

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 960 698**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/5025** (2006.01)

**A61K 31/519** (2006.01)

**A61P 31/12** (2006.01)

**A61P 31/14** (2006.01)

**A61P 31/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.08.2019 PCT/EP2019/072220**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.04.2020 WO20074159**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.08.2019 E 19759312 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.07.2023 EP 3864017**

54 Título: **Derivados de 2,6-Dimetil-N-((Piridin-4-IL)Metil)Imidazo[1,2-B]Piridazin-8-Amina y 2,5-Dimetil-N-((Piridin-4-IL)Metil)Pirazolo[1,5A]Pirimidin-7-Amina para el tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

**10.10.2018 EP 18199486**

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

**06.03.2024**

73 Titular/es:

**CUROVIR AB (100.0%)  
P.O. Box 716  
391 27 Kalmar, SE**

72 Inventor/es:

**WESTMAN, JACOB**

74 Agente/Representante:

**CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel**

ES 2 960 698 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de 2,6-Dimetil-N-((Piridin-4-IL)Metil)imidazo[1,2-B]Piridazin-8-Amina y 2,5-Dimetil-N-((Piridin-4-IL)Metil)Pirazolo[1,5A]Pirimidin-7-Amina para el tratamiento de infecciones virales

5 Campo de la invención

La presente invención, en general, se refiere a compuestos que tienen utilidad en terapia, en específico el tratamiento de afecciones causadas por ciertos virus, tales como, resfriado, encefalitis, meningitis, miocarditis, conjuntivitis, pancreatitis, así como diabetes, cáncer y enfermedades degenerativas, tales como enfermedad de Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica. Más específicamente, la invención se refiere a ciertos compuestos heteroaromáticos amino-sustituidos y su uso en terapia.

15 Antecedentes de la invención

El pirazolo[1,5-a]pirimidina es un andamio de uso común en la química farmacéutica y los derivados del mismo son conocidos por sus potentes utilidades como analgésicos, antagonistas de los receptores de benzodiazepinas, antagonistas del receptor de angiotensina II, inhibidores de la angiogénesis, agentes antiinflamatorios, antagonistas del receptor del neuropéptido Y, inhibidor de COX2 y receptor de la hormona liberadora de corticotropina tipo 1 y como inhibidores de CHK1 (por ejemplo, Mayo et al (Adv. Synth Catal. 2003, 345, 620-624; Tellew et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2010, 20, 7259-7264); Chen et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004, 14, 3669-3673); Labroli et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2011, 21, 471-474); Griffith et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2011, 21, 2641-2645); Gilligan et al, (J. Med. Chem. 2009, 52, 3073-3083); He et al. (No. de patente norteamericana No. 6.313.124 B1); y Wren et al. (WO 2010/086040).

25 También se ha descrito el andamio en los inhibidores de fosfatidilinositol 4-cinasa (PI4K). Bianco et al (PLoS Pathogens, 2012, 8(3), 1-17) y LaMarche et al (Antimicrob. Agents and Chemother. 2012, 56(10), 5149-5156) han mostrado que PI4K es importante para el virus de hepatitis C (VHC). Chem. 2012, 287(11), 8547-8467) han mostrado lo mismo para coronavirus. McLeod et al (ACS Med. Chem. Lett. 2013, 4(7), 585-589) y van der Schaar et al (Antimicrobial Agents Chemother. 2013, 57(10), 4971-4981) han mostrado algunos derivados de imidazopirazina que inhiben el P14K que son potentes antivirales contra los picornavirus.

30 Gudmundsson et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009, 19, 5689-5692) han divulgado algunas 3-arilpirazolo [1,5-a] pirimidinas con potente actividad contra virus del herpes

35 Hwang et al (Bioorg. Med. Chem. Lett. 2012, 22, 7297-7301) han descrito a las 3-arilpirazolo [1,5-a] pirimidinas como inhibidores de PI4K que tienen efectos anti VHC. Décor et al (Bioorg Med Chem Lett. 2013, 23, 3841-7) también han mostrado que PI4K es importante para la replicación de los enterovirus. Sin embargo, también han mostrado que los inhibidores de PI4K (no 3-arilpirazolo [1,5-a] pirimidinas 3-arilpirazolo [1,5-a] pirimidina 3-(3,4-dimetoxifenil)-2,5-dimetil-N-(2-morfolinoetil)pirazolo[1,5-a] pirimidin-7-amina (llamado T-00127-HEV1)) cuando se probaron in vivo indujeron mortalidad en ratones, lo cual planteó dudas sobre la seguridad de la inhibición de PI4K.

40 En la WO 2015/110491, ciertas -arilpirazolo [1,5-a] pirimidinas se describen como inhibidores de PI4K para el tratamiento de virus que inducen enfermedades.

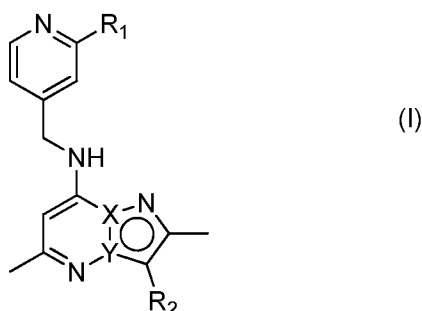
45 Se han descrito los derivados de imidazo [1,2-b] piridazina como los inhibidores de la cinasa Mps1 (Kusakabe, J. Med. Chem. 2015, 58, 1760-1775). Se han descrito andamios similares como presentes en los inhibidores de fosfatidilinositol 4-cinasa (PI4K) (McLeod et al (ACS Med. Chem. Lett. 2013, 4(7), 585-589) y van der Schaar et al (Antimicrobial Agents Chemother. 2013, 57(10), 4971-4981), y se ha demostrado que los inhibidores de PI4K son potentes antivirales. Agents and Chemother. 2012, 56(10), 5149-5156; Décor et al, Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013, 23, 3841-7).

50 El citocromo P450 3A4 (abreviado CYP3A4) es una de las enzimas del citocromo P450 más importantes y está involucrado en la biotransformación oxidativa de varios agentes terapéuticos clínicamente útiles. Por lo tanto, los inhibidores de CYP3A4 pueden afectar el metabolismo de una variedad de fármacos, aumentando su biodisponibilidad causando así eventos adversos debido a la exposición inesperadamente alta a los fármacos. En pacientes que reciben varios diferentes medicamentos en paralelo es necesario evitar tal interacción fármaco-fármaco y algunas veces excluye el uso de algunos fármacos de otra forma útiles clínicamente.

55 De manera consecuente, hay una continua necesidad de nuevos fármacos que no sólo tienen la deseada actividad terapéutica, sino que no tengan o tengan poco efecto sobre la actividad de las enzimas que están involucradas en el metabolismo del fármaco, en específico CYP3A4.

60 Breve descripción de la invención

Un primer aspecto es un compuesto de la fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde

5 uno de X e Y es C y el otro es N;

R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, CN, NH(CH<sub>3</sub>), N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos, CN, NH(CH<sub>3</sub>), o N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; y

10 R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo o 1,3-dimetilo-1*H*-indazol-5-ilo.

El compuesto de la fórmula (I) combina una alta actividad antiviral con baja, preferiblemente esencialmente insignificante, actividad inhibidora de CYP3A4. De manera consecuente, aquí se proporciona un fármaco de riesgo sustancialmente reducido de interacción fármaco-fármaco.

15

Otro aspecto es un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma para uso en terapia.

Otro aspecto es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y de manera opcional un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20

Otro aspecto es un compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para uso en el tratamiento de una infección viral, por ejemplo, una infección viral por ARN.

El compuesto de la fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable, es útil en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una infección viral, por ejemplo, una infección viral por ARN.

25

Otro aspecto es un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptada de la misma, para su uso en el tratamiento de una infección viral por ARN monocatenario (+) no envuelto.

30

Otro aspecto es un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de una infección por enterovirus, por ejemplo, infección por picornavirus.

Aún, otros aspecto es un compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de una enfermedad causada por una infección viral, seleccionada de pancreatitis poliomiелitis, encefalitis, meningitis, sepsis, cáncer, tales como cáncer de mama, prostático, ovárico o colorrectal, parálisis, enfermedades cardiacas tales como miocarditis, diabetes, resfriado común, enfermedad de manos, pies y boca, herpangina, pleurodinia, diarrea, lesiones mucocutáneas, enfermedades respiratorias, conjuntivitis, miositis, síndrome de fatiga crónica, enfermedades neuropsiquiátricas y enfermedades neurodegenerativas tales como esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Huntington o afecciones inflamatorias.

40

Descripción detallada de la invención

A menos que se defina de otro modo o que claramente se indique por contexto, todos los términos técnicos y científicos y abreviaciones utilizados aquí, tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece esta descripción. Sin embargo, las definiciones de algunos términos utilizados aquí se proporcionarán a continuación.

45

"Farmacéuticamente aceptable" significa que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que por lo general es segura, no tóxica ni de otra forma biológicamente indeseable e incluye que es útil para uso veterinario, así como uso farmacéutico humano.

50

El término "que trata" (o "tratamiento") de una enfermedad o trastorno se puede referir mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma) y/o mejorar al menos uno de los parámetros físicos, los cuales pueden ser no discernibles por el paciente. El término también se puede referir como que inhibe la enfermedad o trastorno, ya sea de manera física (por ejemplo, estabilización de un

55

síntoma discernible), de manera fisiológica (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o ambas.

5 La "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de un compuesto que, cuando es administrado a un paciente para tratar una enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento de la enfermedad. La "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, la enfermedad y su gravedad, así como la edad, el peso, etc., del paciente a tratar,

Una "infección viral" se refiere a una infección por un virus en un mamífero.

10 Una "infección viral por ARN" se refiere a una infección viral en donde el virus tiene un ARN (ácido ribonucleico) como su material genético.

15 Una "infección viral por ARN monocatenario (+) no envuelto" se refiere a una infección por un virus de ARN monocatenario (+) no envuelto.

Un "virus no envuelto" es un virus que carece de envoltura viral.

20 Un "virus por ARN monocatenario (+) no envuelto" es un virus que tiene material genético el cual un ARN monocatenario y cuyo ARN se puede traducir inmediatamente a una proteína viral mediante la célula infectada por el virus.

25 El término "mamífero" se refiere a un humano o a un animal mamífero, por ejemplo, un primate, un animal de granja, un animal doméstico o un animal de laboratorio. Ejemplos de tales animales son monos, vacas, ovejas, cabras, caballos, cerdos, perros, gatos, conejos, ratones, ratas, etc. Preferiblemente, el mamífero es un humano. Sin embargo, en algunas realizaciones, el mamífero es un animal, por ejemplo, un animal de granja, tales como una vaca, oveja, cabra, caballo o cerdos, En algunas realizaciones, el animal es una mascota, por ejemplo, un perro, un gato o un conejo.

30 El término "excipiente" se refiere a químicos farmacéuticamente aceptables, tales como conocidos por aquellos expertos en la materia de farmacia para ayudar con la administración del agente. Es un compuesto que es útil en la preparación de una composición farmacéutica, por lo general segura, no tóxica ni de otra forma biológicamente indeseable e incluye excipientes que son aceptables para el uso veterinario, así como el uso farmacéutico humano. Los ejemplos de excipientes incluyen aglutinantes, tensioactivos, diluyentes, desintegrantes, antiadherentes y lubricantes.

35 A menos que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto, el término "halógeno" se refiere a F (fluoro), Cl (cloruro), Br (bromo) o I (yodo).

40 A menos que se indique lo contrario o sea evidente por el contexto, el término "alquilo Cm-Cn" indica un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de m a n átomos de carbono. Por ejemplo, el término "alquilo C1-C4 " indica un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 4 átomos de carbono. Tal alquilo C1-C4 incluye metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo y terc-butilo.

El término "alcoxi Cm-Cn " se refiere a una fracción de la fórmula.



45 en donde R es alquilo Cm-Cn .

El término NH(CH<sub>3</sub>) representa una porción de la fórmula.



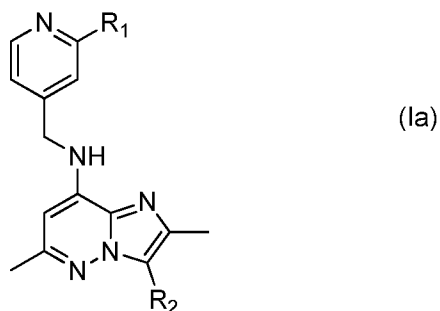
50 El término N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> representa una porción de la fórmula



55 El término CN representa una porción de fórmula.



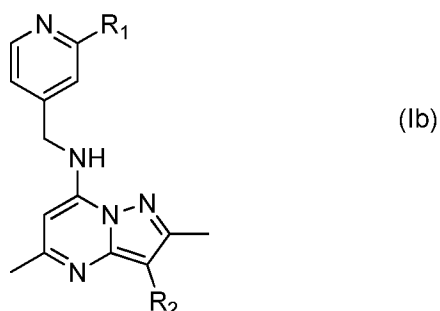
En un compuesto de la fórmula (I), uno de X e Y es C, y el otro es N. En algunas realizaciones, X es C e Y es N, es decir, el compuesto está representado por la fórmula (Ia)



en donde  $R_1$  y  $R_2$  son tal como se definen aquí.

5

En algunas realizaciones, X es N e Y es C, es decir, el compuesto está representado por la fórmula (Ib)



10 en donde  $R_1$  y  $R_2$  son tal como se definen aquí.

En un compuesto de la fórmula (I)  $R_1$  se selecciona del halógeno CN,  $NH(CH_3)$ ,  $N(CH_3)_2$ , alcoxi C1-C4, opcionalmente sustituido por -3 halógenos, y alquilo C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos, CN,  $NH(CH_3)$ , o  $N(CH_3)_2$ .

15 En algunas realizaciones,  $R_1$  se selecciona del halógeno, alcoxi CN, C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos y alquilo C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos.

En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es halógeno, dicho halógeno se selecciona de F, Cl y Br. En algunas realizaciones, dicho halógeno es F o Cl. En algunas realizaciones, dicho halógeno es F.

20

En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido, dicho alquilo es más específicamente alquilo C1-C3. En algunas realizaciones, dicho alquilo es metilo o etilo. En algunas realizaciones, dicho alquilo es metilo. En algunas realizaciones, dicho alquilo es etilo.

25 En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido, dicho alquilo no se sustituye. En algunas otras realizaciones, dicho alquilo es sustituido por 1-3 halógenos, CN,  $NH(CH_3)$ , o  $N(CH_3)_2$ . En algunas realizaciones, cuando dicho alquilo es sustituido por 1-3 halógenos, dichos halógenos se seleccionan de F y Cl, es específico F. En algunas realizaciones, dicho alquilo es dicho alquilo sustituido por 1-3 halógenos y/o un sustituyente seleccionado de CN,  $NH(CH_3)$ , y  $N(CH_3)_2$ .

30

En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo sustituido, cualquier sustituyente en dicho alquilo se selecciona del halógeno y CN. En algunas otras realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo sustituido, cualquier sustituyente en dicho alquilo se selecciona del halógeno,  $NH(CH_3)$ , y  $N(CH_3)_2$ . En algunas otras realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo sustituido, cualquier sustituyente en dicho alquilo se selecciona de  $NH(CH_3)$ , y  $N(CH_3)_2$ . En algunas otras realizaciones, cuando  $R_1$  es alquilo sustituido, cualquier sustituyente en dicho alquilo se selecciona del halógeno, por ejemplo, F y Cl, en específico F.

35

En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alcoxi C1-C4, dicho alcoxi más específicamente es alcoxi C1-C3. En algunas realizaciones, dicho alcoxi es alcoxi C1-C2. En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alcoxi C1-C4 opcionalmente sustituido, dicho alcoxi no se sustituye. En algunas realizaciones, cuando  $R_1$  es alcoxi C1-C4 opcionalmente sustituido, dicho alcoxi no se sustituye. En algunas otras realizaciones, dicho alcoxi es sustituido por 1-3 halógenos. En algunas realizaciones, cuando dicho alcoxi es sustituido por 1-3 halógenos, cualquier tal halógeno se selecciona de F y Cl, en específico F.

40

En algunas realizaciones,  $R_1$  se selecciona del halógeno, CN, alcoxi C1-C4 opcionalmente sustituido y alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones,  $R_1$  se selecciona del halógeno, alcoxi C1-C3 opcionalmente sustituido

45

5 y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido, por ejemplo, de F, Cl, CN, alcoxi C1-C3 opcionalmente sustituido y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido o de F, Cl, CN, metoxi opcionalmente sustituido y metilo y etilo opcionalmente sustituido o de F y metilo opcionalmente sustituido. En algunas de estas realizaciones, cualquier sustituyente en cualquier alquilo o alcoxi es F o Cl, es específico F. En otras de estas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, alcoxi C1-C4 no sustituido y alquilo C1-C4 no sustituido, por ejemplo, de F, Cl, CN, alcoxi C1-C3 y alquilo C1-C3 o de F, Cl, CN, metoxi, metilo y etilo o de F y metilo.

10 En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno y alquilo C1-C4opcionalmente sustituido. El algunas de estas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido, por ejemplo, de F, Cl y alquilo C1-C3 opcionalmente sustituido o de F, Cl y metilo o etilo opcionalmente sustituido o de F y metilo o etilo opcionalmente sustituido o de F y metilo opcionalmente sustituido. En algunas de estas realizaciones, cualquier sustituyente en el alquilo es F o Cl, es específico F. En algunas otras de estas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno y alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido, por ejemplo, de F, Cl y alquilo C1-C3 o de F, Cl, metilo y etilo o de F, metilo y etilo o de F y metilo.

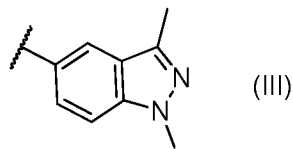
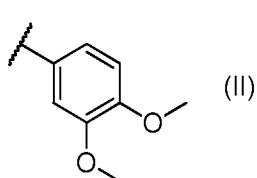
15 En algunas otras realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, alquilo C1-C4 no sustituido y alcoxi C1-C4 no sustituido, por ejemplo, de F, Cl, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3 o de F, Cl, metilo, etilo y metoxi o de F, metilo, etilo y metoxi o de F, metilo y metoxi o de metilo y metoxi.

20 En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona de alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido y alcoxi C1-C4 opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del alquilo C1-C4 no sustituido y alcoxi C1-C4 no sustituido. Aun en otras realizaciones R<sub>1</sub> se selecciona del alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido y el alcoxi C1-C4 no sustituido. Aun en otras realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del alquilo C1-C4 y alcoxi C1-C4, dicho alcoxi y alquilo opcionalmente siendo sustituidos por 1-3 halógenos, por ejemplo, 1-3 halógenos seleccionados de F y Cl, en específico 1-3 F. En algunas realizaciones R<sub>1</sub> se selecciona de metilo, etilo, trifluorometilo y metoxi.

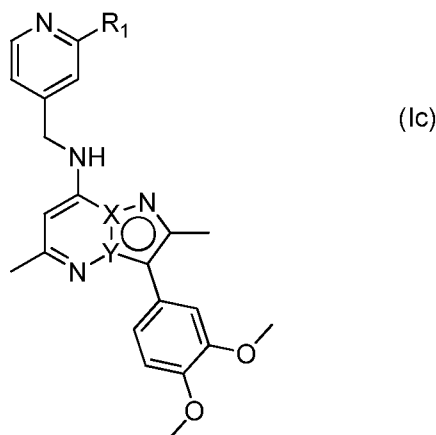
Aun en otras realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, por ejemplo, R<sub>1</sub> es F o Cl, en específico F.

30 Aún en otras realizaciones, R<sub>1</sub> se selecciona de F, CN, metoxi, metilo, trifluorometilo y etilo, por ejemplo, de F, metilo, trifluorometilo y etilo.

En un compuesto de la fórmula (I), R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo o 1,3-dimetilo-1*H*-indazol-5-ilo, es decir, R<sub>2</sub> es una fracción de la fórmula (II) o (III).

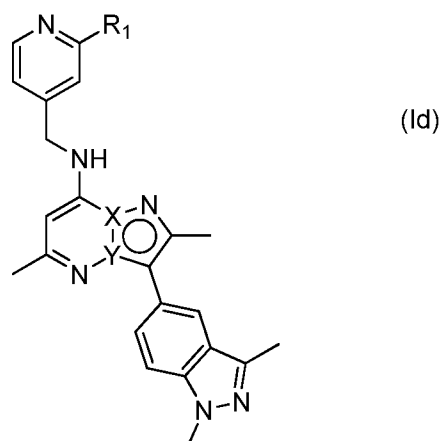


En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo, es decir, una fracción de la fórmula (II) y el compuesto proporcionado aquí puede ser representado por la fórmula (Ic)



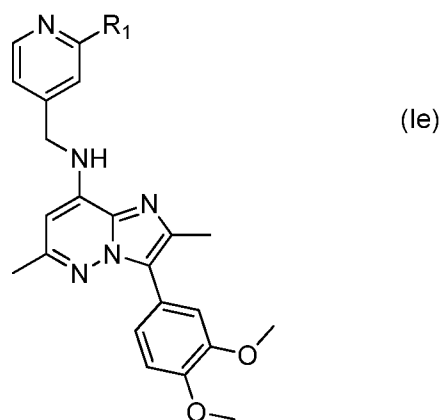
en donde X, Y y R<sub>1</sub> están como se definieron aquí.

45 En algunas otras realizaciones, R<sub>2</sub> es 1,3-dimetilo-1*H*-indazol-5-ilo, es decir, una fracción de la fórmula (III) y el compuesto proporcionado aquí puede estar representado por la fórmula (Id).



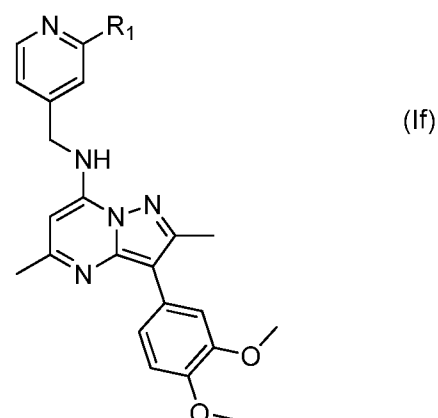
en donde X, Y y R<sub>1</sub> están como se definieron aquí.

5 En algunas realizaciones de un compuesto de la fórmula (Ic), X es C e Y es N, es decir, el compuesto puede estar representado por la fórmula (Ie)



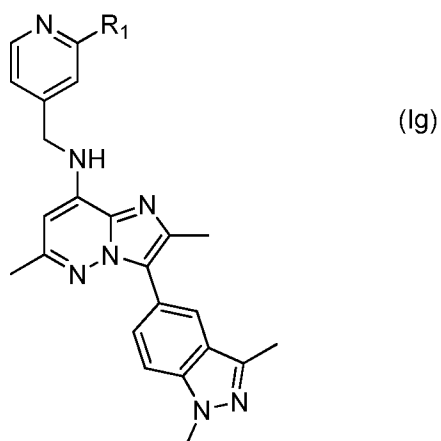
10 en donde R<sub>1</sub> está como se definió aquí.

En algunas otras realizaciones de un compuesto de la fórmula (Ic), X es N e Y es C, es decir, el compuesto puede estar representado por la fórmula (If).



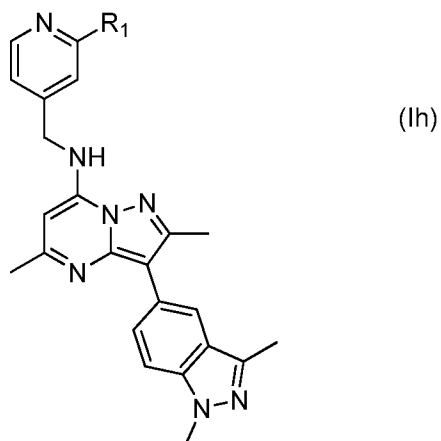
15 en donde R<sub>1</sub> está como se definió aquí.

20 En algunas realizaciones de un compuesto de la fórmula (Id), X es C e Y es N, es decir, el compuesto puede estar representado por la fórmula (Ig)



en donde R<sub>1</sub> está como se definió aquí.

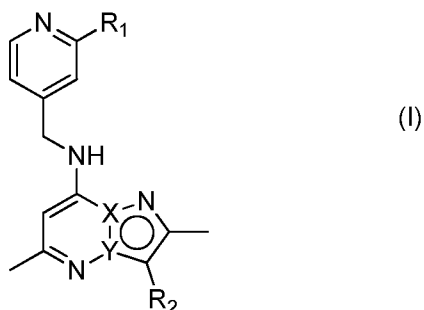
5 En algunas otras realizaciones de un compuesto de la fórmula (Id), X es N e Y es C, es decir, el compuesto puede estar representado por la fórmula (Ih)



10 en donde R<sub>1</sub> está como se definió aquí,

A menos que se especifique de otra forma o sea evidente por el contexto, cualquier referencia a un compuesto de la fórmula (I) también debería interpretarse como una referencia para un compuesto tal como se representa por cualquiera de las fórmulas (Ia), (Ib), (Ic), (Id), (Ie), (If), (Ig), y (Ih).

15 En algunas realizaciones, un compuesto de la fórmula (I), más específicamente es un compuesto de la fórmula (Ie) o (Ih), es decir, un compuesto de la fórmula (I)



20 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en donde R<sub>1</sub> es tal como se definió aquí.

X es C, Y es N y R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo o X es N, Y es C, y R<sub>2</sub> es 2,3-dimetilo-1H-indazol-5-ilo.

25 Los compuestos de la fórmula (I) también se pueden transformar en sales adecuadas farmacéuticamente aceptables. El término sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto se refiere a una sal que es farmacéuticamente aceptable, tal como se definió aquí, y que tiene la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Las sales farmacéuticamente

5 aceptables incluyen las sales de adición de ácido formadas con ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico o formado con ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido acético, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido hidroxinaftoico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido mucónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trimetilacético, etc.

10 En la preparación de las sales de adición de ácido, preferiblemente se utiliza tal ácido en cual forma adecuadamente las sales terapéuticamente aceptables. Ejemplos de tales ácidos con ácidos hidrohahoghenados, ácido sulfúrico ,, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácidos carboxílicos o sulfónicos alifáticos, alicíclicos, aromáticos o heterocíclicos, tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido succínico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido málico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido pirúvico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido embónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido hidroxietanosulfónico, ácido halógenobencenosulfónico, ácido toluenosulfónico o ácido naftalenosulfónico.

15 Cuando un átomo quiral está presente en una estructura química, se pretende que todos los estereoisómeros asociados con el átomo quiral estén comprendidos por la estructura, a menos que se especifique lo contrario. Utilizando el sistema de nomenclatura Cahn-Ingold-Prelog RS, cualquier átomo asimétrico se puede presentar en la configuración (R)- o (S)- y el compuesto se puede presentar como una mezcla de sus estereoisómeros, por ejemplo, una mezcla racémica o sólo un estereoisómero, cada uno siendo el alcance de la presente invención.

20 La presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula (I), o un isómero individual, mezcla racémica o no racémica de isómeros o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un portador y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos.

25 La presente invención incluye composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de la fórmula (I) o un isómero individual, mezcla racémica o no racémica de isómeros o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un portador y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos.

30 Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede ser tópica (loca) o administración sistémica, por ejemplo, para administración enteral, tal como administración rectal u oral o para administración parenteral para un mamífero (especialmente humano) y comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la invención o una sal farmacéuticamente aceptable, como ingrediente activo, en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, un portador farmacéuticamente aceptable. La cantidad terapéuticamente efectiva del ingrediente activo es tal como se definió previamente y depende de por ejemplo, las especies de mamíferos, el peso corporal, la edad, la condición individual, los datos farmacocinéticos individuales, la enfermedad a tratar y el modo de administración.

35 Para administración enteral por ejemplo, oral, los compuestos de la invención se pueden formular en una amplia variedad de formas de dosificación. Las composiciones farmacéuticas y las formas de dosificación pueden comprender un compuesto o compuestos de la presente invención o sal(es) farmacéuticamente aceptable(s) Los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser ya sea sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, tabletas, píldoras, pastillas, cápsulas, obleas, supositorios y gránulos dispersables. Un portador sólido puede ser una o más sustancias las cuales también pueden actuar como diluyentes, agentes saborizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes suspensores, aglutinantes, conservadores, agentes desintegradores de tabletas o un material encapsulante. En los polvos, el portador por lo general es un sólido finamente dividido el cual es una mezcla con el componente activo finamente dividido. En las tabletas, el componente activo por lo general se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad aglutinante necesaria en proporciones adecuadas y compactada en la forma y tamaño deseados. Los vehículos adecuados incluyen, pero no se limitan a, carbonato de magnesio, estereato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. La formulación del compuesto activo puede comprender un material encapsulante como portador, que proporciona una cápsula en la cual el componente activo, con o sin portadores, está rodeado por un vehículo, el cual está en asociación con él.

40 Otras formas adecuadas de administración oral incluyen preparaciones en forma líquida incluyendo emulsiones, jarabes, elixires, soluciones acuosas, suspensiones acuosas o preparaciones en forma sólida las cuales están destinados a convertirse poco antes de su uso en preparaciones en forma líquida. Las emulsiones se pueden preparar en soluciones, por ejemplo, en soluciones acuosas de propilenglicol o pueden contener agentes emulsionantes, por ejemplo, tales como lecitina, monooleato de sorbitán o acacia. Las soluciones acuosas se pueden preparar al disolver el componente activo en agua y agregar colorantes, saborizantes, estabilizadores y agentes espesantes adecuados. Las suspensiones acuosas se pueden preparar al dispersar el componente activo finamente dividido en agua con el material viscoso, tales como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y otros agentes de suspensión bien conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones y pueden contener,

además del componente activo, colorantes, saborizantes, estabilizadores, soluciones amortiguadoras, endulzantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes solubilizantes y similares.

5 Las composiciones ejemplares para la administración rectal incluyen supositorios los cuales pueden contener, por ejemplo, un excipiente no irritante adecuado, tales como manteca de cacao, ésteres de glicéridos sintéticos o polietilenglicoles, los cuales están sólidos a temperaturas normales, pero se licúan y/o disuelven en la cavidad rectal para liberar el fármaco.

10 Los compuestos de la invención también se pueden administrar de manera parenteral, por ejemplo, mediante inhalación, inyección o infusión, por ejemplo, intravenoso, intra-arterial, intraóseo, intramuscular, intracerebral, intracerebroventricular, intrasinoval, intraesternal, intratecal, intracraneal, inyección o fusión intercutánea o subcutánea.

15 Por lo tanto, para la administración parenteral, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en la forma de una preparación estéril inyectable o infusible, por ejemplo, como una suspensión acuosa u oleaginosa. Esta suspensión puede estar formulada de acuerdo con las técnicas conocidas en la técnica utilizando agentes dispersantes o humectantes adecuados (por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación estéril inyectable o infusible también puede ser una solución o suspensión estéril inyectable o infusible en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable. Por ejemplo, la composición farmacéutica puede ser una solución en 1,3-butanodiol. Otros ejemplos de  
20 vehículos y solventes aceptables que se pueden utilizar en las composiciones de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, manitol, agua, solución Ringer y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites estériles, fijos se utilizan convencionalmente como disolvente o medio de suspensión. Para esta finalidad, cualquier aceite fijo no irritante se puede utilizar incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados de glicerol son útiles en la preparación de inyectables, como lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietilados. Estas soluciones o suspensiones  
25 de aceite también pueden contener un diluyente o dispersante de alcohol de cadena larga.

30 Las soluciones para el uso parenteral también pueden contener agentes estabilizadores adecuados, si se necesitan, sustancias amortiguadoras. Los agentes estabilizadores adecuados incluyen agentes antioxidantes tales como el sodio bisulfato, sulfito de sodio o ácido ascórbico, ya sea solo o combinado, ácido cítrico y sus sales y EDTA sódico. Las soluciones parenterales también pueden contener conservadores, tales como cloruro de benzalconio, metil- o propilo parabeno o clorobutanol.

35 Para la inhalación o administración nasal, las formulaciones farmacéuticamente aceptables están como partículas, aerosoles, polvos, nebulizaciones o gotas, por ejemplo, con un tamaño promedio de aproximadamente 10 µm en diámetro o menos. Por ejemplo, las composiciones para inhalación se pueden preparar como soluciones en soluciones salinas, utilizando alcohol bencílico y otros conservadores adecuados, promotores de absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica.

40 En algunas realizaciones, la formulación de la invención es una formulación liposomal. Las formulaciones liposomales son bien conocidas dentro de campos farmacéuticos y están descritos, por ejemplo, en Remington, Essentials of Pharmaceutics, Ed. Linda Felton (Pharmaceutical Press 2012), páginas 456-7 y en varias otras publicaciones. La información sobre, por ejemplo, la elección de las formulaciones liposomas adecuadas, lípidos adecuados, métodos de preparación, etc. está disponible para el experto en la técnica. Los ejemplos de los lípidos para la formación liposoma son los fosfolípidos, esfingolípidos, lípidos esteroides y ácidos grasos. Los lípidos adecuados para la formación liposoma se  
45 pueden comprar, por ejemplo, de Avanti® Polar Lipids, Inc.

50 Las composiciones farmacéuticas de la invención también se pueden administrar de manera tópica, en la piel o en una membrana mucosa. Para la aplicación tópica, la composición farmacéutica puede ser por ejemplo, una loción, un gel, una pasta, una tintura, un parche transdérmico o un gel para administración transmucosa.

55 La composición puede estar formulada como un ungüento adecuado que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en el portador. Los portadores para la administración tópica de los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, aceites minerales, petróleo líquido, petróleo blanco, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua.

60 De manera alternativa, la composición farmacéutica puede estar formulada como una loción o crema adecuada que contiene el componente activo suspendido o disuelto en un portador. Los portadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, aceites minerales, monoestearato de sorbitán, polisorbato 60, cera de ésteres cetílicos, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención también se pueden aplicar de manera tópica en el tracto intestinal inferior mediante formulación de supositorio rectal o en formulación de enema adecuado.

65 Los excipientes farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, portadores y métodos de preparar las formas de dosificación farmacéutica se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, un texto de referencia estándar en la técnica de la formulación del fármaco.

Las composiciones farmacéuticas pueden comprender aproximadamente de 1% a aproximadamente 95%, preferiblemente de aproximadamente 20% a aproximadamente 90% de un compuesto de la fórmula (I), junto con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. En general, los compuestos de la invención se administrarán en una cantidad terapéuticamente efectiva mediante cualquiera de los modos aceptados de administración para los agentes que tienen utilidades similares. Las dosificaciones diarias están en los intervalos de 1 a 1000 mg, por ejemplo, 1-500 mg al día o 1-50 al día, dependiendo de varios factores tales como la gravedad de la enfermedad a tratar, la edad y la relativa salud del paciente, la potencia del compuesto utilizado, la ruta y la forma de administración y la indicación hacia la que se dirige la administración, etc. Un experto en la técnica del tratamiento de tales enfermedades será capaz, sin experimentación indebida y confiando en el conocimiento personal y la divulgación de esta solicitud, determinar una cantidad terapéuticamente efectiva de los compuestos de la presente invención para una enfermedad determinada. Los compuestos de la invención se pueden administrar como formulaciones farmacéuticas incluyendo aquellos adecuados para la administración enteral o parenteral. La forma preferida de administración, por lo general, es oral utilizando un régimen de dosificación al día conveniente la cual se puede ajustar de acuerdo con el grado de aflicción.

El compuesto de la presente invención está contemplado como útil para el tratamiento de enfermedades causadas por infección viral por ARN en un mamífero, por ejemplo, infección viral por ARN monocatenario (+) no envuelto, en específico enfermedades causadas por picornavirus.

Los picornavirus, por ejemplo, pueden ser Parechovirus (por ejemplo, Ljungan o Parecho), un Cardiovirus (por ejemplo, EMC o virus de Theiler), Enterovirus (por ejemplo, EV, Coxsackie, Polio, Rhino) o un hepatovirus. Para uso veterinario, el picornavirus puede ser, por ejemplo, un Aftovirus o Teschovirus.

Las enfermedades que se consideran vinculadas con, causadas por o de otra forma asociadas con la infección del virus, por ejemplo, por picornavirus son por ejemplo, enfermedades degenerativas tales como esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, poliomiéлитis, encefalitis, meningitis, sepsis, cáncer, parálisis, miocarditis, diabetes, resfriado común, enfermedad de mano, pie y boca, herpangina, pleurodinia, diarrea, lesiones mucocutáneas, enfermedades respiratorias, conjuntivitis, miositis y síndrome de fatiga crónica.

Se considera que está dentro del conocimiento del experto en la técnica sintetizar e identificar los compuestos de la fórmula (I) tal como se definió aquí, al seguir los métodos como se describe generalmente en los ejemplos no limitantes a continuación y los métodos generales descritos en la literatura, por ejemplo, en PCT/EP2018/058522 (publicado como WO 2018/185120 A1) y PCT/EP2015/051177 (publicado como WO 2015/110491 A2).

## Ejemplos

### Procedimientos generales

Las reacciones se realizaron en tubos sellados secado a llama o cristalería secada al fuego bajo una presión positiva de argón o nitrógeno, a menos que se indique lo contrario. Los líquidos y las soluciones sensibles al aire y a la humedad se transfirieron mediante jeringa. Se destiló tetrahidrofurano (THF) a partir de sodio/benzofenona-cetilo. Se destiló diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) a partir de hidruro de calcio. Todos los otros químicos se obtuvieron de los vendedores comerciales y se utilizaron sin purificación adicional a menos que se indique lo contrario. Los tamices moleculares se activaron a 350°C y se trituraron inmediatamente antes de su uso, después se secan bajo llama bajo vacío. Las reacciones se monitorearon mediante cromatografía de capa fina (TLC) con placas de gel de sílice pre-revestidas de E. Merck de 0,25 mm. Las soluciones orgánicas se concentraron mediante evaporación rotatoria por debajo de 50°C. La cromatografía en columna rápida se realizó utilizando gel de sílice de malla 60-120, 230-400 y alúmina neutra. Los rendimientos se refieren a los compuestos puros cromatográfica o espectroscópicamente a menos que se indique lo contrario.

### Instrumentación

Los espectros de <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C se registraron ya sea en un espectrómetro Bruker AVANCE III HD 400 Mhz o un espectrómetro Bruker AVANCE II 300 MHz . Los cambios químicos se expresan en partes por millón (escala δ) desplazamiento por debajo de tetrametilsilano y se refieren a la resonancia residual en el disolvente RMN (CHCl<sub>3</sub>: δ 7,26 para 1H RMN, δ 77,16 para 13C RMN). LC-MS se realizó en una trampa de iones Agilent XCT equipada con software chemstation y de Bruker daltonics

### Síntesis de 3-(3,4-dimetoxifenilo)-8-iodo-2,6-dimetilimidazo[1,2-b]piridazina

El intermediario sintético 3- (3,4-dimetoxifenil) -8-yodo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina se sintetizó en un proceso de varias etapas de la siguiente manera:

#### Etapas 1: 2,6-dimetilimidazo[1,2-b] piridazina

A una solución agitada de 6-metilpiridazina-3-ilamina (50 g, 455,3 mmol) en etanol (500 mL) se le añadió cloroacetona

(58 ml, 683 mmol) y la solución se calentó a 85°C durante 10 horas. Al finalizar, se destiló el etanol en la reacción. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (36 g, 53,4%) con 10% de acetato de etilo-hexanos como un sólido café oscuro.

5

Etapas 2: 3-bromo-2,6-dimetilimidazo[1,2-b] piridazina

10

A una solución agitada de 2,6-dimetilimidazo [1,2-b]piridazina (36 g, 244,5 mmol) en acetonitrilo (360 mL) se le añadió N-bromosuccinimida (NBS) (52,2 g, 293,4 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Al finalizar, ese destiló el acetonitrilo en la reacción. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 3-bromo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (18 g, 32,5%) con 15% de acetato de etilo-hexanos como un sólido.

15

Etapas 3: 3- (3,4-dimetoxifenil)-2,6-dimetilimidazo[1,2-b]piridazina

20

A un matraz de fondo redondo de 100 mL se le cargó 3-bromo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (5 g, 17,6 mmol), éster borónico (4,4 g, 19,4 mmol), carbonato de potasio (7,5 g, 54,3 mmol) y dioxano: agua (45 ml : 5 ml). Esta solución se desgasificó con N<sub>2</sub> durante 10 minutos y después el [1,1'-bis (difenilfosfino) ferroceno] dicloropaldio (II) . Se añadió el complejo de diclorometano (Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>.complejo DCM ) (1,8 g, 2,2 mmol). La reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas. Al finalizar, se diluyó la reacción con etilacetato y se filtró a través de un lecho de celita. El filtrado se repartió entre el etilacetato y el agua. La capa de etilacetato se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 3- (3,4-dimetoxifenil) -2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina

25

Etapas 4: 3- (3,4-dimetoxifenil)-8-yodo-2,6-dimetilimidazo[1,2-b]piridazina

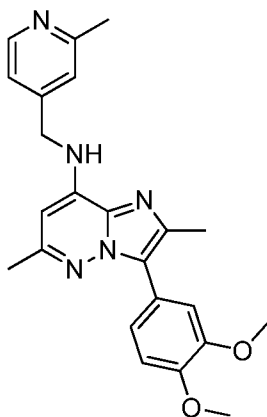
A una solución agitada de diisopropilamida de litio 2M (LDA) (0,7ml, 1,4 mmol) en THF a

30

-78°C se le añadió una solución de 3- (3,4-dimetoxifenil) -2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (0,2 g, 0,705 mmol) disuelta en THF (5mL), gota a gota. Después de 10 minutos, se añadió yodo (0,178 g, 0,705 mmol) disuelto en THF (3mL) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Al finalizar, la reacción se neutralizó con solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con etilacetato. Las capas de etilacetato se secaron bajo Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron bajo la presión reducida. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 3- (3,4-dimetoxifenil) -8-yodo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (30 mg, 10,7%) con 30% de acetato de etilo-hexanos como sólido amarillo pálido.

35

**Ejemplo 1. 3-(3,4-dimetoxifenil)-2,6-dimetil-N-((2-metilpiridin-4-il) metil)imidazo[1,2-b] piridazin-8-amina**

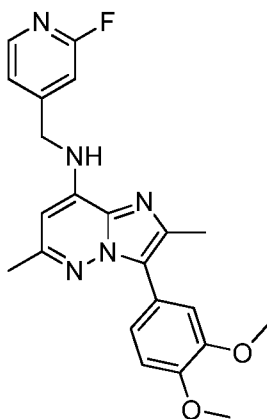


40

A una solución agitada de 3- (3,4-dimetoxifenil) -8-yodo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (0,1 g, 0,240 mmol) y amina ( 0,06 g, 0,312 mmol) en tolueno ( 2 mL) se añadió carbonato de cesio (0,156 g, 0,48 mmol), 2,2'-bis (difenilfosfino) -1,1'-binaftilo (BINAP) (7 mg, 0,012 mmol) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (2 mg, 0,012 mmol). La reacción se agitó a 105°C durante 16 horas. Al finalizar, la reacción se diluyó con 10% de MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se filtró a través de un lecho de celita. El filtrado se concentró y el sólido obtenido se lavó con acetonitrilo para producir el Ejemplo 2 (0,09 g, 91,83%) como un sólido café pálido.

45

**Ejemplo 2. 3-(3,4-dimetoxifenil)-N-((2-fluoropiridin-4-il)metil)-2,6-dimetilimidazo[1,2-b]piridazin-8-amina**



5 A una solución agitada de 3- (3,4-dimetoxifenil) -8-yodo-2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazina (0,15 g, 0,360 mmol) y amina (0,093 g, 0,46 mmol) en tolueno (3 mL) se añadió carbonato de cesio (0,23 g, 0,72 mmol), 2,2'-bis (difenilfosfino) -1,1'-binaftilo (BINAP) (11 mg, 0,018 mmol) y Pd(OAc)<sub>2</sub> (4 mg, 0,018 mmol). La reacción se agitó a 105°C durante 16 horas. Al finalizar, la reacción se diluyó con 10% de MeOH-CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se filtró a través de un lecho de celita. El filtrado se concentró y el sólido obtenido se lavó con acetonitrilo para producir el Ejemplo 1 (0,120 g, 80%) como un sólido café pálido.

10 Síntesis de 7-cloro-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina

El intermediario sintético 7-cloro-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina se sintetizó en un proceso de varias etapas de la siguiente manera:

15 Etapa 1: 2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-ol

A un matraz de fondo redondo se le cargó con 3-amino-5-metilpirazol (100g, 1,02 mol), acetoacetato de etilo (161mL, 1,23 mol), ácido acético (300 mL) y 1,4-dioxano (1000 mL). La reacción se reflujo durante 16 horas a 105°C. Se obtuvieron sólidos blanquecinos al finalizar la reacción y se filtraron a través de succión. Los sólidos se obtuvieron con hexano frío y se secaron bajo vacío para obtener 2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-ol (85 g, 49%) como un sólido blanquecino.

20 Etapa 2: 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina

25 A una solución de 2,5-dimethylpyrazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol (120 g, 0,73 mol) en acetonitrilo (1200 mL) se le añadió POCl<sub>3</sub> (103 ml, 1,1 mol) gota a gota. Al finalizar la adición, la reacción se calentó a 80°C durante 12 horas. Al finalizar, se destiló el POCl<sub>3</sub> en la reacción. El producto crudo obtenido se diluyó con agua y se neutralizó con solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó sobre un sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna rápida eluyendo el 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina con 20% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino (108 g, 80,8%).

30 Etapa 3: 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina

35 A una solución helada de 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina (120 g, 0,66 mol) en acetonitrilo (1200 mL) a -10°C se añadió una parte considerable de N-yodosuccinimida (163,5 g, 0,726 mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Al finalizar, se observaron los sólidos. La reacción se neutralizó con agua helada y se filtró a través de succión. Los sólidos obtenidos se lavaron con hexano y se secaron bajo vacío para producir 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina como un sólido blanco (182,8 g, 89,9%).

Síntesis de 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol

40 El éster borónico 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol se sintetizó en un proceso de varias etapas de la siguiente manera:

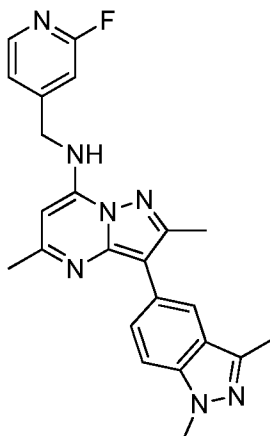
45 Etapa 1: 5-bromo-1,3-dimetil-1H-indazol

Una solución de 1- (5-bromo-2-fluorofenil) etanona (50 g, 230 mmol) y N-metil hidrazina (42,4 mL, 805 mmol) en piridina (500 mL) se calentó a 90°C durante 10 horas. Al finalizar, se destiló la piridina en la reacción. El producto crudo se repartió entre el agua y el etilacetato. Las capas de etilacetato se secaron sobre sulfonato sódico y se concentró. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 5-bromo-1,3-dimetil-1H-indazol (20,23 g, 41,8%) con 2% de acetato de etilo-hexanos como un compuesto viscoso café pálido.

50 Etapa 2: 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol

5 A una solución de 5-bromo-1,3-dimetil-1H-indazol (26 g, 115 mmol) y bispinacolato diboron (32,3 g, 127 mmol) en 1,4-dioxano (260 mL) se añadió KOAc (34 g, 345 mmol). La reacción se degasificó con N<sub>2</sub> durante 10 minutos y después se le añadió Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (6,6 g, 5,57 mmol) y se calentó a 95 °C durante 16 horas. Al finalizar la adición, la reacción se calentó a 80 °C durante 12 horas. Al finalizar, la reacción se filtró a través de celita, el filtrado se concentró. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol (18 g, 52,1%) con 5% de acetatos de etilo-hexanos como un compuesto sólido blanquecino.

10 **Ejemplo 3. 3-(1,3-dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-fluoropiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina**



15 Etapa 1: N - [(2-fluoropiridin-4-il) metil] -3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina

20 A una solución agitada de 7-cloro-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina (1,1 g, 3,57 mmol) y 1- (2-fluoropiridin-4-il) metanamina (0,586 g, 4,6 mmol) en etanol (5,5 mL) se añadió diisopropiletilamina (5,5 mL, 5 Vols) y se agitó a 80 °C durante 6 horas. Al finalizar, se destiló el etanol en la reacción. El producto crudo se repartió entre el agua y el etilacetato. Las capas de etilacetato se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía en columna rápida eluyó el compuesto requerido con 35% de acetato de etilo-hexano. Al concentrarse produjo N - [(2-fluoropiridin-4-il) metil] -3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina (0,9 g, 63,82%) como un compuesto amarillo pálido.

25 Etapa 2: [(2-fluoropiridin-4-il) metil] (3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) carbamato de terc-butilo

30 A una solución agitada de N - [(2-fluoropiridin-4-il) metil] -3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina (0,5 g, 1,26 mmol) en diclorometano (DCM) (5mL) se añadió 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,153 g, 1,26 mmol) a 0 °C. Después se añadió el anhídrido boc (dicarbonato de di-terc-butilo) (0,33 ml, 1,51 mmol) gota a gota a esta temperatura y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Al finalizar, la reacción se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido [(2-fluoropiridin-4-il) metil] (3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) carbamato de terc-butilo (0,51 g, 82,2% ) con 10% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino.

35 Etapa 3: [3-(1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a] pirimidin-7-il]-(2-fluoro-piridin-4-il)metilo éster terc-butílico del ácido carbámico

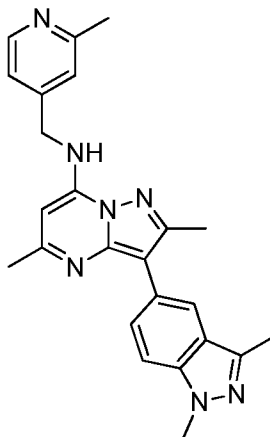
40 A un matraz de fondo redondo se le cargó [(2-fluoropiridin-4-il) metil] (3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) carbamato de terc-butilo (0,45 g, 0,904 mmol), 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol (0,322g, 1,17mmol), carbonato de potasio (0,311g, 2,26mmol) y dioxano: agua (4,5 mL:0,5 mL). Esta solución se degasificó con N<sub>2</sub> durante 10 minutos y después el Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>. Se añadió complejo DCM (0,110 g, 0,135 mmol). La reacción se calentó a 100 °C durante 16 horas. Al finalizar, se diluyó la reacción con etilacetato y se filtró a través de un lecho de celita. El filtrado se repartió entre el etilacetato y el agua. La capa de etilacetato se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido [3- (1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il] - (2-fluoro-piridin-4-il)metilo éster terc-butílico del ácido carbámico (0,2 g, 42,9%) con 30% de acetato de etilo-hexanos como sólido blanquecino.

50 Etapa 4: 3-(1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-fluoropiridin-4-il)metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina

A una solución helada de [3- (1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il] - (2-fluoro-piridin-4-

ilmetilo éster terc-butílico del ácido carbámico (0,2 g, 0,388 mmol) en diclorometano (2 mL) se añadió TFA (2 MI) gota a gota. Después de completar la adición, la masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de completar la adición, se destilaron el disolvente y el exceso de TFA. El producto crudo se basificó con solución de 1N NaOH y se extrajo con 10 % de MeOH-DCM. Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido Ejemplo 3 (0,06 g, 37,5%) con 70% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino.

**Ejemplo 4. 3-(1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-metilpiridin-4-il)metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina**



**Etapa 1: 3-yodo-2,5-dimetil-N-[(2-metilpiridin-4-il) metil] pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina**

A una solución agitada de 7-cloro-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo [1,5-a] pirimidina ( 1,1 g, 3,57 mmol) y 1- (2-metilpiridin-4-il) metanamina ( 0,586 g, 4,6 mmol) en etanol ( 5,5 ml) se le añadió diisopropiletilamina (5,5 mL, 5 Vols) y se agitó a 80°C durante 6 horas. Al finalizar, se destiló el etanol en la reacción. El producto crudo se repartió entre el agua y el etilacetato. Las capas de etilacetato se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron bajo presión reducida. La cromatografía en columna rápida eluyó el compuesto requerido con 35% de acetato de etilo-hexano. Al concentrarse produjo 3-yodo-2,5-dimetil-N - [(2-metilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina (0,9 g, 40,1%) como un compuesto amarillo pálido.

**Etapa 2: Éster terc-butílico del ácido (3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) - (2-metil-piridin-4-ilmetil) -carbámico**

A una solución agitada de 3-yodo-2,5-dimetil-N - [(2-metilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina (0,5 g, 1,26 mmol) en diclorometano (5mL) se le añadió DMAP (0,153 g, 1,26 mmol) a 0°C. Después se añadió el anhídrido boc (0,33 ml, 1,51 mmol) gota a gota a esta temperatura y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Al finalizar, la reacción se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido éster terc-butílico del ácido (3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) - (2-metil-piridin-4-ilmetil) -carbámico (0,51 g, 82,2 %) con 10% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino.

**Etapa 3: ácido carbámico [3- (1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il] - (2-metil-piridin-4-ilmetilo éster terc-butílico**

A un matraz de fondo redondo de 25 ml se le cargó éster terc-butílico del ácido (3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il) - (2-metil-piridin-4-ilmetil) -carbámico (0,45 g, 0,904 mmol), 1,3-dimetil-5- (4,4,5,5-tetrametil- [1,3,2] dioxaborolan-2-il) -1H-indazol (0,322g, 1,17 mmol), carbonato de potasio (0,311g , 2,26 mmol) y dioxano: agua (4,5 mL : 0,5 mL). Esta solución se degasificó con N<sub>2</sub> durante 10 minutos y después el Pd(dppf)Cl<sub>2</sub>. Se añadió complejo DCM (0,110 g, 0,135 mmol). La reacción se calentó a 100°C durante 16 horas. Al finalizar, se diluyó la reacción con etilacetato y se filtró a través de un lecho de celita. El filtrado se repartió entre el etilacetato y el agua. La capa de etilacetato se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido [3- (1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il] - (2-metil-piridin-4-ilmetilo éster terc-butílico del ácido carbámico (0,2 g, 43,4%) con 30% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino.

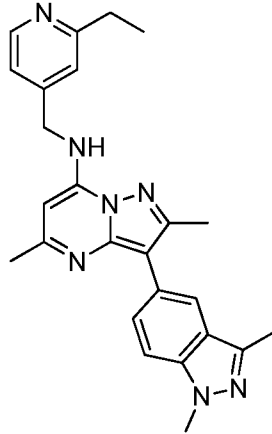
**Etapa 4: 3- (1,3-dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-metilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina**

A una solución helada de ácido carbámico[3-(1,3-Dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-il] - (2-metil-piridin-4-ilmetilo éster terc-butílico (0,2 g, 0,388 mmol) en diclorometano (2 mL) se añadió ácido trifluoroacético (TFA) (2 mL) gota a gota. Después de completar la adición, la masa de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Después de completar la adición, se destilaron el disolvente y el exceso de TFA. El producto crudo se basificó con solución de 1N NaOH y se extrajo con 10 % de MeOH-DCM. Las capas orgánicas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se

concentraron. El producto crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna rápida (alúmina neutral) eluyendo el compuesto requerido Ejemplo 4 (0,06 g, 37,7%) con 70% de acetato de etilo-hexanos como un sólido blanquecino.

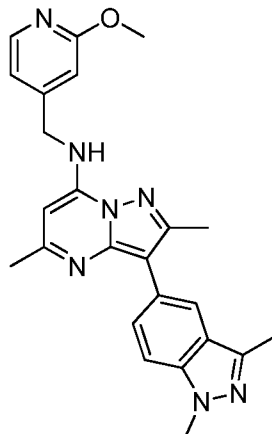
5 Los ejemplos 5-8 se sintetizaron utilizando los mismos métodos generales tal como descritos para los Ejemplos 3 y 4.

**Ejemplo 5. 3-(1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-etilpiridin-4-il)metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina**



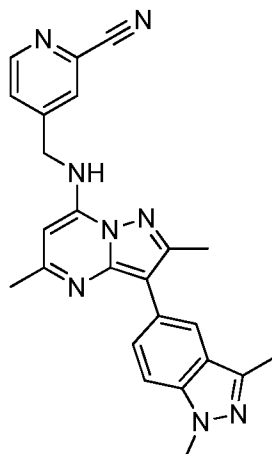
10

**Ejemplo 6. 3- (1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-metoxipiridin-4-il)metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina**



15

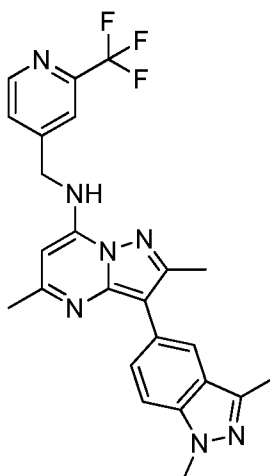
**Ejemplo 7. 3- (1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-cianopiridin-4-il)metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina**



20

**Ejemplo 8. 3-(1,3-dimetil-1H-indazol-5-il)-2,5-dimetil-N-[(2-trifluorometilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-**

## 7- amina



5 Los datos analíticos de los compuestos de los Ejemplos 1-8 se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Núm. de ejemplo	Datos Analíticos
1	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz): δ 8,36 (d, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 7,28 (d, 1 H), 7,16 (m, 3 H), 7,07 (d, 1H), 5,82 (s, 1 H), 4,15 (s, 2 H), 3,78 (d, 6 H), 2,43 (s, 3 H), 2,23 (s, 3 H), LCMS : 404,3 [M+H], pureza de HPLC: 99,9%
2	<sup>1</sup> H-NMR (DMSO-d <sub>6</sub> , 300 MHz): δ 8,18 (d, 1 H), 8,02 (s, 1 H), 7,33 (d, 1H), 7,28 (d, 1 H), 7,16 (dd, 1 H), 7,1 (d, 1H), 7,07 (d, 1H), 5,91 (s, 1 H), 4,61 (s, 2 H), 3,80 (d, 6 H), 2,43 (s, 3 H), 2,24 (s, 3 H), LCMS : 408,5 [M+H], pureza de HPLC: 99,5%
3	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,25 (d, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 7,75 (dd, 1H), 7,42 (d, 1 H), 7,22 (d, 1 H), 6,97 (s, 1H), 6,76 (dd, 1H), 5,68 (s, 1 H), 4,70 (s, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 2,61 (s, 6 H), 2,47 (s, 3 H), LCMS : 416,4 [M+H], pureza de HPLC: 99,7%
4	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,52 (d, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 7,75 (dd, 1H), 7,41 (d, 1 H), 7,21 (d, 1 H), 7,17 (d, 1H), 6,73 (m, 1H), 5,69 (s, 1 H), 4,64 (s, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 2,61 (s, 9 H), 2,47 (s, 3 H), LCMS : 412,3 [M+H], pureza de HPLC: 99,6%
5	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,52 (d, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 7,75 (dd, 1H), 7,42 (d, 1 H), 7,18 (s, 1 H), 7,14 (d, 1H), 6,69 (m, 1H), 5,71 (s, 1 H), 4,63 (s, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 2,85 (q, 2 H), 2,61 (s, 6 H), 2,47 (s, 3 H), 1,32 (t, 3 H), LCMS : 426,4 [M+H], pureza de HPLC: 99,7%
6	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,18 (d, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 7,75 (dd, 1H), 7,41 (d, 1 H), 6,89 (d, 1H), 6,73 (m, 2H), 5,72 (s, 1 H), 4,60 (s, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 3,95 (s, 3 H), 2,60 (s, 6 H), 2,48 (s, 3 H), LCMS : 428,4 [M+H], pureza de HPLC: 99,5%
7	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,59 (d, 1 H), 8,25 (s, 1 H), 7,81 (m, 2H), 7,72 (d, 1 H), 7,49 (d, 1H), 7,41 (d, 1H), 5,68 (s, 1 H), 4,75 (d, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 2,60 (s, 6 H), 2,48 (s, 3 H), LCMS : 441,5 [M+18], pureza de HPLC: 93,7%
8	<sup>1</sup> H-NMR (CDCl <sub>3</sub> , 300 MHz): δ 8,76 (d, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 7,75 (m, 2H), 7,53 (d, 1 H), 7,42 (d, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,68 (s, 1 H), 4,75 (d, 2 H), 4,03 (d, 3 H), 2,60 (s, 6 H), 2,48 (s, 3 H), LCMS : 466,4 [M+18], pureza de HPLC: 99,35%

## 10 Ejemplo 9. Formulación liposoma

50 mg de 3- (1,3-dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N- [(2-fluoropiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina (Ejemplo 3) y se transfirieron 500 mg de lecitina de soja a un vaso de precipitados. Se añadió cloroformo (aproximadamente 10 ml) y la mezcla se conservó bajo agitación hasta que los componentes se disolvieron por completo. Después se eliminó el disolvente mediante evaporador rotatorio para producir una fina película lipídica. Se añadió agua (10 ml) a la película lipídica y se permitió que la película se rehidrata a temperatura ambiente. La formulación se mezcló a fondo y se sonicó para formar una fina dispersión. La formulación tuvo un pH de 6,42.

Ensayos biológicos

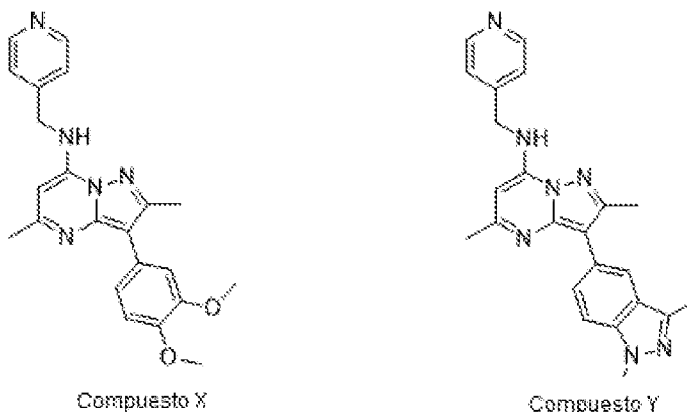
20

Ensayo in vitro en cultivo de células de mamíferos

La actividad antiviral de los compuestos de la invención se ha evaluado sobre la capacidad de los compuestos para

prevenir que el virus cause efectos citopáticos (CPE) virales en el cultivo de células mamíferas. El tiempo de incubación, la línea celular, la densidad celular y el título viral difirieron de un ensayo a otro, pero el procedimiento general fue el siguiente: Las células se cultivaron en 96 placas de fondo plano hasta aproximadamente 90% de confluencia (20 000-90 000 células/depósito) en un medio estable. El título viral se determinó mediante el método estándar de la dosis infecciosa del cultivo de tejidos (TCID<sub>50</sub>) sobre las células. En resumen, se infectaron las células con 50 µl de la suspensión de virus y se diluyó 10 veces en el medio. Se incubaron las placas a 37 °C con 5 % de CO<sub>2</sub> durante 3-7 días y se inspeccionaron las células diariamente para CPE. Después de determinar el CPE, se tñieron las placas con solución de Violeta cristal de Gram y la densidad óptica se leyó fue de 540 nm. La dilución de virus más alta que resultó en > 95% de CPE se utilizó en los ensayos. Se añadieron las sustancias en una concentración final de 2,5-20 µM y el virus a las células y se incubaron durante 3-7 días dependiendo del virus y la línea celular utilizada. Como controles, las células no infectadas y las células infectadas con virus (sin sustancia) se incluyeron en cada placa. Se tñieron las células con violeta cristal después de determinar el CPE sobre los controles no infectados y la densidad óptica se leyó en 540 nm. La capacidad de inhibición se calculó como un % mediante comparación sin controles de no infectados e infectados.

15 Los compuestos inventivos de los Ejemplos 1-4 se probaron utilizando el protocolo descrito previamente. Además, la misma prueba se realizó utilizando compuestos que carecen de un sustituyente en la posición 2 en el anillo de piridina , viz. 3- (3,4-dimetoxifenil) -2,5-dimetil-N- (piridin-4-ilmetil) pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina (Compuesto "X") y 3- (1, 3-dimetil-1H-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(piridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7-amina ( Compuesto "Y").



20 Las Tablas 2 y 3 muestran la capacidad de inhibición de los compuestos probados en diferentes picornavirus a 10 nM y 100 nM, respectivamente. EV6: cepa de enterovirus 6; EV30: cepa de enterovirus 30; EV-D68: enterovirus D68; EV71: cepa de enterovirus 71; Cox B1: cepa del virus coxsackie B; Cox B2: cepa 2 del virus coxsackie B; Cox B3: cepa 3 del virus coxsackie; Cox B5: cepa 5 del virus coxsackie B; Polio 1: cepa 1 del virus de poliomielititis.

Tabla 2

Inh. a 10 nM	Comp. X	Ej.1	Ej. 2	Comp. X	Ej. 3	Ej. 4
EV6	100	100	100	100	88	100
EV30	100	100	100	100	100	100
EV-D68	86	85	73	85	76	81
EV71	82	68	76	87	82	76
Cox B1	100	93	100	100	68	100
Cox B2	100	100	100	100	100	100
Cox B3	100	100	100	100	100	100
Cox B5	100	80	84	85	48	74
Polio 1	100	100	100	100	100	100

30 Tabla 3

Inh. a 100 nM	Comp. X	Ej.1	Ej. 2	Comp. X	Ej. 3	Ej. 4
EV6	100	100	100	100	100	100
EV30	100	100	100	100	100	100
EV-D68	86	83	68	80	70	70

EV71	82	77	75	86	81	79
Cox B1	100	100	100	100	100	100
Cox B2	100	100	100	100	100	100
Cox B3	100	100	100	100	100	100
Cox B5	100	100	100	100	100	100
Polio 1	100	100	100	100	100	100

Estudio de inhibición de la enzima CYP 3A4 *In vitro* en microsomas hepáticos humanos mediante el Método de Sustrato de Sonda

5 Se realizó el ensayo de inhibición de la enzima CYP3A4 *in vitro* utilizando microsomas hepáticos humanos a una concentración de 0,5 mg/mL. Se utilizó Ketoconazol como inhibidor de referencia y se utilizó Midazolam como sustrato de sonda selectivo para la enzima CYP3A4. Se preparó una dilución en serie de los elementos de la prueba/control en la solución amortiguadora de fosfato de potasio (50 mM, pH 7,40) para obtener ocho concentraciones en cada una en un patrón de dilución 1:4. El porcentaje de acetonitrilo /DMSO se conservó al 2,5%/0,25% en soluciones de control / elemento de prueba diluidas en serie 2,5 X respectivamente. El porcentaje final de acetonitrilo/DMSO fue de 1%/0,1%, respectivamente. Las soluciones intermedias tales como 10 veces la solución de trabajo (5 mg/mL) de la solución microsomal de hígado humano, 10 veces la concentración de los sustratos de sonda de referencia en la solución amortiguadora, 5 veces las concentraciones de los cofactores (5,0 mM NADP+, 25,0 mM G-6-P, 3,0 IU/mL G-6-PDH y 10,0 mM MgCl<sub>2</sub>) se prepararon en la solución amortiguadora del fosfato de potasio. La concentración final de los microsomas hepáticos en la mezcla de la reacción fue de 0,5 mg/mL, los cofactores fueron de 1,0 mM NADP+, 5,0 mM G-6-P, 0,6 IU/mL G-6-PDH y 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>. Se probó Midazolam a una concentración de prueba de 5 µM. Se añadieron 40 µL de Soluciones de elementos de control/prueba diluidos en serie 2,5 veces y 10 10 µL de 5 veces la solución microsomal de hígado a 96 placas de fondo plano y se incubaron durante 10 minutos a 37°C con condición de agitado (400 rpm) utilizando Thermomixer. Después de la pre-incubación, se añadió una mezcla de 20 µL de la solución amortiguadora de fosfato de potasio, 10 µL de la respectiva solución de trabajo de sustrato de sonda y 20 µL del cofactor. Los resultados, expresados como IC<sub>50</sub> en µM, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Compuesto	Comp. X	Ej. 1	Ej. 2	Comp. X	Ej. 3	Ej. 4
IC <sub>50</sub> µM	0,97	23,1	>25	0,28	>25	>25

25

Propiedades farmacocinéticas

Preparación de la formulación

30 10 mg del compuesto se pesó y se transfirió a un tubo graduado. Después se añadió 500 µL de DMA (5 % v/v), se mezcló con vórtice minuciosamente y se sonicó hasta que el elemento de prueba se disolvió por completo. Después se añadieron 5 mL de PEG (50 % v/v) y se mezclaron con vórtice minuciosamente. Después de eso, se añadió agua para inyectables (SWFI, por sus siglas en inglés) en pequeños incrementos y se mezcló con vórtice minuciosamente. Por último, el volumen se completó hasta 10 mL con SWFI (45% v/v) para obtener una solución clara con una fuerza de formulación final de 1 mg/mL. Se encontró que el pH de la formulación era de 6,51. La formulación se preparó antes de administrarla a los animales.

35

Administración de dosis

40 Se utilizaron ratas Sprague Dawley machos adultos con edad de 8-10 semanas para la experimentación después de un mínimo de 3 días aclimatación. A los animales en ayunas se les administró el compuesto de prueba en el vehículo (5% DMA + 50% PEG 200 + 45% SWFI) por vía oral a una dosis de 10 mg/kg de peso corporal y a un volumen de dosis de 10 ml/kg de peso corporal.

45 Bajo anestesia leve de isoflurano, se recopilaron los especímenes de sangre en tubos pre etiquetados que contienen anticoagulante (K2EDTA - 2 mg / mL de sangre) en diferentes puntos de tiempo posterior a la dosis. Los especímenes de sangre recopiladas se centrifugaron a 4000 rpm, 4°C durante 10 minutos y el plasma se separó y almacenó en -80°C hasta el análisis. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

50

Tabla 5

	Comp. X	Ej. 4	Ej. 3*
Dosis (mg/kg de peso corporal)	10	10	50

C <sub>max</sub> (mg/mL)	2,3 ± 0,3	2,5 ± 0,9	2,3 ± 0,8
T <sub>max</sub> (h)	1,2 ± 0,8	1,3 ± 0,6	6 ± 2
AUC <sub>last</sub> (h*mg/mL)	14,8 ± 2,6	25,2 ± 10,0	42,4 ± 11,7
AUC <sub>inf</sub> (h*mg/mL)	15,5 ± 1,9	27,4 ± 10,1	129,8 ± 55,8
AUC <sub>extrap</sub> (%)	4,6 ± 5,6	8,5 ± 5,2	64,5 ± 13,5
T <sub>1/2</sub> (h)	3,4 ± 1,2	6,8 ± 1,5	41,5 ± 19,7
MRT <sub>last</sub> (h)	4,4 ± 1,1	6,7 ± 0,6	11,3 ± 0,5

\*Formulación liposoma

#### Estabilidad metabólica

5 El ensayo de estabilidad metabólica se realizó utilizando microsomas de hígado de humano/ratas. La composición final del ensayo incluye 5 µM de los elementos de prueba y los elementos de Control (Diclofenaco o Imipramina), preparados a partir del inventario de DMSO de tal manera que la concentración final de DMSO fue del 0,1%, 0,25 mg/mL de proteína microsomal y cofactores (5,0 mM G-6-P, 0,06 U/mL G-6-PDH, 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>, 1,0 mM NADP<sup>+</sup>). Se incubó el elemento de prueba/ elementos de control con microsomas de hígado de humano/rata con los cofactores y sin los cofactores. La mezcla de la reacción (100 µL) se eliminó en el periodo específico y la reacción se detuvo mediante la adición de una sustancia de parada. Se extrajeron las muestras en presencia de estándares internos y se analizaron utilizando LC-MS/MS. El porcentaje del elemento de prueba/control restante después del periodo de incubación especificado se calculó en relación con la proporción del área de pico al tiempo de 0 minutos.

#### 15 Breve protocolo

Se prepararon 4 veces la concentración de trabajo del elemento de prueba (20 µM)/elementos de control (20 µM) en 50 mM de la solución amortiguadora de fosfato de potasio (pH 7,4) utilizando 5 mM de los inventarios de DMSO. Se preparó 10 veces la concentración de trabajo de la solución microsomal de hígado de humano/rata (2,5 mg/mL) en 50 mM la solución amortiguadora de fosfato de potasio (pH 7,40) utilizando la solución del inventario de los microsomas de hígado de humano/rata (20 mg/mL de concentración de proteína). Se incubó la mezcla de la reacción de 100 µL (para cada punto de tiempo) al añadir 45 µL de la solución amortiguadora de fosfato de potasio, 10 µL de la solución microsomal de hígado de humano/rata diluido (2,5 mg/mL), 25 µL de los elementos de prueba/control (20 µM) y 20 µL de los cofactores/solución amortiguadora. Se incubó la mezcla de la reacción más a 37°C para los puntos de tiempo especificados (con cofactores: 0, 15, 30, 60 y 120 min; sin cofactores: 0 y 120 min). Se transfirieron 100 µL de las muestras de incubación de los elementos de prueba y los elementos de control a puntos de tiempo de incubación especificados a los respectivos tubos para la extracción de muestra.

#### 30 Método de extracción por precipitación de proteínas

Se extrajeron los especímenes del elemento de prueba y de control mediante el método de precipitación de proteínas. Se añadió 100 µL de la muestra de incubación en cada punto de tiempo a los tubos que contienen 200 µL de acetonitrilo helado y 50 µL de la solución haloperidol (0,5 µg/mL). Después los tubos se mezclaron con vórtex minuciosamente y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Un claro sobrenadante de 200 µL de las muestras se sometieron a análisis de LC-MS/MS. Los resultados, expresados como % restantes después de la incubación durante 60 minutos, se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

Compuesto	Microsomas humanos	Microsomas de rata
Comp. X	86,2 %	89,7 %
Ej. 3	96,1 %	99,4 %
ej. 4	90,0 %	84,0 %

#### 40 Unión de proteínas plasmáticas de humano y de rata

##### Metodología

45 El estudio de la unión de las proteínas plasmáticas se realizó utilizando el dispositivo de Diálisis de Equilibrio Rápida (RED, por sus siglas en inglés) que contiene membranas de diálisis con un límite de peso molecular de 8.000 Dalton. Cada inserto de diálisis contenía dos cámaras. La cámara roja era para el plasma mientras que la cámara blanca era para la solución amortiguadora. Los elementos de prueba y los elementos de control (Warfarina y Propanolol) se prepararon a una concentración de prueba requerida de 10 µM en plasma de humano/rata (pH ajustado a 7,40) utilizando 10 mM del inventario de DMSO (la concentración final de DMSO fue de 0,1%). Se añadió 300 µL de la muestra de plasma en la

cámara de prueba. Se añadió 500 µL del amortiguador en la cámara de la solución amortiguadora. Después del sellado del dispositivo RED con una película adhesiva, se realizó la incubación a 37 °C con agitación a 300 rpm durante 4 horas. Después de la incubación, se eliminó una alícuota de 50 µL de cada crisol (lado plasma y la solución amortiguadora) y se diluyó con igual volumen de la matriz opuesta para nulificar el efecto de la matriz y se sometió a extracción de muestra.

5

Método de extracción por precipitación de proteínas

10

Se extrajeron todas las muestras mediante el Método de precipitación de proteínas al agregar 200 µL de acetonitrilo helado y 50 µL de la solución estándar interna (Haloperidol a 0,1µg/mL). Los tubos se mezclaron con vórtex minuciosamente y se centrifugaron a 10.000 rpm, 4°C durante 10 minutos. Un claro sobrenadante de 200 µL de las muestras se sometieron a análisis de LC- MS/MS. Los resultados, expresados como % de la unión proteínas plasmáticas, se muestran en la Tabla 7.

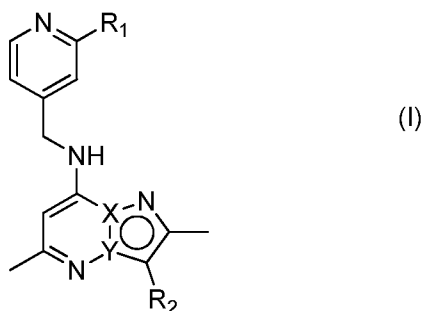
15

Tabla 7

<b>Compuesto</b>	<b>Plasma humano</b>	<b>Plasma de rata</b>
Compuesto X	97,3 %	97,6 %
Ej. 3	97,8 %	94,1%
Ej. 4	98,5 %	98,3 %

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula (I)



5

o una sal farmacéuticamente aceptable, donde uno de X e Y es C y el otro es N; R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, CN, NH(CH<sub>3</sub>), N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, alcoxi C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos y alquilo C1-C4 opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos, CN, NH(CH<sub>3</sub>), o N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; y R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo o 1,3-dimetilo-1*H*-indazol-5-ilo.

10

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>2</sub> es 3,4-dimetoxifenilo.

15

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>2</sub> es 1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-ilo.

4. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno, CN, alcoxi C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos y alquilo C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos.

20

5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>1</sub> se selecciona del F, CN, metoxi, metilo, trifluorometilo y etilo.

25

6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>1</sub> se selecciona del halógeno y alquilo C1-C4, opcionalmente sustituido por 1-3 halógenos.

7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R<sub>1</sub> se selecciona de F, metilo, trifluorometilo y etilo.

30

8. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde X es N e Y es C.

9. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde X es C e Y es N.

10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionado de

- 3- (3,4-dimetoxifenil) -2,6-dimetil-N - ((2-metilpiridin-4-il) metil) imidazo [1,2-b] piridazin-8-amina,  
 3- (3,4-dimetoxifenil) -N - ((2-fluoropiridin-4-il) metil) -2,6-dimetilimidazo [1,2-b] piridazin-8-amina,  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-fluoropiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina, y  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-metilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina,  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-etilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina,  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-metoxipiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina,  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-cianopiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina, y  
 3- (1,3-dimetil-1*H*-indazol-5-il) -2,5-dimetil-N - [(2-trifluorometilpiridin-4-il) metil] pirazolo [1,5-a] pirimidin-7- amina,  
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

45

11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y opcionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

50

13. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de una infección viral, o una enfermedad causada por una infección viral.

55

14. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, donde la infección

viral es una infección viral por ARN.

15. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, donde la infección viral por ARN es una infección por picornavirus.

5

16. El compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 13 a 15, donde la enfermedad se selecciona de pancreatitis, poliomielitis, encefalitis, meningitis, sepsis, cáncer, parálisis, una enfermedad cardíaca, diabetes, resfriado común, enfermedad de mano, pie y boca, herpangina, pleurodinia, diarrea, una lesión mucocutánea, enfermedades respiratorias, conjuntivitis, miositis, síndrome de fatiga crónica,, enfermedades neuropsiquiátricas, enfermedades neurodegenerativas o afecciones inflamatorias.

10