, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,58 (s a, 2H), 6,42 (s, 1H), 6,28 (t, 1H), 5,44 (s a, 2H).

65

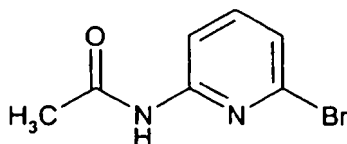
## ES 2 335 316 T3

### Ejemplo 13A

#### *N*-(6-Bromopiridin-2-il)acetamida

5

10



15

Se disponen 2-amino-6-bromopiridina (5,40 g) y cloruro de acetilo (2,66 ml) en cloruro de metileno (80 ml) y se calientan hasta 0°C. Luego se añade gota a gota trietilamina (6,53 ml) y a continuación se calienta con agitación hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se mezcla con disolución de hidrogenocarbonato de sodio al 10% y se extrae con cloruro de metileno. La fase orgánica se lava con agua y disolución saturada de cloruro sódico, se seca sobre sulfato de sodio y se concentra. Después de la cromatografía ultrarrápida (eluyente cloruro de metileno/metanol 1:0, 500:1) se obtienen 5,84 g (86% d. t.) de producto.

20

HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,66$  min

EM (DCI/NH<sub>3</sub>):  $m/z = 215$  y  $217$  [M+H]<sup>+</sup>,  $232$  y  $234$  [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,  $249$  y  $251$  (M+NH<sub>4</sub>+NH<sub>3</sub>)<sup>+</sup>

25

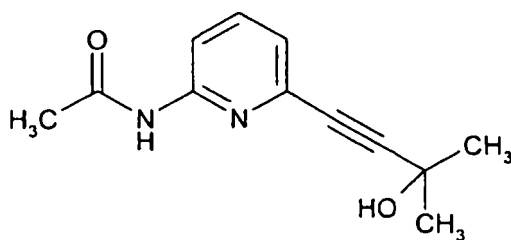
RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,79$  (s, 1H, NH), 8,08 (d, 1H), 7,71 (t, 1H), 7,31 (d, 1H), 2,09 (s, 3H).

### Ejemplo 14A

30

#### *N*-[6-(3-Hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)piridin-2-il]acetamida

35



40

45

Se dispone *N*-(6-bromopiridin-2-il)acetamida (5,84 g) en dietilamina (50 ml). Después de la adición de 2-metil-3-butin-2-ol (2,51 g), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (381 mg) y yoduro de cobre (I) (52 mg) se agita 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentra luego y se somete a cromatografía ultrarrápida (eluyente cloruro de metileno/metanol 200:1, 100:1, 50:1). Se obtienen 5,20 g (88% d. t.) de producto.

50

HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,30$  min

EM (procedimiento M-40, DCI/NH<sub>3</sub>):  $m/z = 219$  [M+H]<sup>+</sup>

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,68$  (s, 1H, NH), 8,05 (d, 1H), 7,75 (t, 1H), 7,14 (d, 1H), 5,55 (s, 1H, OH), 2,07 (s, 3H), 1,46 (s, 6H).

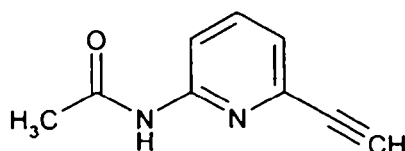
55

### Ejemplo 15A

60

#### *N*-(6-Etilpiridin-2-il)acetamida

65



## ES 2 335 316 T3

En tolueno (50 ml) se dispone N-[6-(3-hidroxi-3-metilbut-1-in-1-il)piridin-2-il]acetamida (5,20 g), se mezcla con hidruro de sodio (95 mg) y se agita 1,5 h a 120°C. La mezcla se concentra, el residuo se diluye con agua y se extrae con éster etílico de ácido acético. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se concentra y se somete a cromatografía ultrarrápida (eluyente cloruro de metileno/metanol 1:0, 500:1, 200:1, 100:1). Se obtienen 1,75 g (43% d. t.) de producto.

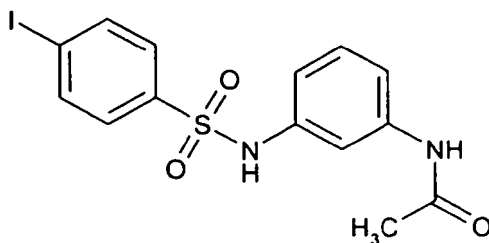
HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,18$  min

EM (procedimiento M-40, DCI/NH<sub>3</sub>):  $m/z = 161$  [M+H]<sup>+</sup>, 178 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>,

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,68$  (s, 1H, NH), 8,10 (d, 1H), 7,78 (t, 1H), 7,26 (d, 1H), 4,31 (s, 1H), 2,08 (s, 3H).

### Ejemplo 16A

*N*-(3-[[4-Yodofenil]sulfonil]amino)fenil)acetamida



Se dispone cloruro de ácido 4-yodobencilsulfónico (10,0 g) en iso-propanol (100 ml), se mezcla con acetato de sodio disuelto en un poco de agua (3,12 g) y se agita 30 min a temperatura ambiente. Luego se añade N-(3-aminofenil)acetamida (4,96 g) y además se agita durante la noche. La mezcla se diluye con agua y disolución saturada de cloruro sódico y se extrae con éster etílico de ácido acético. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se concentra y se somete a cromatografía ultrarrápida (eluyente cloruro de metileno/metanol 1:0, 100:1, 80:1). Se obtienen 9,62 g (70% d. t.) de producto.

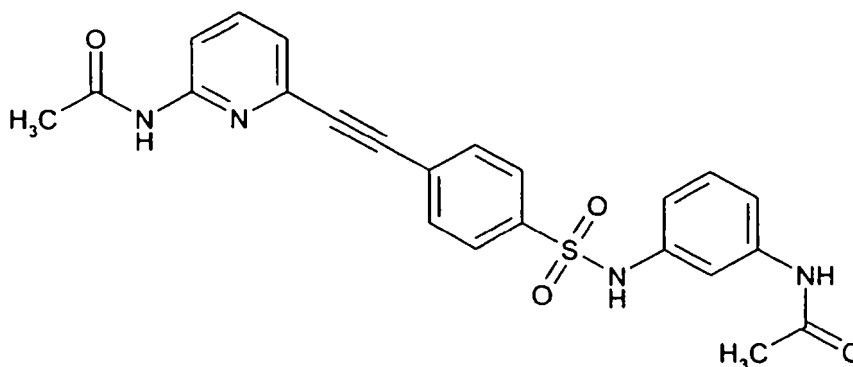
HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 4,14$  min

EM (ES<sup>+</sup>, ES<sup>-</sup>):  $m/z = 417$  [M+H]<sup>+</sup>, 415 [M-H],

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,31$  (s, 1H, NH), 9,91 (s, 1H, NH), 7,93 (d, 2H), 7,51 (d, 2H), 7,45 (s, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 6,73 (d, 1H), 2,00 (s, 3H).

### Ejemplo 17A

*N*-(6-[[4-([3-(Acetilamino)fenil]amino)sulfonil]fenil]etinil]piridin-2-il)acetamida



## ES 2 335 316 T3

En una atmósfera de argón se dispone N-(3-[[4-yodofenil]sulfonyl]amino)fenil)acetamida (4,60 g), tetrakis(trifluorofosfina)paladio (0) (1,28 g) y yoduro de cobre (I) (421 mg) en DMF, se mezcla con N-(6-etinilpiridin-2-il)acetamida (2,66 g) y trietilamina (15,4 ml) y se agita 2 h a temperatura ambiente. Luego se diluye con agua, se extrae en cloruro de metileno, la fase orgánica se seca y se somete a cromatografía ultrarrápida (eluyente cloruro de metileno/metanol 1:0, 200:1, 100:1, 50:1, 30:1). Se obtienen 3,56 g (48% d. t.) de producto.

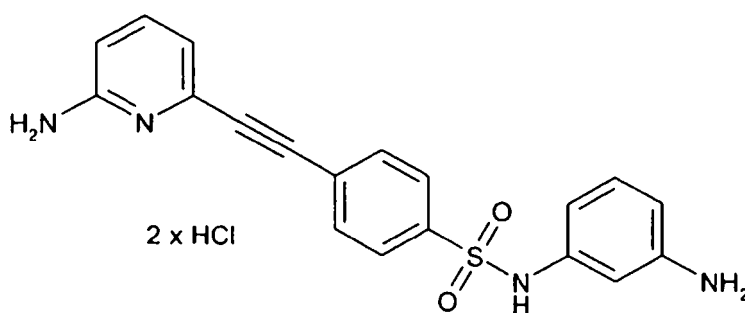
HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,86$  min

EM (ES<sup>+</sup>, ES<sup>-</sup>):  $m/z = 449$  [M+H]<sup>+</sup>, 447 [M-H]<sup>-</sup>,

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,76$  (s, 1H, NH), 10,38 (s, 1H, NH), 9,93 (s, 1H, NH), 8,13 (d, 1H), 7,88-7,78 (m, 3H), 7,73 (d, 2H), 7,48 (s, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,12 (t, 1H), 6,76 (d, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,00 (s, 3H).

### Ejemplo 18A

*Diclorhidrato de N-(3-aminofenil)-4-[(6-aminopiridin-2-il)etnil]benzosulfonamida*



Se dispone N-(6-[[4-([3-(acetilamino)fenil]amino)sulfonyl]fenil]etnil]piridin-2-il)acetamida (3,12 g) en etanol (45 ml), se mezcla con ácido clorhídrico al 20% (45 ml) y se agita 3 h a 60°C. La mezcla de reacción se concentra y el residuo se agita con acetonitrilo. Después de la filtración con succión, el lavado adicional y el secado a alto vacío se obtienen 3,45 g (cuant.) de producto.

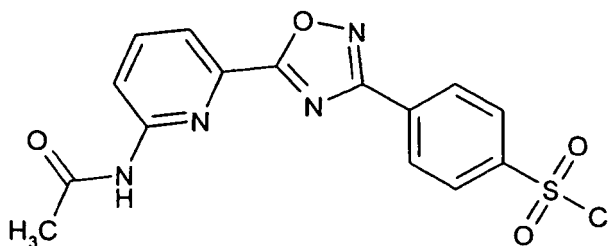
HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,65$  min

EM (ES<sup>+</sup>, ES<sup>-</sup>):  $m/z = 365$  [M+H]<sup>+</sup>, 363 [M-H]<sup>-</sup>,

RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta = 10,70$  (s, 1H, NH), 7,91-7,78 (m, 5H), 7,24 (t, 1H), 7,09 (d, 1H), 7,02 (s, 1H), 6,96-6,83 (m, 3H).

### Ejemplo 19A

*Cloruro de 4-[5-(6-acetilaminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzosulfonilo*



Se agita N-(6-[3-[4-(bencilio)fenil]-1,2,4-oxadiazol-5-il]piridin-2-il)acetamida (11,55 g) en una mezcla de ácido acético (80 ml) y agua (50 ml) en un baño de hielo y se enfría hasta 5°C. Poco a poco se introduce cloro hasta que el material de partida reacciona completamente (control por HPLC) no debiendo superar la temperatura 10°C. La mezcla de reacción se agita 15 min a 5°C y luego se diluye con agua con hielo (100 ml). El producto bruto se separa por filtración, se lava con agua con hielo (tres veces) y éter dietílico (tres veces) y a continuación se seca a vacío. Se obtienen 9,60 g (88% d. t.) del producto como sólido.

## ES 2 335 316 T3

EM-CL (procedimiento 3):  $R_t = 2,31$  min

EM (ESI):  $m/z = 379$   $[M+H]^+$

5

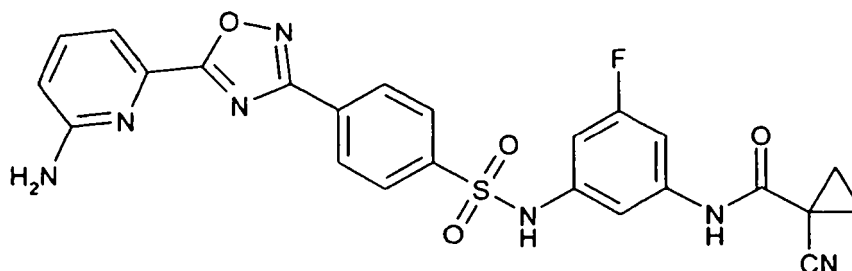
### Ejemplos de realización

#### Ejemplo 1

10 *N*-{3-[(4-[5-(6-Aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil)sulfonylamino]-5-fluorofenil}-1-cianociclopropanocarboxamida

15

20



25

A cloruro de 4-[5-(6-aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoesulfonilo (3,78 g) en piridina seca (120 ml) se añade *N*-(3-amino-5-fluorofenil)-1-cianociclopropanocarboxamida (2,46 g). La disolución resultante se agita 18 horas a TA y a continuación se vierte en hielo/agua. El producto bruto se separa por filtración, se lava con agua y se seca. Después de la cromatografía sobre gel de sílice (cloruro de metileno a cloruro de metileno/metanol 50:1) y la concentración de las fracciones relevantes se aíslan 2,28 g (40% d. t.) de producto.

30

EM-CL (procedimiento 3):  $R_t = 2,07$  min

EM (ESI):  $m/z = 520$   $[M+H]^+$

35

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 8,37$  (d, 2H), 8,01 (d, 2H), 7,64 (t, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,21 (d a, 1H), 6,73 (d, 1H), 6,68 (d a, 1H), 6,56 (s a, 2H), 1,65 (s, 4H).

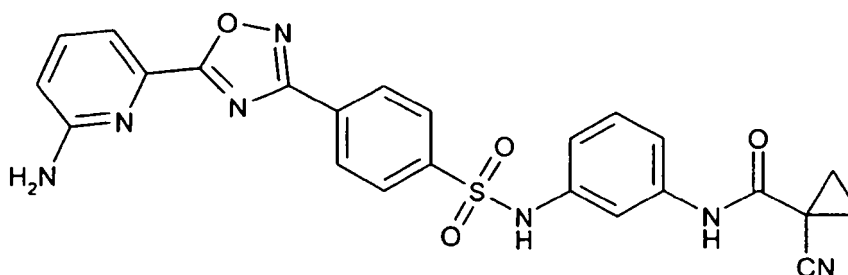
40

#### Ejemplo 2

45 *N*-{3-[(4-[5-(6-Aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil)sulfonylamino]fenil}-1-cianociclopropanocarboxamida

45

50



55

Se dispone *N*-(3-aminofenil)-4-[5-(6-aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzoesulfonamida (4,50 g) en DMF seca (110 ml), se añaden HATU (6,28 g), ácido 1-cianociclopropanocarboxílico (2,45 g) y *N,N*-diisopropiletilamina (2,90 ml) y la mezcla de reacción se agita 1 h bajo argón a TA y a continuación se concentra. El residuo se somete a cromatografía sobre gel de sílice (eluyente cloruro de metileno/metanol 100:1 a 20:1). Después de concentrarse las fracciones de interés pueden aislarse 4,99 g (90% d. t.) de producto.

60

EM-CL (procedimiento 2):  $R_t = 2,13$  min

65

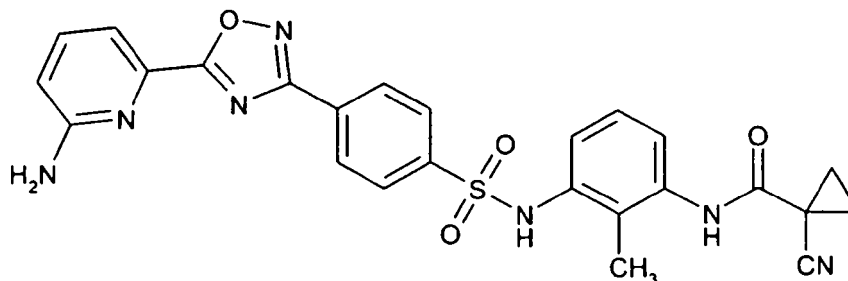
EM (ESI):  $m/z = 502$   $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,47$  (s, 1H), 10,06 (s, 1H), 8,23 (d, 2H), 7,97 (d, 2H), 7,64 (t, 1H), 7,53 (s, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,28 (d, 1H), 7,17 (t, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 1,65 (s, 4H).

## ES 2 335 316 T3

### Ejemplo 3

*N*-{3-[(4-[5-(6-Aminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil)sulfonylamino]-2-metilfenil}-1-cianociclopropanocarboxamida



La preparación se realiza análogamente al ejemplo 2 a partir de 3'-amino-2'-metilfenilacetamida.

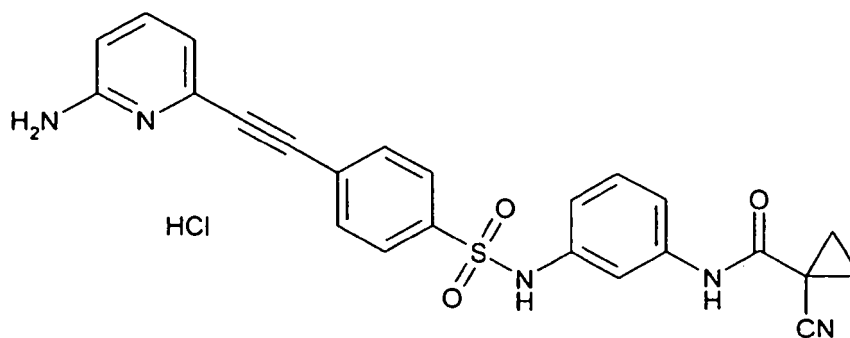
EM-CL (procedimiento 3):  $R_t = 1,91$  min

EM (ESI):  $m/z = 516$   $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 9,91$  (s, 1H), 9,67 (s, 1H), 8,26 (d, 2H), 7,87 (d, 2H), 7,65 (t, 1H), 7,47 (d, 1H), 7,10 (m, 2H), 6,84 (dd, 1H), 6,76 (d, 1H), 1,91 (s, 3H), 1,63 (m, 4H).

### Ejemplo 4

Clorhidrato de *N*-{3-[(4-[(6-aminopiridin-2-il)etnil]fenil)sulfonylamino]fenil}-1-cianociclopropanocarboxamida



Se agitan diclorhidrato de *N*-(3-aminofenil)-4-[(6-aminopiridin-2-il)etnil]benzosulfonamida (750 mg), ácido 1-cianociclopropanoico (229 mg), HATU (783 mg) y *N,N*-diisopropiletilamina (1,04 ml) en DMF seca (7 ml) durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purifica directamente por HPLC preparativa (eluyente agua (con ácido clorhídrico al 1%)/acetonitrilo, flujo 50 ml/min) y se obtienen 400 mg (47% d. t.) de producto.

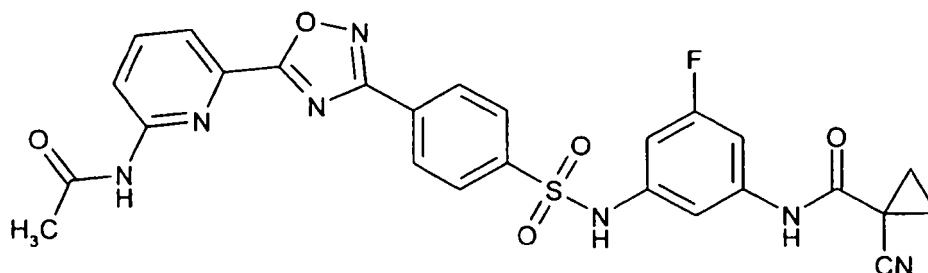
HPLC (procedimiento 6):  $R_t = 3,87$  min

EM (ES $^+$ , ES $^-$ ):  $m/z = 458$   $[M-HCl+H]^+$ , 456  $[M-HCl-H]^-$ ,

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,45$  (s, 1H, NH), 10,07 (s, 1H, NH), 7,83 (d, 2H), 7,79-7,66 (m, 3H), 7,51 (s, 1H), 7,27 (d, 1H), 7,17 (t, 1H), 7,01 (d, 1H), 6,82 (d, 2H), 1,65 (s, 4H).

## Ejemplo 5

*N*-[3-[(4-[5-(6-Acetilaminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil)sulfonylamino]-5-fluorofenil]-1-cianociclopropanocarboxamida



A cloruro de 4-[5-(6-acetilaminopiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]benzulfonilo (148 mg) en piridina seca (2 ml) se añade *N*-(3-amino-5-fluorofenil)-1-cianociclopropanocarboxamida (100 mg). La disolución resultante se agita 18 horas a TA y a continuación se vierte sobre hielo/agua. El producto bruto se separa por filtración, se lava con agua y se seca. Después de la RP-HPLC preparativa (eluyente gradiente de acetonitrilo:agua) y la concentración de las fracciones de interés se aíslan 53 mg (24% d. t.) de producto.

EM-CL (procedimiento 7):  $R_t = 2,46$  min

EM (ESI):  $m/z = 562$   $[M+H]^+$

RMN  $^1H$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta = 10,99$  (s, 1H), 10,78 (s, 1H), 10,26 (s, 1H), 8,40 (d, 1H), 8,17 (d, 2H), 8,06 (m, 4H), 7,37 (s, 1H), 7,21 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 2,15 (s, 3H), 1,66 (s, 4H).

### B. Valoración de la eficacia fisiológica

El efecto *in vitro* de los compuestos según la invención puede mostrarse en los siguientes ensayos:

#### Prueba de citopatogenia anti-CMVH (*anti-citomegalovirus humano*)

Los compuestos de prueba se utilizan como disoluciones 50 milimolar (mM) en dimetilsulfóxido (DMSO). Ganciclovir sirve de compuesto de referencia. Después de la adición de respectivamente 2  $\mu$ l de las disoluciones madre de DMSO 50, 5, 0,5 y 0,05 mM a cada 98  $\mu$ l de medio de cultivo celular en la fila 2 A-H en determinación doble se realizan diluciones 1:2 cada vez con 50  $\mu$ l de medio hasta la fila 11 de la placa de 96 pocillos. Los pocillos en las filas 1 y 12 contienen cada uno 50  $\mu$ l de medio. Entonces, en cada pocillo se pipetea 150  $\mu$ l de una suspensión de  $1 \times 10^4$  células (fibroblastos de prepucio humano [NHDF]) (fila 1 = control de células) o en las filas 2-12 una mezcla de células de NHDF infectadas con CMVH y sin infectar (M.O.I. = 0,001 - 0,003), es decir, 1-3 células infectadas en 1000 células no infectar. La fila 12 (sin sustancia) sirve de control del virus. Las concentraciones de prueba finales se encuentran a 250 - 0,0005  $\mu$ M. Las placas se incuban durante 6 días a 37°C/5% de CO<sub>2</sub>, es decir, hasta que todas las células estén infectadas en los controles de virus (100% de efecto citopatógeno [ECP]). Entonces, los pocillos se fijan y se tiñen mediante la adición de una mezcla de formalina y colorante de Giemsa (30 minutos), se lavan con agua bidestilada y se secan en una estufa de secado a 50°C. Después de evaluar visualmente las placas con un microscopio superior (Plaque Multiplier de la empresa Technomara).

De las placas de prueba se determinaron los siguientes datos:

$CC_{50}$  (NHDF) = concentración de sustancia en  $\mu$ M a la que no puede apreciarse ningún efecto citostático visible en las células en comparación con controles de células sin tratar;

$CE_{50}$  (CMVH) = concentración de sustancia en  $\mu$ M que inhibe el 50% el ECP (efecto citopático) en comparación con controles de virus sin tratar;

IS (índice de selectividad) =  $CC_{50}$  (NHDF)/ $CE_{50}$  (CMVH).

En la tabla A se reproducen los datos de acción *in vitro* representativos para los compuestos según la invención:

# ES 2 335 316 T3

TABLA A

Ejemplo nº	CC <sub>50</sub> de NHDF [ $\mu$ M]	CE <sub>50</sub> de CMVH [ $\mu$ M]	IS de CMVH
1	71	0,011	6450
2	141	0,007	20140
3	102	0,002	51000
4	47	0,021	2240
5	71	0,026	2730

La idoneidad de los compuestos según la invención para el tratamiento de infecciones por CMVH puede mostrarse en el siguiente modelo animal:

### Modelo Gelfoam® de xenoinjerto de CMVH

#### Animales

Se compran ratones inmunodeficientes hembra de 5-6 semanas de edad (16-20 g), Fox Chase SCID.NOD o NOD.CB17-Prkdc/J, de criadores comerciales (Taconic M&B, Dinamarca; Jackson, EE.UU.). Los animales se mantienen en condiciones estériles (incluyendo la paja y el pienso) en aisladores.

#### Cultivo de virus

El citomegalovirus humano (CMVH), cepa Davis o AD169, se cultiva *in vitro* en fibroblastos de prepucio embrionario humano (células de NHDF). Después de la infección de las células de NHDF con una multiplicidad de la infección (M.O.I) de 0,01-0,03, las células infectadas por el virus se recogen 5-10 días después y se conservan en presencia de medio mínimo esencial (MEM), suero bovino fetal al 20% (SBF) (v/v), glutamina al 1% (v/v), Pen/Strep al 1% (v/v) con DMSO al 10% a -80°C. Después de la dilución seriada en etapas de diez de las células infectadas por el virus, la determinación de los títulos se realiza en placas de 24 pocillos de células de NHDF confluentes después de la fijación y la tinción con una disolución de Giemsa-formaldehído.

#### Preparación de las esponjas, trasplante, tratamiento y evaluación

Esponjas de colágeno de 1x1x1 cm de tamaño (Gelfoam®; empresa Pease & Lorey, nº de catálogo 407534; K.T. Chong y col., Abstracts of 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1999, pág. 439) se humedecen inicialmente con solución salina tamponada con fosfato (PBS), las burbujas de aire incluidas se eliminan mediante desgasificación y luego se conservan en MEM, SBF al 10% (v/v), glutamina al 1% (v/v), Pen/Strep al 1% (v/v). 1 x 10<sup>6</sup> células de NHDF infectadas por el virus (infección con M.O.I de Davis de CMVH o AD169 de CMVH = 0,03) se desprenden 3 horas después de la infección y se añaden gota a gota en 20  $\mu$ l de MEM, SBF al 10% (v/v), glutamina al 1% (v/v), Pen/Strep al 1% (v/v) sobre una esponja húmeda. Las esponjas se incuban 3-4 horas para hacer posible la adhesión de las células. A continuación, las esponjas se incuban después de la adición de medio (MEM, SBF al 10%) (v/v), glutamina al 1% (v/v), Pen/Strep al 1% (v/v)) durante la noche. Para el trasplante, los ratones inmunodeficientes se anestesian con avertina o con una mezcla de ketamina/xilazina/acepromazina, se quita la piel de la espalda con ayuda de una cuchilla, la epidermis se abre 1-2 cm, se quita y las esponjas húmedas se trasplantan debajo de la piel de la espalda. La herida de la operación se cierra con pegamento para tejidos. 4-6 horas después del trasplante, los ratones pueden tratarse por primer vez (en el día de la operación se trata una vez). En los siguientes días se tratan peroralmente con sustancia durante un periodo de tiempo de 8 días tres veces al día (7:00 horas y 14:00 horas y 19:00 horas), dos veces al día (8:00 horas y 18:00 horas) o una vez al día (9:00 horas). La dosis diaria asciende a, por ejemplo, 1 ó 3 ó 10 ó 30 ó 100 mg/kg de peso corporal, el volumen de administración es 10 ml/kg de peso corporal. La formulación de las sustancias se realiza en forma de una suspensión de tilosa al 0,5%/PBS con DMSO al 2% u otra mezcla adecuada que ayude a la solubilidad de las sustancias, por ejemplo, 2% de etanol, 2,5% de solutol, 95,5% de PBS. 10 días después del trasplante y aproximadamente 16 horas después de la última administración de sustancia, los animales se sacrifican de forma indolora y se extrae la esponja. Las células infectadas por el virus se liberan de la esponja mediante digestión con collagenasa (330 U/1,5 ml) y se conservan en presencia de MEM, SBF al 10% (v/v), glutamina al 1% (v/v), Pen/Strep al 1% (v/v), DMSO al 10% a -140°C. La evaluación se realiza después de la dilución seriada en etapas de diez de las células infectadas por el virus mediante la determinación de los títulos en placas de 24 pocillos de células de NHDF confluentes después de la fijación y la tinción con una disolución de Giemsa-formaldehído. Se determina el número de células infectadas o partículas virales infecciosas (ensayo de centro infeccioso) después del tratamiento con la sustancia en comparación con el grupo de control tratado con placebo. La evaluación estadística se realiza mediante un programa informático adecuado, por ejemplo, GraphPad Prism.

## ES 2 335 316 T3

### *Investigaciones farmacocinéticas*

La farmacocinética de las sustancias activas se investiga después de la administración intravenosa o por vía oral de dosis en el intervalo de 1 mg/kg i.v. y 3 mg/kg p.o. en respectivamente tres ratas Wistar macho por vía de administración. Para hacer posible una extracción de sangre repetida, a los animales se les implanta el día antes del experimento un catéter en la vena yugular. Las sustancias se administran tanto intravenosa como oralmente como disolución. En este caso, la mayoría de las veces se usa para la administración intravenosa una formulación de plasma (plasma de rata con 1-2% de etanol o DMSO, 2 ml/kg) y para la administración peroral una formulación de PEG (10% de etanol, 40% PEG 400, 50% de agua, 5 ml/kg).

Después de la administración de la sustancia activa se recogen durante 24 h muestras de sangre por el catéter en tubos de ensayo provistos de heparina. A continuación de la extracción de sangre, las muestras de sangre se centrifugan y el sobrenadante de plasma se pipetea y se vierte en tubos Eppendorf. Las muestras de plasma se conserva a al menos -15°C hasta que se realiza el análisis.

Para el procesamiento, las muestras se descongelan. A continuación, las proteínas plasmáticas se precipitan mediante adición de acetonitrilo que está provisto de un patrón interno. Como patrón interno se elige una sustancia estructuralmente similar al principio activo de la misma clase de estructura. Para la preparación de muestras de calibrado se mezclan alícuotas de plasma vacío con diferentes concentraciones de la sustancia activa y se procesan conjuntamente con las muestras desconocidas. Adicionalmente se preparan muestras de control de calidad con tres concentraciones distintas que sirven para validar la analítica.

La determinación de la sustancia activa en las muestras se realiza mediante cromatografía de líquidos de alta resolución con detección por espectrometría de masas (EM/CL-EM). Las concentraciones de sustancia activa en las muestras desconocidas se determinan basándose en sus alturas o áreas de pico relativas en comparación con la curva de calibrado con el programa Concalc para windows (CCW, Integrierte Labordatensysteme, versión 2.5 o posteriores, Bayer AG). A continuación, a partir de los desarrollos individuales para animales de la concentración plasmática con el tiempo se calculan los parámetros farmacocinéticos mediante análisis no compartimental con ayuda del programa KINCALC, versión 2.50.02 (Bayer AG, 2001).

Los compuestos que muestran el perfil farmacocinético mejorado deseado en la rata también se investigan farmacocinéticamente a continuación después de la administración a ratones y perros. Basándose en estos datos se realiza una primera estimación de la farmacocinética humana mediante un escalado entre especies según Boxenbaum.

A partir de estas pruebas pueden determinarse los siguientes datos:

$V_{ss}$ : volumen de distribución

CL: velocidad de eliminación

$t_{1/2}$ : semivida

ABC: área total bajo la curva de la concentración de principio activo con el tiempo

$C_{m\acute{a}x}$ : concentración máxima

F: biodisponibilidad

En la Tabla B se representan los datos farmacocinéticos para el compuesto del ejemplo 1 después la administración intravenosa y peroral única a ratas Wistar macho ( $n = 3$  por momento o  $n=3$ ). Los compuestos de la invención muestran un comportamiento farmacocinético mejorado.

## ES 2 335 316 T3

TABLA B

<b>Rata Wistar</b>		
Dosis i.v.	1,3 mg/kg i.v., <sup>1</sup>	
$V_{ss}$	[l/kg]	0,321
$CL_{plasma}$	[l/(h·kg)]	0,064
$CL_{sangre}$	[l/(h·kg)]	0,128
$t_{1/2}$	[h]	4,26
Dosis p.o.	3 mg/kg p.o., <sup>2</sup>	
$ABC_{norm, po.}$	[kg·h/l]	8,58
$C_{m\acute{a}x, norm, p.o.}$	[kg/l]	1,08
F	[%]	55,3
<sup>1</sup> : disolución en plasma de rata con DMSO al 1%, 2 ml/kg <sup>2</sup> : disolución en 10% de etanol, 40% de PEG 400, 50% de agua, 5 ml/kg		

5

10

15

20

25

30

### Identificación de metabolitos

35

Las diferencias entre especies en el metabolismo de un principio activo pueden tener una gran influencia en su capacidad de desarrollo. El objetivo es encontrar sustancias que no se diferencian significativamente en las rutas de degradación metabólicas entre el ser humano y las especies TOX corrientes como, por ejemplo, rata y perro. Además, para comparar el metabolismo de fase I, primero se incuban nuevos principios activos *in vitro* con microsomas hepáticos de rata, perro y ser humano. A continuación, los compuestos todavía interesantes se incuban adicionalmente en hepatocitos de rata y ser humano para obtener y para comparar un metabolismo de fase I y fase II hepático completo.

40

Todos los nuevos principios activos se incuban con una concentración de 20  $\mu$ M. Además, se preparan disoluciones madre con una concentración 2 mM en acetonitrilo que luego se vierten con pipeta con una dilución 1:100 en la mezcla de incubación para tener como máximo el 1% de acetonitrilo en la mezcla. Los microsomas hepáticos se incuban en tampón de fosfato 50 mM, pH 7,4, con y sin sistema generador de NADPH constituido por NADP<sup>+</sup> 1 mM, glucosa-6-fosfato 10 mM y 1 unidad de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, a 37°C. Los hepatocitos primarios también se incuban en suspensión en medio Williams E a 37°C. Después de un tiempo de incubación de 0 - 4 h, las mezclas de incubación se detienen con acetonitrilo (concentración final de aproximadamente el 30%) y la proteína se separa por centrifugación a aproximadamente 15000 x g. Las muestras así detenidas o se analizan directamente o se guardan a -20°C hasta el análisis.

45

50

El análisis se realiza mediante cromatografía de líquidos de alta resolución con detección por espectrometría ultravioleta y de masas (HPLC-UV-EM). Además, los sobrenadantes de las muestras de incubación se someten a cromatografía con columnas de fase inversa C18 adecuadas y mezclas variables de acetonitrilo y formiato de amonio 10 mM. Los cromatogramas de UV junto con los datos de espectrometría de masas sirven para identificar los metabolitos. Los perfiles de metabolitos así producidos de las especies investigadas por separado se comparan y sirven para establecer diferencias entre especies.

55

### C. Ejemplos de realización de composiciones farmacéuticas

60

Los compuestos según la invención pueden convertirse en preparaciones farmacéuticas de la siguiente manera:

#### Comprimidos

##### Composición

65

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) (empresa BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio.

Peso del comprimido 212 mg. Diámetro 8 mm, radio de curvatura 12 mm.

## ES 2 335 316 T3

### *Preparación*

La mezcla del principio activo, lactosa y almidón se granula con una disolución al 5% (m/m) de PVP en agua. El gránulo se mezcla después del secado con el estearato de magnesio durante 5 min. Esta mezcla se prensa con una prensa de comprimidos habitual (forma de los comprimidos, véase anteriormente). Como valor de consigna para la compresión se usa una fuerza de compresión de 15 kN.

### *Suspensión que puede administrarse por vía oral*

#### *Composición*

1000 mg del compuesto del ejemplo 1, 1000 mg de etanol (96%), 400 mg de Rhodigel (goma xantana de la empresa FMC, Pensilvania, EE.UU.) y 99 g de agua.

Una monodosis de 100 mg del compuesto según la invención se corresponde con 10 ml de suspensión oral.

#### *Preparación*

El Rhodigel se suspende en etanol, el principio activo se añade a la suspensión. Con agitación se realiza la adición del agua. Hasta terminar el hinchamiento del Rhodigel se agita aproximadamente 6 h.

### *Disolución que puede administrarse por vía intravenosa*

#### *Composición*

10-500 mg del compuesto de ejemplo 1, 15 g de polietilenglicol 400 y 250 g de agua para fines de inyección.

#### *Preparación*

El compuesto del ejemplo 1 se disuelve junto con polietilenglicol 400 en el agua con agitación. La disolución se esteriliza por filtración (diámetro de poro 0,22  $\mu\text{m}$ ) y se envasa en condiciones asépticas en botellas de infusión esterilizadas por calor. Éstas se cierran con tapones de infusión y tapas rebordeadas.

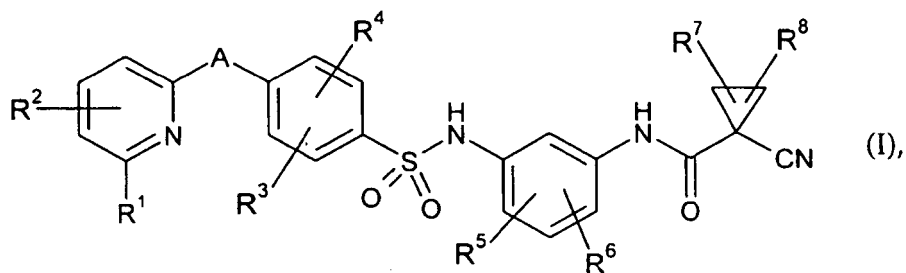
REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula

5

10

15



20 en la que

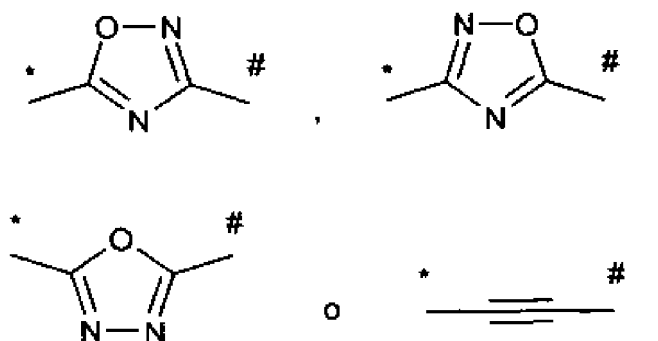
A representa un grupo de fórmula

25

30

35

40



en las que

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo,

45

y

# es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

50

R<sup>1</sup> representa hidrógeno, amino o metilcarbonilamino,

R<sup>2</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>3</sup> representa hidrógeno, halógeno o ciano,

55

R<sup>4</sup> representa hidrógeno, halógeno o ciano,

R<sup>5</sup> representa hidrógeno o halógeno,

60

R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>7</sup> representa hidrógeno, halógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

R<sup>8</sup> representa hidrógeno, halógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>,

65

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

## ES 2 335 316 T3

2. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado** porque

A representa un grupo de fórmula

5

10



en las que

15

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo,

y

20

# es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

R<sup>1</sup> representa hidrógeno, amino o metilcarbonilamino,

25

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representan hidrógeno,

R<sup>1</sup> representa hidrógeno o halógeno,

R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

30

R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> representan hidrógeno,

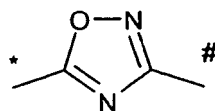
o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

35

3. Compuesto según la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado** porque

A representa un grupo de fórmula

40



45

en la que

50

\* es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de piridinilo,

y

# es el punto de unión al átomo de carbono del anillo de fenilo,

55

R<sup>1</sup> representa amino o metilcarbonilamino,

R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> representan hidrógeno,

60

R<sup>5</sup> representa hidrógeno,

R<sup>6</sup> representa hidrógeno o halógeno,

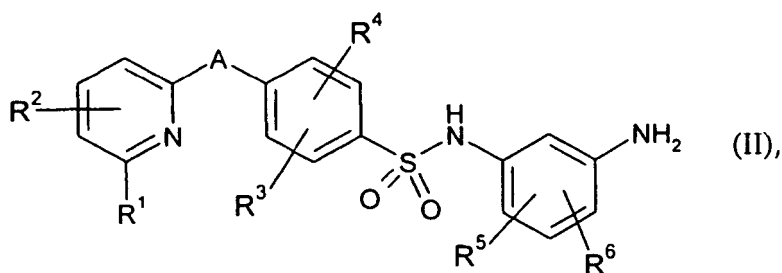
R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> representan hidrógeno,

65

o una de sus sales, sus solvatos o los solvatos de sus sales.

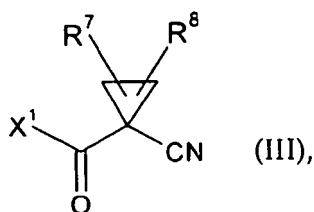
## ES 2 335 316 T3

4. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) según reivindicación 1, **caracterizado** porque un compuesto de fórmula



en la que

20 A, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> tienen los significados especificados en la reivindicación 1, se hace reaccionar con un compuesto de fórmula



en la que

35 R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> tienen los significados especificados en la reivindicación 1, y X<sup>1</sup> representa halógeno, preferiblemente cloro o bromo, o hidroxilo.

40 5. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades.

6. Fármaco que contiene un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 en combinación con un coadyuvante inerte no tóxico farmacéuticamente adecuado.

45 7. Uso de un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un fármaco para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones por virus.

8. Uso según la reivindicación 7, **caracterizado** porque la infección por virus es una infección por el citomegalovirus humano (CMVH) u otro representante del grupo de los herpesvirus.

50 9. Fármaco según la reivindicación 6 para el tratamiento y/o la profilaxis de infecciones por virus.

10. Uso de una cantidad antiviralmente eficaz de al menos un compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 3, de un fármaco según la reivindicación 6 o de un fármaco obtenido según la reivindicación 7 u 8 para la preparación de un medicamento para combatir infecciones por virus en seres humanos y animales.