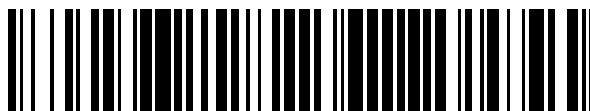


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 744 587**

51 Int. Cl.:

C07H 19/06 (2006.01)
A61K 31/7072 (2006.01)
C07H 19/067 (2006.01)
A61K 31/7068 (2006.01)
C07H 19/10 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
C07H 19/073 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.04.2012** **PCT/US2012/033675**
87 Fecha y número de publicación internacional: **18.10.2012** **WO12142523**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.04.2012** **E 12716969 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2019** **EP 2697241**

54 Título: **Análogos de N-nucleósido de pirimidina 1-sustituidos para un tratamiento antiviral**

30 Prioridad:

13.04.2011 US 201161474848 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.02.2020

73 Titular/es:

GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US

72 Inventor/es:

CHO, AESOP;
KIM, CHOUNG U.;
KIRSCHBERG, THORSTEN A.;
MISH, MICHAEL R. y
SQUIRES, NEIL

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 744 587 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

Análogos de N-nucleósido de pirimidina 1-sustituidos para un tratamiento antiviral

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La invención se refiere en general a compuestos con actividad antiviral, más particularmente nucleósidos activos contra infecciones de virus *Flaviviridae*, *Paramyxoviridae*, *Orthomyxoviridae*, y *Picornaviridae*.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los virus que comprenden la familia *Flaviviridae* comprenden al menos tres géneros distinguibles incluyendo *pestivirus*, *flavivirus*, y *hepacivirus* (Calisher, et al., J. Gen. Virol., 1993, 70, 37-43). Si bien los *pestivirus* causan muchas enfermedades animales económicamente importantes, como el virus de la diarrea viral bovina (BVDV), el virus de la peste porcina clásica (CSFV, cólera porcina) y la enfermedad fronteriza de las ovejas (BDV), su importancia en la enfermedad humana está menos caracterizada (Moennig, V., y col., Adv. Vir. Res. 1992, 48, 53-98). Los *flavivirus* son responsables de importantes enfermedades humanas como el dengue y la fiebre amarilla, mientras que los *hepacivirus* causan infecciones por el virus de la hepatitis C en humanos. Otras infecciones virales importantes causadas por la familia *Flaviviridae* incluyen el virus de la encefalitis japonesa (JEV) del virus del Nilo Occidental (VNO), el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus Junjin, la encefalitis del valle de Murray, la encefalitis de San Luis, el virus de la fiebre hemorrágica de Omsk y el virus del Zika. Combinadas, las infecciones de la familia del virus *Flaviviridae* causan mortalidad, morbilidad y pérdidas económicas significativas en todo el mundo. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar tratamientos efectivos para las infecciones por el virus *Flaviviridae*.

[0003] Un miembro común de la familia *Flaviviridae* es virus de la hepatitis C (VHC). El VHC es la principal causa de enfermedad hepática crónica en todo el mundo (Boyer, N. et al. J Hepatol. 32: 98-112, 2000), por lo que un enfoque importante de la investigación antiviral actual se dirige al desarrollo de mejores métodos de tratamiento de infecciones de VHC crónico en humanos (Di Besceglie, AM y Bacon, BR, Scientific American, oct.: 80-85, (1999); Gordon, CP, et al., J. Med. Chem. 2005, 48, 1-20; Maradpour, D.; y col., Nat. Rev. Micro. 2007, 5 (6), 453-463). Bymock et al. Revisan varios tratamientos contra el VHC. en Antiviral Chemistry & Chemotherapy, 11: 2; 79-95 (2000).

[0004] La ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp) es uno de los objetivos mejor estudiados para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos del VHC. La polimerasa NS5B es un objetivo para los inhibidores en los primeros ensayos clínicos en humanos (Sommadossi, J., WO 01/90121 A2, US 2004/0006002 A1). Estas enzimas se han caracterizado ampliamente a nivel bioquímico y estructural, con ensayos de detección para identificar inhibidores selectivos (De Clercq, E. (2001) J. Pharmacol. Exp. Ter. 297: 1-10; De Clercq, E. (2001)) J. Clin. Virol. 22: 73-89). Los objetivos bioquímicos como NS5B son importantes en el desarrollo de terapias contra el VHC, ya que el VHC no se replica en el laboratorio y existen dificultades para desarrollar ensayos basados en células y sistemas preclínicos de animales.

[0005] Actualmente, existen principalmente dos compuestos antivirales, ribavirina, un análogo de nucleósido, e interferón-alfa (α) (IFN), que se utilizan para el tratamiento de infecciones por VHC crónica en humanos. La ribavirina sola no es efectiva para reducir los niveles de ARN viral, tiene una toxicidad significativa y se sabe que induce anemia. Se ha informado que la combinación de IFN y ribavirina es efectiva en el tratamiento de la hepatitis C crónica (Scott, LJ, et al. Drugs 2002, 62, 507-556), pero menos de la mitad de los pacientes que recibieron este tratamiento muestran un beneficio persistente. Otras solicitudes de patente que describen el uso de análogos de nucleósidos para tratar el virus de la hepatitis C incluyen WO 01/32153, WO 01/60315, WO 02/057425, WO 02/057287, WO 02/032920, WO 02/18404, WO 04/046331, WO2008/089105 y WO2008/141079, pero los tratamientos adicionales para las infecciones por VHC aún no están disponibles para los pacientes.

[0006] Las curas virológicas de pacientes con infección crónica por el VHC son difíciles de lograr debido a la prodigiosa cantidad de producción diaria de virus en pacientes con infección crónica y la alta mutabilidad espontánea del virus del VHC (Neumann, et al., Science 1998, 282, 103- 7; Fukimoto, et al., Hepatology, 1996, 24, 1351-4; Domingo, et al., Gene, 1985, 40, 1-8; Martell, et al., J. Virol. 1992, 66, 3225-9. Se ha demostrado que los análogos nucleósidos antivirales experimentales inducen mutaciones viables en el virus del VHC tanto *in vivo* como *in vitro* (Migliaccio, et al., J. Biol. Chem. 2003, 926; Carroll, et al., Antimicrobial Agents Chemotherapy 2009, 926; Brown, AB, Expert Opin. Investig. Drugs 2009, 18, 709-725). Por lo tanto, los medicamentos que tienen propiedades antivirales mejoradas, particularmente actividad mejorada contra cepas resistentes de virus, biodisponibilidad oral mejorada, menos lado indeseable Los efectos y la vida media efectiva extendida *in vivo* (De Francesco, R. et al. (2003) Antiviral Research 58: 1-16) se requieren urgentemente.

[0007] Nucleósidos y nucleótidos 2'-deoxi-2'-fluoro anti HCV han sido descritos por Sofia (WO/2008/121634), Attenni (WO/2008/142055), Narjes (WO/2008/085508), Wang (WO/2006/012440), Clark (WO/2005/003147) y Sommadossi (WO/2004/002999) pero ninguno de estos compuestos ha estado disponible para los pacientes.

[0008] Los virus de influenza de la familia *Orthomyxoviridae* que pertenecen a los géneros A y B son los responsables

de las epidemias de gripe estacional cada año, que causan infecciones respiratorias agudas contagiosas. Los niños, los ancianos y las personas con enfermedades crónicas corren un alto riesgo de desarrollar complicaciones graves que conducen a altas tasas de morbilidad y mortalidad (Memoli et al., Drug Discovery Today 2008, 13, 590-595). Entre los tres géneros de influenza, los virus tipo A son los patógenos humanos más virulentos que causan la enfermedad más grave, pueden transmitirse a otras especies y dan lugar a pandemias de influenza humana. El reciente brote de influenza humana de la cepa agresiva porcina A/H1N1 en 2009 ha hecho hincapié en la necesidad de nuevas terapias antivirales. Si bien los programas de vacunación anuales se utilizan actualmente para proteger a las poblaciones de la infección por influenza, estos programas deben anticipar que las cepas de virus que prevalecerán durante los brotes estacionales sean efectivas y no abordan el problema de las pandemias de influenza repentinas e imprevistas. El reciente brote de influenza humana de la cepa agresiva porcina A/H1N1 en 2009 es un ejemplo de este problema. Por lo tanto, existe una continua necesidad de nuevas terapias anti-influenza.

[0009] El documento WO 01/90121 A2 se refiere a un método y composición para tratar un huésped infectado con hepatitis C que comprende administrar una cantidad eficaz de tratamiento de hepatitis C de un nucleósido modificado 1', 2' o 3' o una sal o profármaco farmacéuticamente aceptable.

[0010] Haidong Huang y col., Journal of the American Chemical Society, vol. 131, no. 4, 4 de febrero de 2009, páginas 1344-1345 se refiere a la inhibición competitiva de uracilo ADN glicosilasa por un nucleótido modificado cuyo trifosfato es un sustrato para la ADN polimerasa.

[0011] Peter Grünefeld y col., Journal of Organic Chemistry, vol. 69, no. 22, 1 de octubre de 2004, páginas 7543-7551 se refiere a la síntesis de una 1'-aminometiltimidina y oligodesoxirribonucleótidos con residuos de 1'-acilamidometiltimidina.

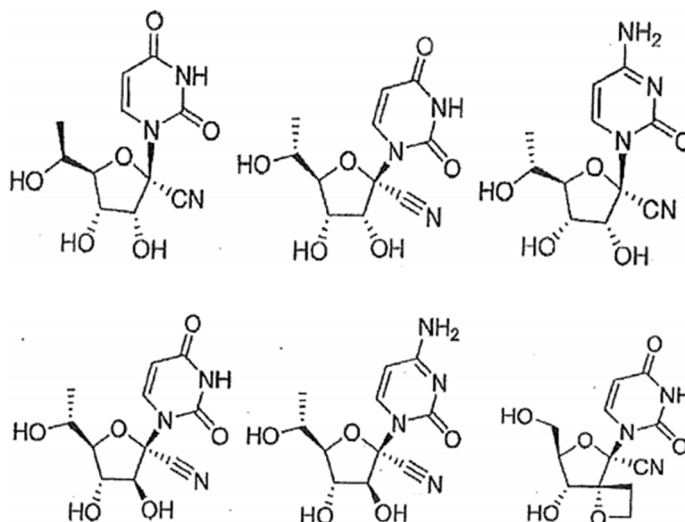
[0012] Tetsuya Kodama et al., Chemistry- A European Journal, vol. 7, nº 11, 1 de junio de 2011, páginas 2332-2340 se refiere a un método para la preparación de ribonucleósidos de pirimidina de azúcar de cadena ramificada 1'α de uridina.

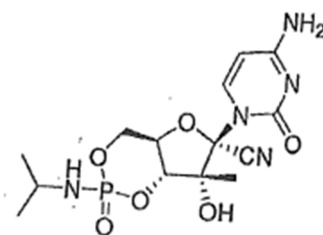
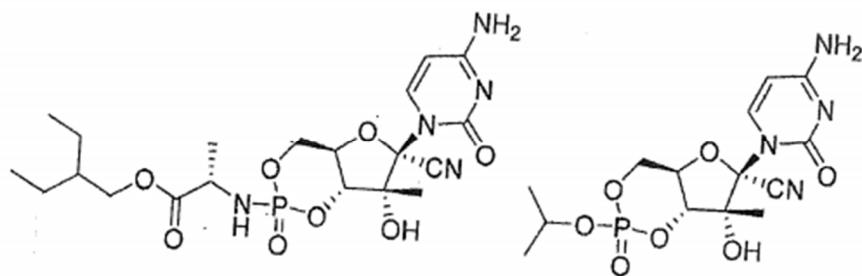
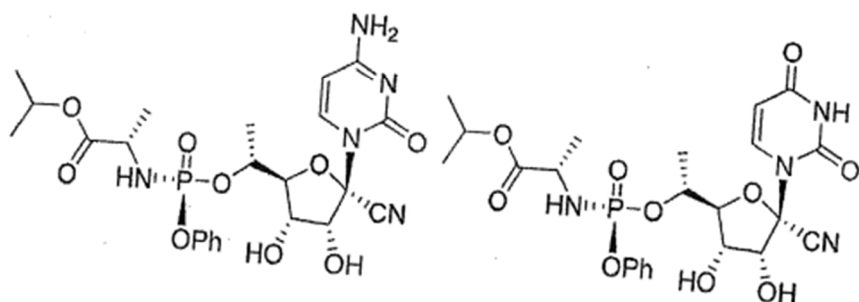
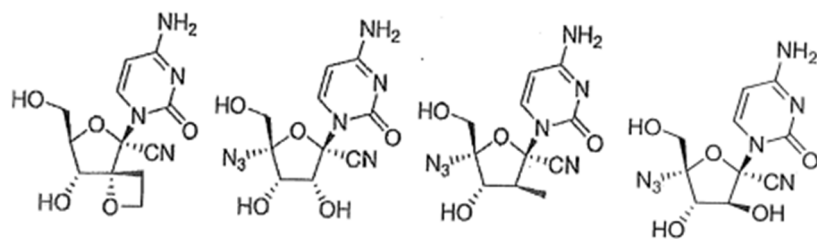
[0013] Valérie Uteza et al., Tetrahedron, vol. 49, nº 38, 1 de septiembre de 1993, páginas 8579-8588 se refiere a la determinación de síntesis y estructura de nucleósidos 1'-C-ciano-β-D.

SUMARIO DE LA INVENCION

[0014] Se proporcionan compuestos que inhiben los virus de la familia *Flaviviridae*. La invención también comprende compuestos que inhiben las polimerasas de ácido nucleico viral, particularmente la ARN polimerasa dependiente de ARN del VHC (RdRp), en lugar de las polimerasas de ácido nucleico celular. Sin desear limitarse a la teoría, los compuestos de la invención pueden inhibir la ARN polimerasa dependiente de ARN viral y, por lo tanto, inhibir la replicación del virus. Los compuestos de la invención son útiles para tratar infecciones por *Flaviviridae*, incluida la hepatitis C, en humanos y otros animales. Sorprendentemente se ha encontrado que cuando R⁶ es distinto de hidrógeno, como, por ejemplo, ciano, alqueno o alquino, los compuestos tienen una selectividad celular mejorada. Esto se explica con más detalle en los ejemplos a continuación.

[0015] La presente invención proporciona un compuesto seleccionado de:





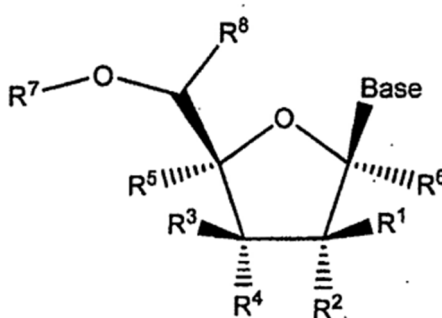
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES EJEMPLARES

[0016] Ahora se hará referencia en detalle a ciertas realizaciones de la invención, ejemplos de las cuales se ilustran en la descripción adjunta, las estructuras y fórmulas. Si bien la invención se describirá junto con las realizaciones enumeradas, se entenderá que no están destinadas a limitar la invención a esas realizaciones. Por el contrario, la invención está destinada a cubrir todas las alternativas, modificaciones y equivalentes, que pueden incluirse dentro del alcance de la presente invención.

Compuestos

[0017] Los compuestos de la presente invención, que se describen anteriormente, son compuestos de Fórmula I. Además, los compuestos de Fórmula I también se describen en el presente documento. Por lo tanto, la presente descripción proporciona compuestos de Fórmula I:



Formula I

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos;
en donde:

Base es una base de pirimidina natural o modificada;

R¹ es H, CN, OR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquenilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, (C₂-C₄) alquinilo sustituido o S(O)_nR^a;

R² es H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-C₆) cicloalquilalquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquenilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) alquinilo sustituido;

o R¹ y R² tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 6 miembros en el que 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O o S(O)_n;

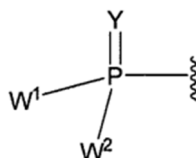
R³, R⁴ y R⁵ son cada uno independientemente H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, halógeno, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquil, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) alquinilo sustituido;

o dos de R³, R⁴ o R⁵ en átomos de carbono adyacentes cuando se toman juntos son -O(CO)O- o cuando se toman junto con los átomos de carbono del anillo a los que están unidos para formar un doble enlace;

R⁶ es CN, etenilo, 2-haloeten-1-ilo, o (C₂-C₈) alquin-1-ilo, cada n es independientemente 0, 1, o 2;

cada R^a es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, arilo (C₁-C₈) alquilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), o -SO₂NR¹¹R¹²;

R⁷ es H, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), -SO₂NR¹¹R¹², o el grupo de Fórmula Ia



Formula Ia

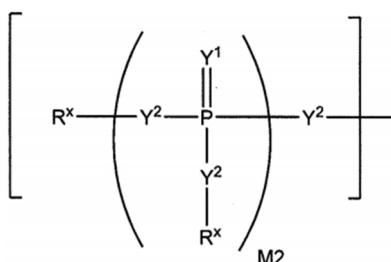
en donde

Y es O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR) o N-NR₂;

W¹ y W², cuando se toman juntos, son -Y³(C(R^y))₂Y³;

o uno de W¹ o W² junto con R³ o R⁴ es -Y³- y el otro de W¹ o W² es Fórmula Ib;

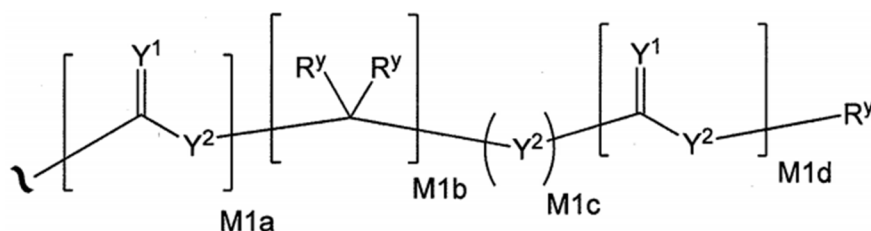
o W¹ y W² son cada uno, independientemente, un grupo de Fórmula Ib:



Formula Ib

en donde:

cada Y^1 es independientemente O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, o $N-NR_2$;
 cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 , NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, $N-NR_2$, S, S-S, S(O),
 o $S(O)_2$;
 cada Y^3 es independientemente O, S, o NR;
 M2 es 0, 1 o 2;
 cada R^x es un grupo de Fórmula Ic



Formula Ic

en donde:

cada M1a, M1c y M1d es independientemente 0 o 1;
 M1b es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;
 cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, -CN, -N₃, -NO₂, -OR, -C(R)₂-O-C(R)₃, -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)R¹³, -
 C(=Y¹)OR, -C(=Y¹)N(R)₂, -N(R)₂, -⁺N(R)₃, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)₂R¹³, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -
 OC(=Y¹)R, -OC(=Y¹)OR, -OC(=Y¹)N(R)₂, -SC(=Y¹)R, -SC(=Y¹)OR, -SC(=Y¹)N(R)₂, -N(R)C(=Y¹)R, -
 N(R)C(=Y¹)OR, -N(R)C(=Y¹)N(R)₂, -SO₂NR₂, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alqueno, (C₂-C₈) alquino, (C₆-C₂₀)
 arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterocicilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo,

en donde cada (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₃) alqueno, (C₂-C₃) alquino, (C₆-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo,
 (C₂-C₂₀) heterocicilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo está opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R²⁰;
 o cuando se toman juntos, dos R^y en el mismo átomo de carbono forman un anillo de cicloalquilo de
 3 a 7 átomos de carbono;

cada R es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alqueno, (C₂-C₈) alquino, (C₆-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀)
 cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterocicilo, o arilalquilo;

R⁸ es H, (C₁-C₄) alquilo, o (C₁-C₄) alquilo sustituido;

cada R¹¹ o R¹² es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alqueno, (C₂-C₈) alquino, (C₄-C₈)
 cicloalquilalquilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterocicilo, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo
 opcionalmente sustituido, -C(=O) (C₁-C₈) alquilo, -S(O)_n(C₁-C₈) alquilo o (C₁-C₈) arilalquilo; o R¹¹ y R¹²
 tomados junto con un nitrógeno al que están unidos ambos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros
 en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico puede reemplazarse opcionalmente con -
 O-, -S- o -NR^a;

cada R¹³ es independientemente un cicloalquilo o heterociclo opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R o
 R²⁰;

cada R²⁰ es independientemente, halógeno, CN, N₃, N(R)₂, OR, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(OR), -
 S(O)₂(OR), -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)OR, o C(=Y¹)N(R)₂;

en donde cada alquilo, alqueno, alquino, arilo o heteroarilo de cada uno de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁸, R¹¹ o R¹²
 está, independientemente, opcionalmente sustituido con 1 a 3 halo, hidroxilo, CN, N₃, N(R^a)₂ u OR^a; y en donde
 1 a 3 de los átomos de carbono no terminales de cada uno de dichos alquilo (C₁-C₈) se pueden reemplazar
 opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a;
 con las siguientes condiciones:

- cuando R¹, R³ y R⁵ son hidrógeno, R² y R⁴ son hidroxilo, R⁶ es ciano y R⁷ y R⁸ son hidrógeno,
 entonces la Base no es uracilo o timina;
- cuando R¹ y R⁴ son hidroxilo, R², R³ y R⁵ son hidrógeno, R⁶ es ciano y R⁷ y R⁸ son hidrógeno,
 entonces la Base no es uracilo o citosina;
- cuando R¹, R², R³ y R⁵ son hidrógeno, R⁴ es hidroxilo, R⁶ es ciano y R⁷ y R⁸ son hidrógeno, entonces
 la Base no es uracilo, citosina, timina o 5-yodo-uracilo;
- cuando R¹, R³ y R⁵ son hidrógeno, R² y R⁴ son hidroxilo, R⁶ es etenilo y R⁷ y R⁸ son hidrógeno,
 entonces la Base no es uracilo o citosina;
- cuando R⁵ es distinto de H, entonces R⁸ es H;
- cuando R¹ es hidroxilo, R², R³, R⁵ y R⁸ son hidrógeno, R⁶ es ciano, R⁴ es hidrógeno o benzoilo, y R⁷
 es hidrógeno o benzoilo, entonces la Base no es citosina;

g) cuando R^1 es acetilo o hidroxilo, R^2 , R^3 , R^5 , R^7 y R^8 son hidrógeno, R^4 es hidroxilo o $-OC(O)$ fenilo, entonces la Base no es 2-oxo-4- hidroxipirimidinilo;

h) cuando R^1 es acetoxi, R^4 es benzoilo, R^6 es ciano, R^7 es benzoilo y R^2 , R^3 , R^5 y R^8 son hidrógeno, entonces la base no es uracilo; y

i) al menos uno de R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 no es hidrógeno.

[0018] Cabe señalar que en las condiciones discutidas en todo momento cuando se hace referencia a la Base sin indicar específicamente que está sustituida, como el uracilo o la timina, la condición solo se refiere a la Base no sustituida.

[0019] En algunas realizaciones, R^1 es H, CN, OR^a , (C_1-C_4) alquilo, (C_2-C_4) alquenilo, o (C_2-C_4) alquinilo. En algunas realizaciones, R^1 es hidrógeno, metilo, o hidroxilo.

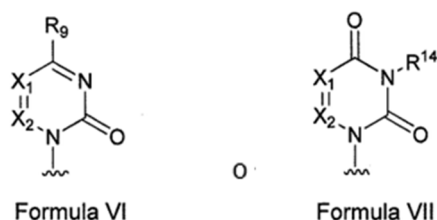
[0020] En algunas realizaciones, R^2 es H o OR^a . En algunas realizaciones, R^2 es hidrógeno, metoxi o hidroxilo.

[0021] En algunas realizaciones, R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 4 miembros en donde 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O.

[0022] En algunas realizaciones, R^3 , R^4 y R^5 son cada uno independientemente H, OR^a , N_3 , CN, (C_1-C_4) alquilo, o (C_2-C_4) alquinilo. En algunas realizaciones, R^3 , R^4 y R^5 son cada uno independientemente H, hidroxilo, N_3 u $-OC(O)-$ isopropilo.

[0023] En algunas realizaciones, la base es uracilo opcionalmente sustituido con halógeno, tal como, a modo de ejemplo solamente, fluoro. En otras realizaciones, la Base es citosina opcionalmente sustituida con halógeno, tal como, a modo de ejemplo solamente, fluoro.

[0024] En algunas realizaciones, la base es una pirimidina representada por la Fórmula VI o VII:



o tautómero del mismo,
en donde:

cada X^1 o X^2 es independientemente CR^{10} o N, siempre que al menos uno de X^1 o X^2 sea CR^{10} ;

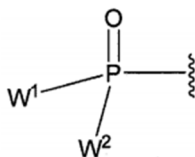
cada R^9 es H, halógeno, NR^{11} R^{12} , $N(R^{11})OR^{11}$, $NR^{11}NR^{11}R^{12}$, N_3 , NO, NO_2 , OR^{11} o SR^{11} ; y

cada R^{10} es independientemente H, halógeno, NR^{11} R^{12} , $N(R^{11})OR^{11}$, $NR^{11}NR^{11}R^{12}$, N_3 , NO, NO_2 , CHO, CN, -CH(=NR¹¹), -CH=NHNR¹¹, -CH=N(OR¹¹), -CH(OR¹¹)₂, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=S)NR¹¹R¹², -C(=O)OR¹¹, R^{11} , OR¹¹ o SR¹¹;

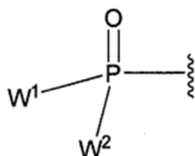
cada R^{11} o R^{12} es independientemente H, (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenilo, (C_2-C_8) alquinilo, (C_4-C_8) cicloalquilalquilo, (C_3-C_{20}) cicloalquil, (C_2-C_{23}) heterociclilo, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -C(=O) (C_1-C_8) alquilo, -S(O)_n (C_1-C_8) alquilo o arilalquilo (C_1-C_8) ; o R^{11} y R^{12} tomados junto con un nitrógeno al que están unidos ambos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico puede reemplazarse opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a-; y R^{14} es H, (C_1-C_8) alquilo, o (C_4-C_8) cicloalquilalquilo.

[0025] En algunas realizaciones, R^6 es CN, etenilo, o etinilo.

[0026] En algunas realizaciones, R^7 es H o



[0027] En algunas realizaciones, R^7 es H o



en donde W^1 y W^2 son cada uno, independientemente, un grupo de la Fórmula Ib.

[0028] Las realizaciones adicionales de R^7 se describen a continuación.

[0029] En algunas realizaciones,

R^1 es H, OH, CN, (C_1-C_4) alquilo, (C_2-C_4) alquenilo, o (C_2-C_4) alquinilo;

R^2 es H, OH o $O(C_1-C_4)$ alquilo;

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 6 miembros en el que 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O;

R^3 es H o (C_1-C_4) alquilo;

R_4 es H, OH, $O(C_1-C_4)$ alquilo, o $OC(O)-(C_1-C_4)$ alquilo;

R_5 es H, CN, N_3 , (C_1-C_4) alquilo, (C_2-C_4) alquenilo, o (C_2-C_4) alquinilo;

R^6 es CN, etenilo, 2-haloeten-1-ilo, o (C_2-C_8) alquin-1-ilo; y

R^8 es H o (C_1-C_4) alquilo.

[0030] En algunas realizaciones,

R^1 es H, OH, $O(C_1-C_4)$ alquilo;

R^2 es H, OH o $O(C_1-C_4)$ alquilo;

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 4 miembros en el que un átomo de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O;

R^3 es H o (C_1-C_4) alquilo;

R_4 es H, OH, $O(C_1-C_4)$ alquilo, o $-OC(O)-(C_1-C_4)$ alquilo;

R_5 es H, N_3 , o (C_1-C_4) alquilo;

R^6 es CN, etenilo, o etinilo; y

R^8 es H o (C_1-C_4) alquilo.

[0031] En algunas realizaciones, la base es una base de pirimidina que ocurren naturalmente o modificados; R^1 es H, OH, CN, (C_1-C_4) alquilo, (C_2-C_4) alquenilo, o (C_2-C_4) alquinilo;

R^2 es H, OH o $O(C_1-C_4)$ alquilo;

o R^1 y R^2 tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 6 miembros en el que 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O;

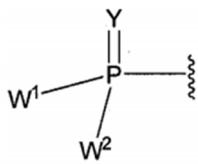
R^3 es H o (C_1-C_4) alquilo;

R_4 es H, OH, $O(C_1-C_4)$ alquilo, o $-OC(O)-(C_1-C_4)$ alquilo;

R_5 es H, CN, N_3 , (C_1-C_4) alquilo, (C_2-C_4) alquenilo, o (C_2-C_4) alquinilo;

R^6 es CN, etenilo, 2-haloeten-1-ilo, o (C_2-C_8) alquin-1-ilo;

R^7 es H, $-C(=O)R^{11}$, $-C(=O)OR^{11}$, $-C(=O)NR^R R^{12}$, $-C(=O)SR^{11}$, $-S(O)R^{11}$, $-S(O)_2R^{11}$, $-S(O)(OR^{11})$, $-S(O)_2(OR^{11})$, $-SO_2NR^{11} R^{12}$, o Fórmula Ia

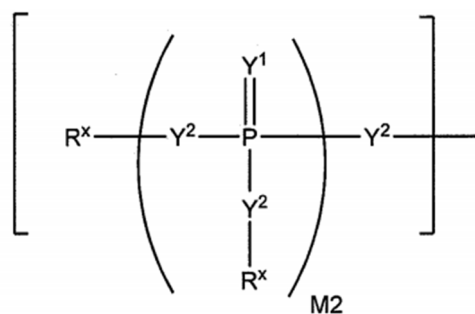


Y es O, S, NR, $+N(O)(R)$, $N(OR)$, $+N(O)(OR)$ o $N-NR_2$;

W^1 y W^2 , cuando se toman juntos, son $-Y^3(C(R^Y)_2)_3Y^{3-}$;

o uno de W^1 o W^2 junto con R^3 o R^4 es $-Y^{3-}$ y el otro de W^1 o W^2 es Fórmula Ib;

o W^1 y W^2 son cada uno, independientemente, un grupo de la Fórmula Ib:



Formula Ib

en donde:

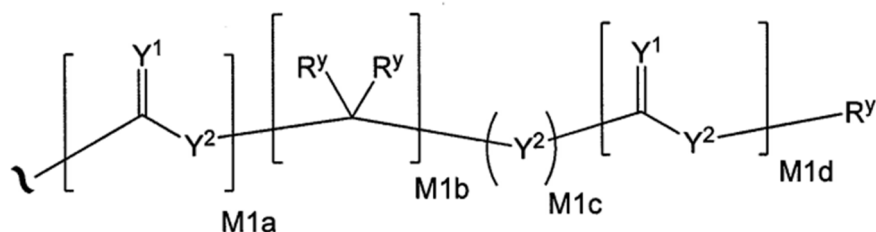
cada Y¹ es independientemente O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR), o N-NR₂;

cada Y² es independientemente un enlace, O, CR₂, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR), N-NR₂, S, S-S, S(O), o S(O)₂;

cada Y³ es independientemente O, S, o NR;

M2 es 0, 1 o 2;

cada R^x es independientemente R^y o la fórmula:



en donde:

cada M1a, M1c y M1d es independientemente 0 o 1;

M1b es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, OH, R, -C(R)₂-O-C(R)₃, -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)R¹³, -C(=Y¹)OR, -C(=Y¹)N(R)₂, -N(R)₂, ⁺N(R)₃, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)₂R¹³, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -OC(=Y¹)R, -OC(=Y¹)OR, -OC(=Y¹)(N(R)₂), -SC(=Y¹)R, -SC(=Y¹)OR, -SC(=Y¹)(N(R)₂), -N(R)C(=Y¹)R, -N(R)C(=Y¹)OR, -N(R)C(=Y¹)N(R)₂, -SO₂NR₂, -CN, -N₃, -NO₂, -OR, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₈-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterocicloalquilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo,

en donde cada (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₆-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterociclilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo está opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R²⁰; o cuando se toman juntos, dos R^y en el mismo átomo de carbono forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono;

cada R es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₆-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterociclilo, o arilalquilo;

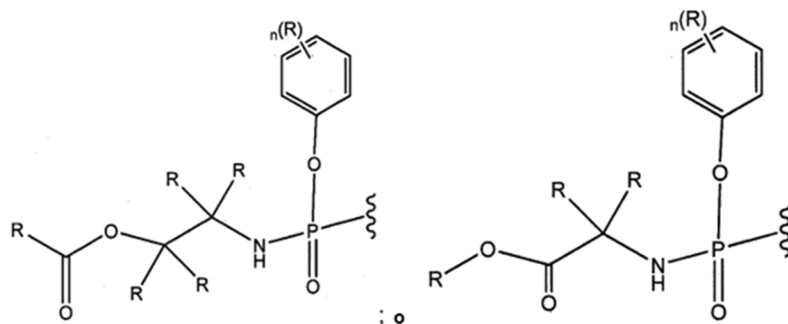
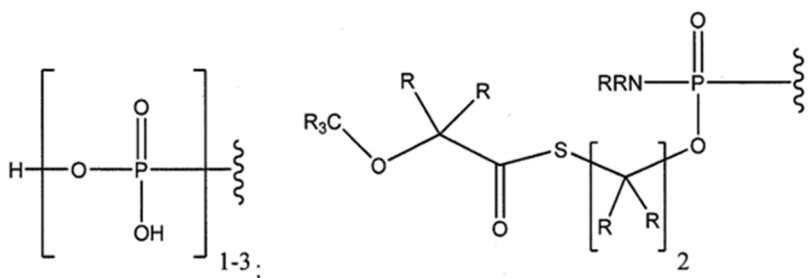
R⁸ es H, (C₁-C₄) alquilo, o (C₁-C₄) alquilo sustituido;

cada R¹¹ o R¹² es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -C(=O) (C₁-C₈) alquilo, -S(O)_n(C₁-C₈) alquilo o aril (C₁-C₈) alquilo; o R¹¹ y R¹² tomados junto con un nitrógeno al que están unidos ambos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico puede reemplazarse opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a-;

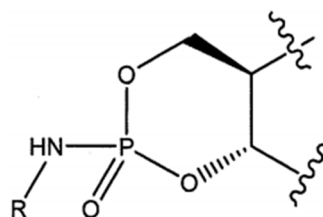
en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo de cada R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁸, R¹¹ o R¹² está, independientemente, opcionalmente sustituido con 1 a 3 halo, hidroxi, CN, N₃, N(R^a)₂ u OR^a; y en donde 1 a 3 de los átomos de carbono no terminales de cada uno de dichos alquilo (C₁-C₈) se pueden reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a-;

con la condición de que al menos uno de R¹, R², R³ y R⁴ sean hidroxi.

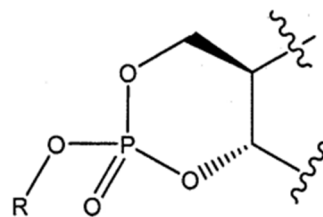
[0032] En algunas realizaciones, R⁷ es H o



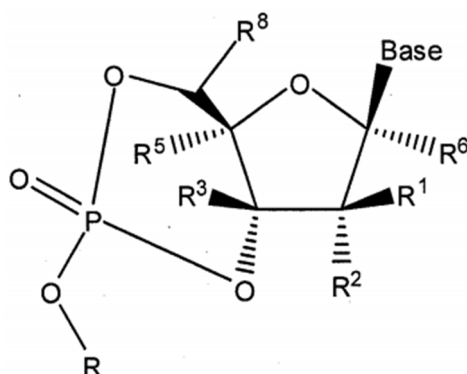
[0033] En algunas realizaciones, el grupo $-R^7-O-C(R^8)-C(R_5)-C(R_3)(R_4)-$ es de la siguiente fórmula:



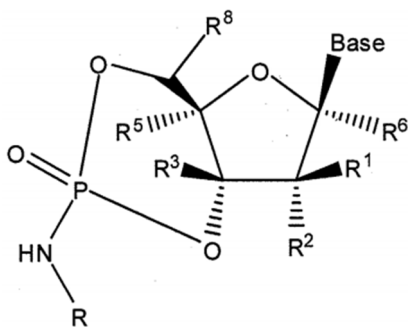
[0034] En algunas realizaciones, el grupo $-R^7-O-C(R^8)-C(R_5)-C(R_3)(R_4)-$ es de la siguiente fórmula:



[0035] En algunas realizaciones, el compuesto es de la siguiente fórmula:

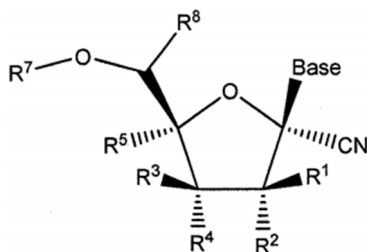


[0036] En algunas realizaciones, el compuesto es de la siguiente fórmula:



[0037] En algunas realizaciones, al menos uno de R¹, R², R³, y R⁴ son hidroxi. En algunas realizaciones, al menos dos de R¹, R², R³ y R⁴ son hidroxi.

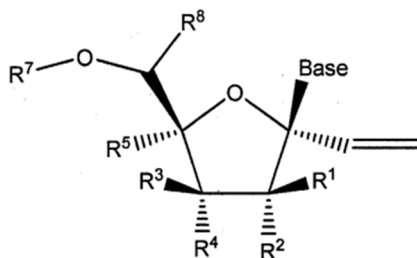
[0038] En algunas realizaciones, el compuesto está representado por la Fórmula II:



Formula II

en donde cada Y e Y¹ es O y cada uno de Base, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ es como se describe anteriormente.

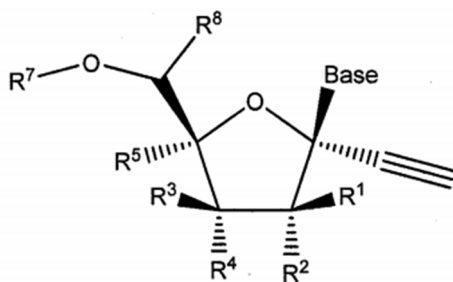
[0039] En algunas realizaciones, el compuesto está representado por la Fórmula III:



Formula III

donde cada Y e Y¹ es O y cada uno de Base, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ es como se describe anteriormente.

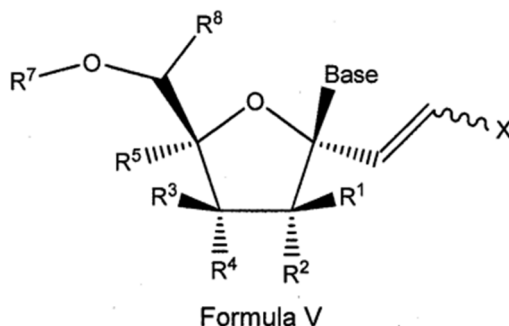
[0040] En algunas realizaciones, el compuesto está representado por la Fórmula I-V:



Formula IV

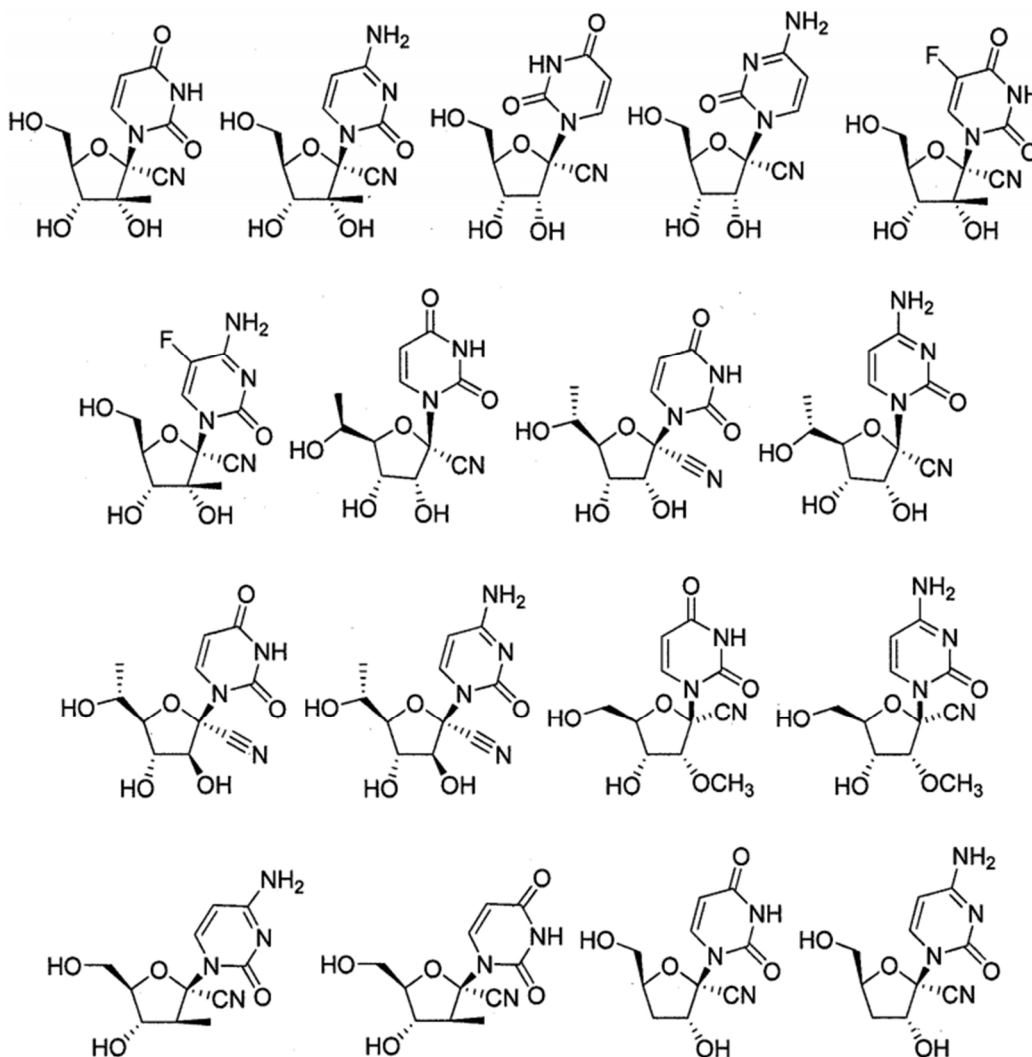
en donde cada Y e Y¹ es O y cada uno de Base, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ es como se describe anteriormente.

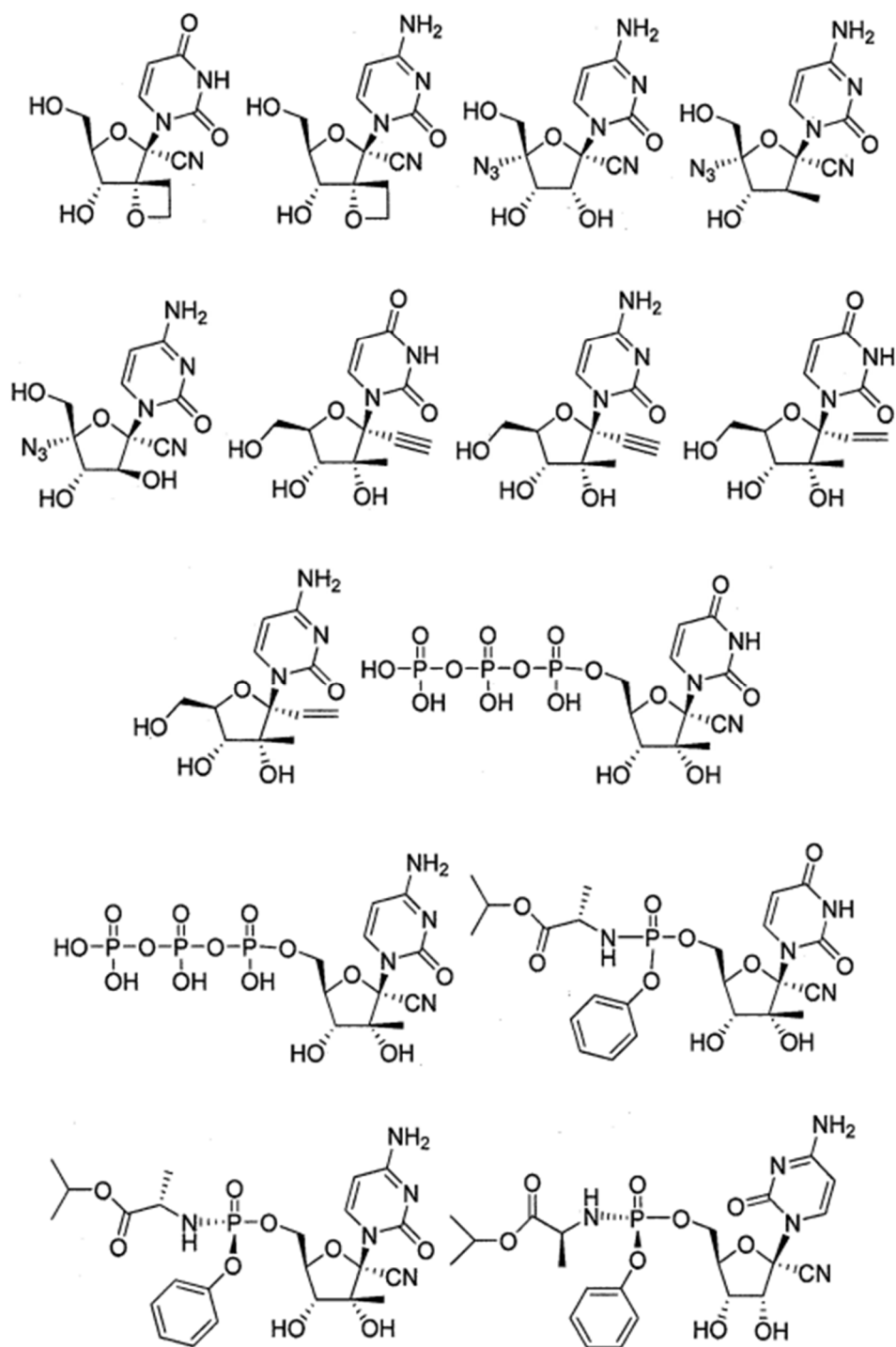
[0041] En algunas realizaciones, el compuesto está representado por la Fórmula V:

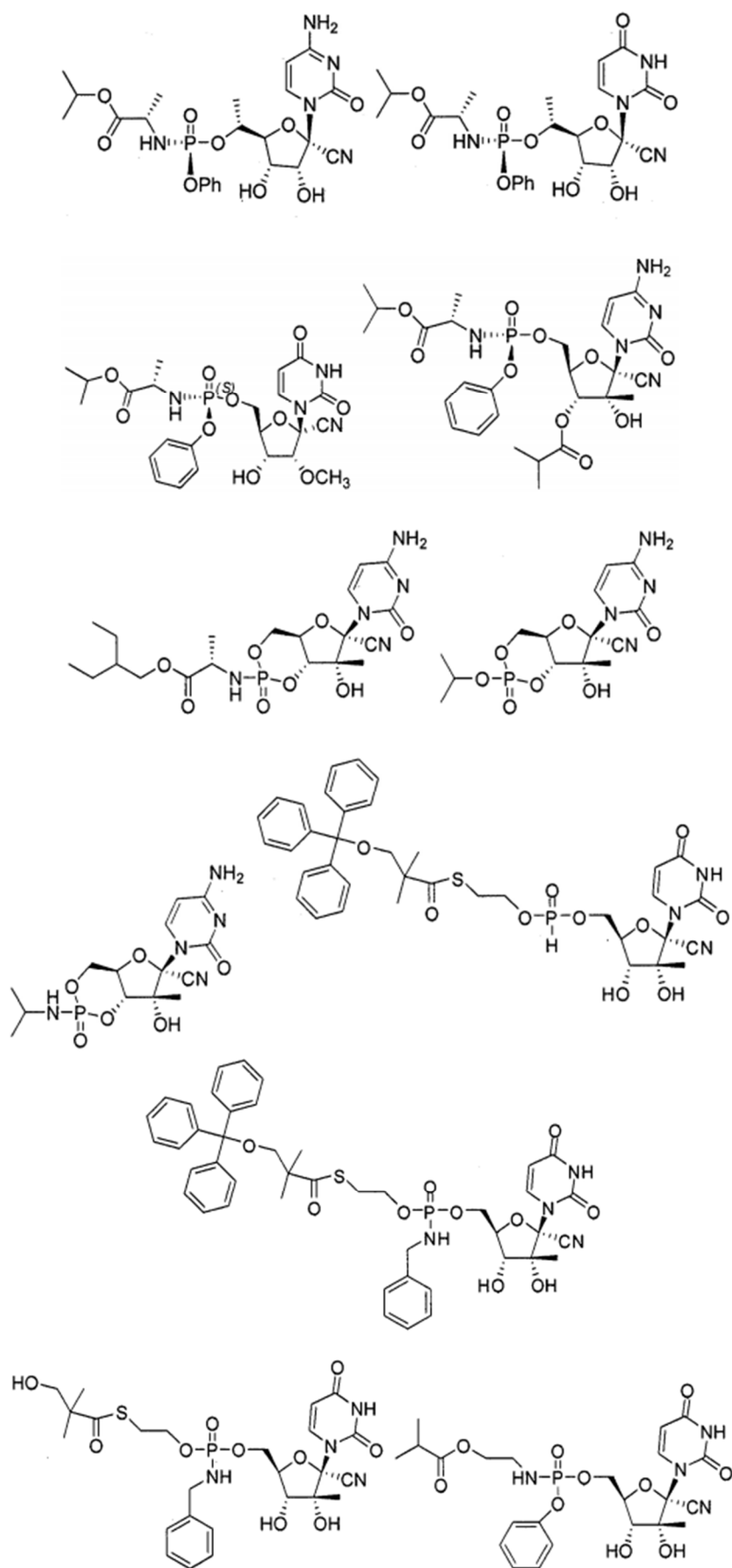


en donde cada Y e Y¹ es O y X es halógeno y cada uno de Base, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ es como se describe anteriormente. En algunas realizaciones, el halógeno es flúor, cloro o yodo. En algunas realizaciones, los grupos bromovinilo no están incluidos en la posición R⁶.

[0042] En otra realización, el compuesto de Fórmula I-V es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

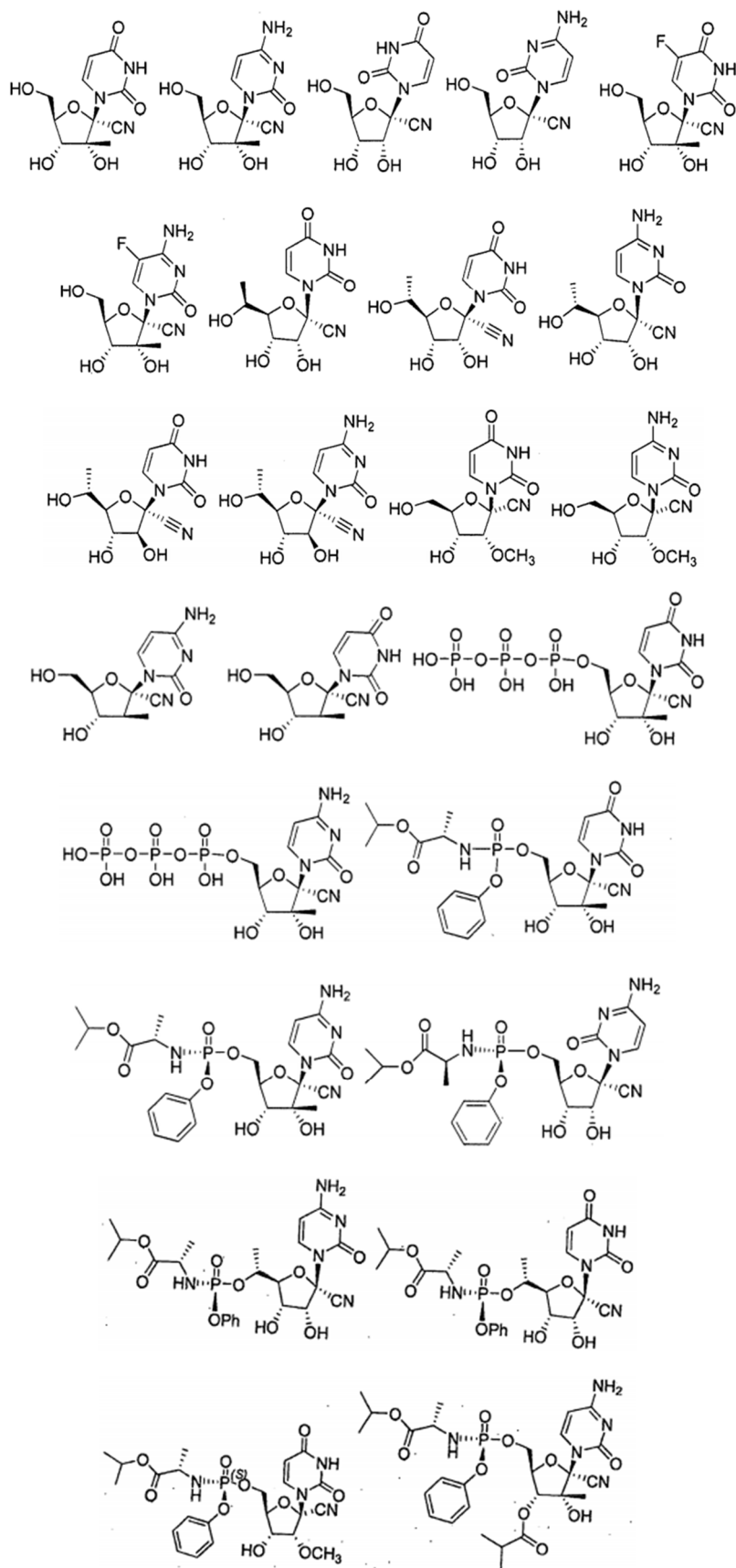






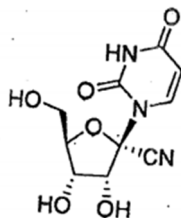
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

[0043] En otra realización, el compuesto de Fórmula I-V es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

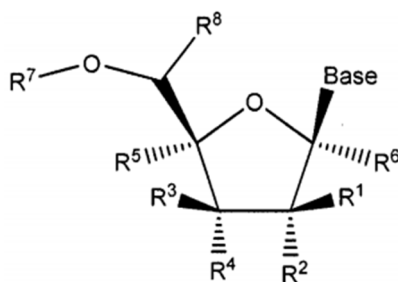
[0044] En algunas realizaciones, el siguiente compuesto no está incluido en los compuestos, pero puede ser útil en los métodos de la invención:



Composiciones farmacéuticas

[0045] En otra realización, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de un compuesto de la invención como se describe en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0046] También se describen aquí composiciones farmacéuticas que comprenden un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable en combinación con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I:



Formula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;
en donde:

Base es una base de pirimidina natural o modificada;

R¹ es H, CN, OR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, (C₂-C₄) alquinilo sustituido o S(O)_nR^a;

R² es H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-C₆) cicloalquilalquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquenilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) alquinilo sustituido;

o R¹ y R² tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 6 miembros en el que 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O o S(O)_n;

R³, R⁴ y R⁵ son cada uno independientemente H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, halógeno, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquil, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) sustituido alquinilo;

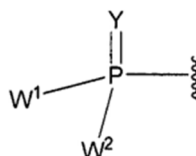
o dos de R³, R⁴ o R⁵ en átomos de carbono adyacentes cuando se toman juntos son -O(CO)O- o cuando se toman junto con los átomos de carbono del anillo a los que están unidos para formar un doble enlace;

R⁶ es CN, etenilo, 2-haloeten-1-ilo, o (C₂-C₈)alquin-1-ilo,

cada n es independientemente 0, 1, o 2;

cada R^a es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, arilo (C₁-C₈) alquilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), o -SO₂NR¹¹R¹²;

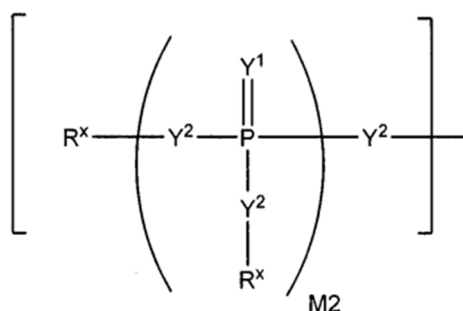
R⁷ es H, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), -SO₂NR¹¹R¹², o el grupo de Fórmula Ia



Formula Ia

en donde

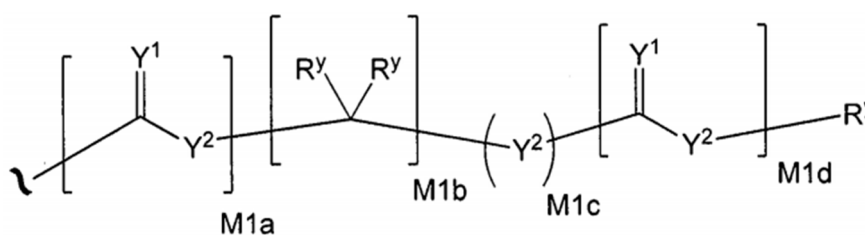
Y es O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$ o $N-NR_2$;
 W^1 y W^2 , cuando se toman juntos, son $-Y^3(C(R^y)_2)_3Y^3-$;
 o uno de W^1 o W^2 junto con R^3 o R^4 es $-Y^3-$ y el otro de W^1 o W^2 es Fórmula Ib;
 o W^1 y W^2 son cada uno, independientemente, un grupo de Fórmula Ib:



Formula Ib

en donde:

cada Y^1 es independientemente O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, o $N-NR_2$;
 cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 , NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, $N-NR_2$, S, S-S, S(O), o $S(O)_2$;
 cada Y^3 es independientemente O, S, o NR;
 M_2 es 0, 1 o 2;
 cada R^x es un grupo de Fórmula Ic



Formula Ic

en donde:

cada M_{1a} , M_{1c} y M_{1d} es independientemente 0 o 1;
 M_{1b} es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;
 cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, -CN, $-N_3$, $-NO_2$, -OR, $-C(R)_2-O-C(R)_3$, $-C(=Y^1)R$, $-C(=Y^1)R^{13}$, $-C(=Y^1)OR$, $-C(=Y^1)N(R)_2$, $-N(R)_2$, $^+N(R)_3$, -SR, $-S(O)R$, $-S(O)_2R$, $-S(O)_2R^{13}$, $-S(O)(OR)$, $-S(O)_2(OR)$, $-OC(=Y^1)R$, $-OC(=Y^1)OR$, $-OC(=Y^1)(N(R)_2)$, $-SC(=Y^1)R$, $-SC(=Y^1)OR$, $-SC(=Y^1)(N(R)_2)$, $-N(R)C(=Y^1)R$, $-N(R)C(=Y^1)OR$, $-N(R)C(=Y^1)N(R)_2$, $-SO_2NR_2$, (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquinoilo, (C_6-C_{20}) arilo, (C_3-C_{20}) cicloalquilo, (C_2-C_{20}) heterocicilo, arilalquilo o heteroarilalquilo,
 en donde cada (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquinoilo, (C_6-C_{20}) arilo, (C_3-C_{20}) cicloalquilo, (C_2-C_{20}) heterocicilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo está opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R^{20} ;
 o cuando se toman juntos, dos R^y en el mismo átomo de carbono forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono;
 cada R es independientemente H, (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquinoilo, (C_6-C_{20}) arilo, (C_3-C_{20})

cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterociclilo, o arilalquilo;

R⁸ es H, (C₁-C₄) alquilo, o (C₁-C₄) alquilo sustituido;

cada R¹¹ o R¹² es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, (C₃-C₂₀) cicloalquil, (C₂-C₂₃) heterociclilo, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -C(=O) (C₁-C₈) alquilo, -S(O)_n(C₁-C₈) alquilo o arilalquilo (C₁-C₈); o R¹¹ y R¹² tomados junto con un nitrógeno al que están unidos ambos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico puede reemplazarse opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a-;

cada R¹³ es independientemente un cicloalquilo o heterociclo opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R o R²⁰;

cada R²⁰ es independientemente, halógeno, CN, N₃, N(R)₂, OR, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)OR, o C(=Y¹)N(R)₂;

en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo de cada uno de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁸, R¹¹ o R¹² está, independientemente, opcionalmente sustituido con 1 a 3 halo, hidroxilo, CN, N₃, N(R^a)₂ u OR^a; y en donde 1 a 3 de los átomos de carbono no terminales de cada dicho alquilo (C₁-C₈) pueden reemplazarse opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a-

con la condición de que al menos uno de R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ no es hidrógeno.

[0047] En otra realización, las composiciones farmacéuticas comprenden además al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de la polimerasa NS5b, alfa-glucosidasa 1, inhibidores de la ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otros medicamentos para tratar el VHC.

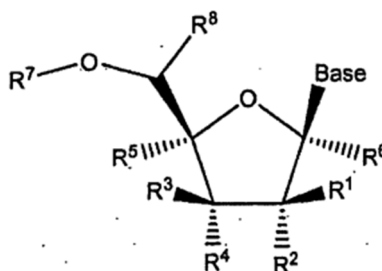
[0048] En todavía otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas comprenden además al menos un inhibidor de la neuramidasa viral o inhibidor del canal M2 viral, tales como, a modo de ejemplo solamente oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amantadina y rimantadina.

[0049] A continuación se proporcionan terapias combinadas adicionales.

Métodos

[0050] La presente invención también se dirige a compuestos para uso en un método de inhibición de la polimerasa del VHC que comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la presente invención como se describe anteriormente.

[0051] Los compuestos de la presente invención son compuestos de fórmula I. Otros compuestos de Fórmula I también se dan a conocer en el presente documento para su uso en este método. Por lo tanto, la presente descripción proporciona compuestos de Fórmula I para usar en el método anterior:



Formula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

Base es una base de pirimidina natural o modificada;

R¹ es H, CN, OR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, (C₂-C₄) alquinilo sustituido o S(O)_nR^a;

R² es H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-C₆) cicloalquilalquilo, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquenilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) alquinilo sustituido;

o R¹ y R² tomados junto con el carbono al que están unidos forman un anillo de cicloalquilo de 3 a 6 miembros en el que 1 a 3 átomos de carbono de dicho anillo de cicloalquilo está opcionalmente reemplazado por O o S(O)_n;

R³, R⁴ y R⁵ son cada uno independientemente H, OR^a, N(R^a)₂, N₃, CN, NO₂, S(O)_nR^a, halógeno, (C₁-C₄) alquilo, (C₄-

C_B) cicloalquilalquil, (C₁-C₄) alquilo sustituido, (C₂-C₄) alquenilo, (C₂-C₄) alquenilo sustituido, (C₂-C₄) alquinilo, o (C₂-C₄) sustituido alquinilo;

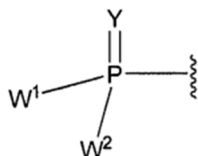
o dos de R³, R⁴ o R⁵ en átomos de carbono adyacentes cuando se toman juntos son -O(CO)O- o cuando se toman junto con los átomos de carbono del anillo a los que están unidos para formar un doble enlace;

R⁶ es CN, etenilo, 2-haloeten-1-ilo, o (C₂-C₈)alquin-1-ilo,

cada n es independientemente 0, 1, o 2;

cada R^a es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, arilo (C₁-C₈) alquilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), o -SO₂NR¹¹R¹²;

R⁷ es H, -C(=O)R¹¹, -C(=O)OR¹¹, -C(=O)NR¹¹R¹², -C(=O)SR¹¹, -S(O)R¹¹, -S(O)₂R¹¹, -S(O)(OR¹¹), -S(O)₂(OR¹¹), -SO₂NR¹¹R¹², o el grupo de Fórmula Ia



Formula Ia

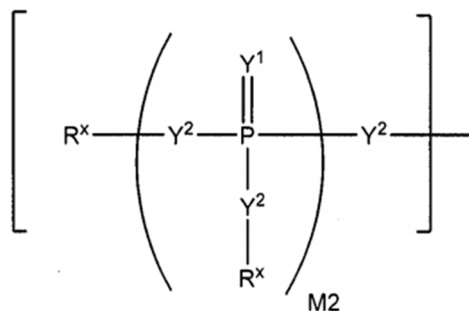
en donde

Y es O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR) o N-NR₂;

W¹ y W², cuando se toman juntos, son -Y³(C(R^y)₂)₃Y³-;

o uno de W¹ o W² junto con R³ o R⁴ es -Y³- y el otro de W¹ o W² es Fórmula Ib;

o W¹ y W² son cada uno, independientemente, un grupo de Fórmula Ib:



Formula Ib

en donde:

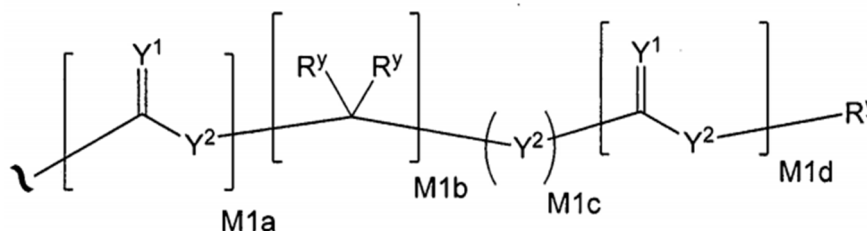
cada Y¹ es independientemente O, S, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR), o N-NR₂;

cada Y² es independientemente un enlace, O, CR₂, NR, ⁺N(O)(R), N(OR), ⁺N(O)(OR), N-NR₂, S, S-S, S(O), o S(O)₂;

cada Y³ es independientemente O, S, o NR;

M2 es 0, 1 o 2;

cada R^x es un grupo de Fórmula Ic



Formula Ic

en donde:

cada M1a, M1c y M1d es independientemente 0 o 1;

M1b es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, -CN, -N₃, -NO₂, -OR, -C(R)₂-O-C(R)₃, -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)R¹³, -C(=Y¹)OR, -C(=Y¹)N(R)₂, -N(R)₂, -⁺N(R)₃, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)₂R¹³, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -OC(=Y¹)R, -OC(=Y¹)OR, -OC(=Y¹)(N(R)₂), -SC(=Y¹)R, -SC(=Y¹)OR, -SC(=Y¹)(N(R)₂), -N(R)C(=Y¹)R, -N(R)C(=Y¹)OR, -N(R)C(=Y¹)N(R)₂, -SO₂NR₂, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, C₆-C₂₀ arilo, C₃-C₂₀ cicloalquilo, C₂-C₂₀ heterociclilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo,

en donde cada (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₆-C₂₀) arilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterociclilo, arilalquilo, o heteroarilalquilo está opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R²⁰; o cuando se toman juntos, dos RY en el mismo átomo de carbono forman un anillo cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono;

cada R es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, C₆-C₂₀ arilo, C₃-C₂₀ cicloalquilo, C₂-C₂₀ heterociclilo, o arilalquilo;

R⁸ es H, (C₁-C₄) alquilo, o (C₁-C₄) alquilo sustituido;

cada R¹¹ o R¹² es independientemente H, (C₁-C₈) alquilo, (C₂-C₈) alquenilo, (C₂-C₈) alquinilo, (C₄-C₈) cicloalquilalquilo, (C₃-C₂₀) cicloalquilo, (C₂-C₂₀) heterociclilo, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, -C(=O) (C₁-C₈) alquilo, -S(O)_n(C₁-C₈) alquilo o arilalquilo (C₁-C₈); o R¹¹ y R¹² tomados junto con un nitrógeno al que ambos están unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico se puede reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a;

cada R¹³ es independientemente un cicloalquilo o heterociclo opcionalmente sustituido con 1-3 grupos R o R²⁰;

cada R²⁰ es independientemente, halógeno, CN, N₃, N(R)₂, OR, -SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -C(=Y¹)R, -C(=Y¹)OR, o C(=Y¹)N(R)₂;

en donde cada alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo o heteroarilo de cada uno de R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁸, R¹¹ o R¹² está, independientemente, opcionalmente sustituido con 1 a 3 halo, hidroxi, CN, N₃, N(R⁸)₂ o OR^a y en donde 1 a 3 de los átomos de carbono no terminales de cada uno de dicho (C₁-C₈) alquilo se pueden reemplazar opcionalmente con -O-, -S- o -NR^a;

con la condición de que al menos uno de R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ no sea hidrógeno.

[0052] En una realización, la invención se dirige a un compuesto o una composición farmacéutica para usar en un método de tratamiento de una infección viral causada por un virus *Flaviviridae* que comprende administrar a un mamífero que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición farmacéutica de acuerdo con la invención como se describe anteriormente. Los otros compuestos de Fórmula I también se describen en el presente documento para su uso en este método. En algunas realizaciones, el virus se selecciona del grupo que consiste en el virus del dengue, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Nilo Occidental, el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus Kunjin, el virus de la encefalitis del valle de Murray, el virus de la encefalitis de San Luis, el virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, el virus de la diarrea viral bovina, el virus del Zika y el virus de la hepatitis C. En una realización, la infección viral es causada por el virus de la hepatitis C.

[0053] Un compuesto o composición farmacéutica de la invención puede usarse en un método que comprende además administrar al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de la polimerasa NS5b, inhibidores de NS5a, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, inhibidores de la ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otros medicamentos para tratar el VHC.

[0054] En otra realización, la invención se refiere a un compuesto o una composición farmacéutica para uso en un método de tratamiento de una infección viral causada por un virus *Paramyxoviridae* que comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición farmacéutica según la invención como se describe anteriormente. En una realización, el virus es un virus respiratorio sincitial 15.

[0055] En otra realización, la invención se refiere a un compuesto o una composición farmacéutica para uso en un método de tratamiento de una infección viral causada por un virus *Orthomyxoviridae* que comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición farmacéutica según la invención como se describe anteriormente. En algunas realizaciones, el virus es un virus de la influenza A, virus de la influenza B o virus de la influenza C. En algunas realizaciones, el método comprende además administrar al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amantadina y rimantadina.

[0056] En otras realizaciones, la invención se refiere a un compuesto o una composición farmacéutica para uso en un método de tratamiento de una infección viral causada por un virus *Picornaviridae* que comprende administrar a un mamífero en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición farmacéutica según la invención como se describe anteriormente. En algunos métodos, el virus es un enterovirus. En algunos métodos, se administra un agente adicional, como pleconaril y/o BTA-798.

DEFINICIONES

- [0057]** A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos y frases como se usa aquí se pretende que tengan los siguientes significados:
- Cuando nombres comerciales se utilizan en el presente documento, los solicitantes pretenden incluir de manera independiente el producto nombre comercial y el (los) ingrediente(s) farmacéutico(s) activo(s) del producto con nombre comercial.
- [0058]** Como se usa en este documento, "un compuesto", "un compuesto de la invención", o "un compuesto de Fórmula I" significa un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. De manera similar, con respecto a los intermedios aislables, la frase "un compuesto de Fórmula (número)" significa un compuesto de esa fórmula y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.
- [0059]** "Alquilo" es un hidrocarburo que contiene átomos normales, secundarios, terciarios o cíclicos de carbono. Por ejemplo, un grupo alquilo puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (es decir, alquilo C₁-C₂₀), 1 a 8 átomos de carbono (es decir, alquilo C₁-C₈), 1 a 6 átomos de carbono (es decir, C₁-C₆ alquilo) o de 1 a 4 átomos de carbono (es decir, C₁-C₄ alquilo). Los ejemplos de grupos alquilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me, -CH₃), etilo (Et, -CH₂CH₃), 1-propilo (*n*-Pr, *n*-propilo, -CH₂CH₂CH₃), 2-propilo (*i*-Pr, *i*-propilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-butilo (*n*-Bu, *n*-butilo, -CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-metil-1-propilo (*i*-Bu, *i*-butilo, -CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-butilo (*s*-Bu, *s*-butilo, -CH(CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-2-propilo (*t*-Bu, *t*-butilo, -C(CH₃)₃), 1-pentilo (*n*-pentilo, -CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃), 3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₃), 3-metil-2-butilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 3-metil-1-butilo (-CH₂CH₂CH(CH₃)CH₃), 2-metil-1-butilo (-CH₂CH(CH₃)CH₂CH₃), 1-hexilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2-hexilo (-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₂CH₃), 3-hexilo (-CH(CH₂CH₃)CH₂CH₂CH₃), 2-metil-2-pentilo (-C(CH₃)₂CH₂CH₂CH₃), 3-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH(CH₃)CH₂CH₃), 4-metil-2-pentilo (-CH(CH₃)CH₂CH(CH₃)CH₃), 3-metil-3-pentilo (-C(CH₃)(CH₂CH₃)CH₂CH₃), 2-metil-3-pentilo (-CH(CH₂CH₃)CH(CH₃)CH₃), 2,3-dimetil-2-butilo (-C(CH₃)₂CH(CH₃)CH₃), 3,3-dimetil-2-butilo (-CH(CH₃)C(CH₃)₃) y octilo (-CH₂)₇CH₃.
- [0060]** "Alcoxi" significa un grupo que tiene la fórmula -O-alquilo, en el que un grupo alquilo, como se definió anteriormente, está unido a la molécula parental a través de un átomo de oxígeno. La porción alquilo de un grupo alcoxi puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (es decir, C₁-C₂₀ alcoxi), 1 a 12 átomos de carbono (es decir, C₁-C₁₂ alcoxi), o de 1 a 6 átomos de carbono (es decir, C₁-C₆ alcoxi). Los ejemplos de grupos alcoxi adecuados incluyen, pero no se limitan a, metoxi (-O-CH₃ o -OMe), etoxi (-OCH₂CH₃ o OEt), *t*-butoxi (-O-C(CH₃)₃ o -OtBu) y similares.
- [0061]** "Haloalquilo" es un grupo alquilo, como se definen anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo se ha reemplazado con un átomo de halógeno. La porción alquilo de un grupo haloalquilo puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (es decir, C₁-C₂₀ haloalquilo), 1 a 12 átomos de carbono (es decir, C₁-C₁₂ haloalquilo), o de 1 a 6 átomos de carbono (es decir, C₁-C₆ alquilo). Los ejemplos de grupos haloalquilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, -CF₃, -CHF₂, -CFH₂, -CH₂CF₃, y similares.
- [0062]** "Alquenilo" es un hidrocarburo que contiene átomos normales, secundarios, terciarios o cíclicos de carbono con al menos un sitio de insaturación, es decir, un carbono-carbono, sp² doble enlace. Por ejemplo, un grupo alquenilo que puede tener de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, C₂-C₂₀ alquenilo), 2 a 8 átomos de carbono (es decir, C₂-C₈ alquenilo), de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, C₂-C₆ alquenilo) o de 2 a 4 átomos de carbono (es decir, C₂-C₄ alquenilo). Los ejemplos de grupos alquenilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, etenilo o vinilo (tanto tiene una estructura -CH = CH₂), alilo (-CH₂CH = CH₂), ciclopentenilo (-C₅H₇), y 5-hexenilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂CH = CH₂).
- [0063]** "Alquinilo" es un hidrocarburo que contiene átomos normales, secundarios, terciarios o cíclicos de carbono con al menos un sitio de insaturación, es decir, un carbono-carbono, un triple enlace sp. Por ejemplo, un grupo alquinilo que puede tener de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, C₂-C₂₀ alquinilo), de 2 a 8 átomos de carbono (es decir, C₂-C₈ alquinilo), de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, C₂-C₆ alquinilo), o de 2 a 4 átomos de carbono (es decir, C₂-C₄ alquinilo). Los ejemplos de grupos alquinilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, etinilo o acetilénico (-C≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH), y similares.
- [0064]** "Alquileno" se refiere a una cadena saturada, lineal o ramificada o radical de hidrocarburo cíclico que tiene dos centros radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alcano. Por ejemplo, un grupo alquileno puede tener de 1 a 20 átomos de carbono, de 1 a 10 átomos de carbono o de 1 a 6 átomos de carbono. Los radicales alquileno típicos incluyen, entre otros, metileno (-CH₂-), 1,1-etilo (-CH(CH₃)-), 1,2-etilo (-CH₂CH₂-), 1,1-propilo (-CH(CH₂CH₃)-), 1,2-propilo (-CH₂CH(CH₃)-), 1,3-propilo (-CH₂CH₂CH₂-), 1,4-butilo (-CH₂CH₂CH₂CH₂-) y similares.
- [0065]** "Alquenileno" se refiere a una cadena insaturada, lineal o ramificada o radical de hidrocarburo cíclico que tiene dos centros radicales monovalentes derivados por la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alqueno original. Por ejemplo, un grupo alquenileno puede tener de 1 a 20 átomos de carbono, de 1 a 10 átomos de carbono o de 1 a 6 átomos de carbono. Los radicales alquenileno típicos incluyen, pero no se limitan a, 1,2-etileno (-CH=CH-).

[0066] El término "alquinileno" se refiere a un radical hidrocarbonado cíclico, insaturado, ramificado o lineal que tiene dos centros radicales monovalentes derivados de la eliminación de dos átomos de hidrógeno del mismo o dos átomos de carbono diferentes de un alquino original. Por ejemplo, un grupo alquinileno puede tener de 1 a 20 átomos de carbono, de 1 a 10 átomos de carbono o de 1 a 6 átomos de carbono. Los radicales alquinileno típicos incluyen, pero no se limitan a, acetileno ($-\text{C}\equiv\text{C}-$), propargilo ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$) y 4-pentinilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$).

[0067] "Amino" se refiere en general a un radical de nitrógeno que puede ser considerado un derivado de amoníaco, que tiene la fórmula $-\text{N}(\text{X})_2$, donde cada "X" es independientemente H, alquilo sustituido o no sustituido, carbociclilo sustituido o no sustituido, heterociclilo sustituido o no sustituido, etc. La hibridación del nitrógeno es aproximadamente sp^3 . Los tipos no limitantes de amino incluyen $-\text{NH}_2$, $-\text{N}(\text{alquilo})_2$, $-\text{NH}(\text{alquilo})$, $-\text{N}(\text{carbociclilo})_2$, $-\text{NH}(\text{carbociclilo})$, $-\text{N}(\text{heterociclilo})_2$, $-\text{NH}(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{arilo})_2$, $-\text{NH}(\text{arilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{arilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{carbociclilo})(\text{heterociclilo})$, $-\text{N}(\text{arilo})(\text{heteroarilo})$, $-\text{N}(\text{alquilo})(\text{heteroarilo})$, etc. El término "alquilamino" se refiere a un grupo amino sustituido con al menos un grupo alquilo. Los ejemplos no limitantes de grupos amino incluyen $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}(\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$, $-\text{NH}(\text{fenilo})$, $-\text{N}(\text{fenil})_2$, $-\text{NH}(\text{bencilo})$, $-\text{N}(\text{bencilo})_2$, etc. Alquilamino sustituido se refiere generalmente a grupos alquilamino, como se definió anteriormente, en los que al menos un alquilo sustituido, como se define en el presente documento, está unido al átomo de nitrógeno amino. Los ejemplos no limitantes de alquilamino sustituido incluyen $-\text{NH}(\text{alquilenilo}-\text{C}(\text{O})-\text{OH})$, $-\text{NH}(\text{alquilenilo}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{alquilo})$, $-\text{N}(\text{alquilenilo}-\text{C}(\text{O})-\text{OH})_2$, $-\text{N}(\text{alquilenilo}-\text{C}(\text{O})-\text{O}-\text{alquilo})_2$, etc.

[0068] "Carbociclo" o "carbociclilo" se refiere a un anillo saturado (es decir, "cicloalquilo"), parcialmente insaturado (por ejemplo, "cicloalquilenilo", cicloalcadienilo, etc.) o aromático (es decir, "arilo") que tiene de 3 a 7 átomos de carbono como monociclo, de 7 a 12 átomos de carbono como bicíclico, y hasta unos 20 átomos de carbono como policiclo. Los carbociclos monocíclicos tienen 3 a 7 átomos en el anillo, aún más típicamente 5 o 6 átomos en el anillo. En ciertas realizaciones, los grupos cicloalquilo pueden tener de 3 a 6 átomos de carbono, o 5 o 6 átomos de carbono. Los carbociclos bicíclicos tienen de 7 a 12 átomos en el anillo, por ejemplo, dispuestos como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o 9 o 10 átomos en el anillo dispuestos como un sistema biciclo [5,6] o [6,6], o anillos espiro fusionados. Ejemplos no limitativos de carbociclos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo y fenilo. Ejemplos no limitantes de carbociclos biciclo incluyen naftilo, tetrahidronaftaleno y decalina.

[0069] "Cicloalquilalquilo" o "carbociclilalquilo" o "cicloalquilalquilenilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono se sustituye con un cicloalquilo o radical carbociclilo como se describe en el presente documento. Ejemplos típicos, pero no limitativos, de grupos cicloalquilalquilo incluyen ciclopropilmetilo, ciclopropiletilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo y ciclohexilmetilo. En los grupos cicloalquilalquilenilo, típicamente comprende de 4 a 20 átomos de carbono (es decir, C_4 a C_{20}), por ejemplo, la porción alquilo del grupo es de 1 a 6 (es decir, átomos de carbono C_1 a C_6) y el resto cicloalquilo es de 3 a 14 átomos de carbono.

[0070] "Arilo" significa un radical hidrocarburo aromático derivado de la eliminación de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático progenitor. Por ejemplo, un grupo arilo puede tener de 6 a 20 átomos de carbono, de 6 a 14 átomos de carbono o de 6 a 10 átomos de carbono. Los grupos arilo típicos incluyen, pero no se limitan a, radicales derivados de benceno (por ejemplo, fenilo), benceno sustituido, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares.

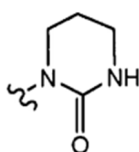
[0071] "Arilalquilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, típicamente un terminal o átomo de carbono, sp^3 se sustituye con un radical arilo. Los grupos arilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-nafto-feniletan-1-ilo y similares. El grupo arilalquilo puede comprender de 7 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, el resto alquilo es de 1 a 6 átomos de carbono y el resto arilo es de 6 a 14 átomos de carbono.

[0072] El término "sustituido", en referencia a grupos alquilo, alquilenilo, arilo, arilalquilo, alcoxi, heterociclilo, heteroarilo, carbociclilo, etc., por ejemplo, "alquilo sustituido", "alquilenilo sustituido", "arilo sustituido", "arilalquilo sustituido", "heterociclilo sustituido" y "carbociclilo sustituido" significa alquilo, alquilenilo, arilo, arilalquilo, heterociclilo, carbociclilo, respectivamente, en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan cada uno independientemente con un sustituyente no hidrógeno. Los sustituyentes típicos incluyen, entre otros, $-\text{X}^1$, $-\text{R}^b$, $-\text{O}^-$, $=\text{O}$, $-\text{OR}^b$, $-\text{SR}^b$, $-\text{S}^-$, $-\text{NR}^b_2$, $-\text{N}^+\text{R}^b_3$, $=\text{NR}^b$, $-\text{CX}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{OCN}$, $-\text{SCN}$, $-\text{N}=\text{C}=\text{O}$, $-\text{NCS}$, $-\text{NO}$, $-\text{NO}_2$, $=\text{N}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{R}^b$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{R}^b$, $-\text{NHC}(=\text{O})\text{NR}^b_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^b$, $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OR}^b$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^b_2$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^b$, $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^b)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^b)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})_2$, $-\text{P}(=\text{O})(\text{OR}^b)(\text{O}^-)$, $-\text{C}(=\text{O})\text{R}^b$, $-\text{C}(=\text{O})\text{X}$, $-\text{C}(\text{S})\text{R}^b$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^b$, $-\text{C}(\text{O})\text{O}^-$, $-\text{C}(\text{S})\text{OR}^b$, $-\text{C}(\text{O})\text{SR}^b$, $-\text{C}(\text{S})\text{SR}^b$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^b_2$, $-\text{C}(\text{S})\text{NR}^b_2$, $-\text{C}(=\text{NR}^b)\text{NR}^b_2$, donde cada X^1 es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada R^b es independientemente H, alquilo, arilo, arilalquilo, un heterociclo o un grupo protector o resto profármaco. Los grupos alquilenilo, alquilenileno y alquinileno también pueden estar sustituidos de manera similar. A menos que se indique lo contrario, cuando el término "sustituido" se usa junto con grupos tales como arilalquilo, que tienen dos o más restos capaces de sustitución, los sustituyentes pueden unirse al resto arilo, al resto alquilo, o a ambos.

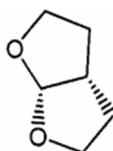
[0073] El término "profármaco" tal como se utiliza aquí, se refiere a cualquier compuesto que cuando se administra a un sistema biológico genera la sustancia farmacológica, es decir, el ingrediente activo, como resultado de reacciones

químicas espontáneas, reacciones químicas catalizadas por enzimas, fotólisis y/o reacciones químicas metabólicas. Un profármaco es, por lo tanto, una forma análoga o latente modificada covalentemente de un compuesto terapéuticamente activo.

[0074] El "heterociclo" o "heterociclilo" como se usa en el presente documento incluye, a modo de ejemplo y sin limitación, los heterociclos descritos en Paquette, Leo A.; *Principles of Modern Heterocyclic Chemistry* (WA Benjamin, Nueva York, 1968), en particular los capítulos 1, 3, 4, 6, 7 y 9; la química de los compuestos heterocíclicos, una serie de monografías "(John Wiley & Sons, Nueva York, 1950 al presente), en particular los volúmenes 13, 14, 16, 19 y 28; y J. Am. Chem. Soc. (1960) 82: 5566. En una realización específica de la invención, "heterociclo" incluye un "carbociclo" como se define en el presente documento, en el que uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) átomos de carbono han sido reemplazados por un heteroátomo (por ejemplo, O, N o S). Los términos "heterociclo" o "heterociclilo" incluyen anillos saturados, anillos parcialmente insaturados y anillos aromáticos (es decir, anillos heteroaromáticos). Los heterociclilos sustituidos incluyen, por ejemplo, anillos heterocíclicos sustituidos con cualquier de los sustituyentes descritos en este documento que incluyen grupos carbonilo. Un ejemplo no limitante de un heterociclilo sustituido con carbonilo es:



[0075] Los ejemplos de heterociclos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiofenilo oxidado con azufre, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, piperidinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, pirrolinilo, tetrahydrofuranilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, decahydroquinolinilo, octahydroisoquinolinilo, azocinilo, triazinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, tienilo, tiantrenilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, indolizínilo, isoindolilo, 3H-indolilo, 1H-indazolilo, purinilo, 4H-quinolizínilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalinilo, quinazolinilo, cinolinilo, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo, β -carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, fenoxazinilo, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, piperazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, morfolinilo, oxazolidinilo, benzotriazolilo, benzisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, isatinoilo y bis-tetrahydrofuranilo:



[0076] A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos unidos a carbono están unidos en la posición 2, 3, 4, 5, ó 6 de una piridina, posición 3, 4, 5, ó 6 de una piridazina, posición 2, 4, 5, o 6 de una pirimidina, posición 2, 3, 5 o 6 de una pirazina, posición 2, 3, 4 o 5 de un furano, tetrahydrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, posición 2, 4 o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, posición 3, 4 o 5 de un isoxazol, pirazol o isotiazol, posición 2 o 3 de una aziridina, posición 2, 3 o 4 de una azetidina, posición 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una quinolina o posición 1, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 de una isoquinolina. Aún más típicamente, los heterociclos unidos a carbono incluyen 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 5-piridazinilo, 6-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 5-pirazinilo, 6-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo o 5-tiazolilo.

[0077] A modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos unidos a nitrógeno se unen en la posición 1 de una aziridina, azetidina, pirrol, pirrolidina, 2-pirrolina, 3-pirrolina, imidazol, imidazolidina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, pirazol, pirazolina, 2-pirazolina, 3-pirazolina, piperidina, piperazina, indol, indolina, 1H-indazol, posición 2 de un isoindol, o isoindolina, posición 4 de una morfolina y posición 9 de un carbazol, o β -carbolina. Aún más típicamente, los heterociclos unidos a nitrógeno incluyen 1-aziridilo, 1-azeteditilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo y 1-piperidinilo.

[0078] "Heterociclilalquilo" o "heterociclilalquilenilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, típicamente un terminal o átomo de carbono sp^3 , se sustituye con un radical heterociclilo (es decir, un resto heterociclilalquilenilo). Grupos alquilo heterociclilo típicos incluyen, pero no se limitan a heterociclil- CH_2 -, 2-(heterociclilo)etan-1-ilo, y similares, en el que la porción "heterociclilo" incluye cualquiera de los grupos heterociclilo descritos anteriormente, incluyendo los descritos en *Principles of Modern Heterocyclic Chemistry*. Un experto en la materia también comprenderá que el grupo heterociclilo se puede unir a la porción alquilo del heterociclilalquilo por medio de un enlace carbono-carbono o un enlace carbono-heteroátomo, con la condición de

que el grupo resultante sea químicamente estable. El grupo alquilo heterociclilo comprende 3 a 20 (es decir, C₃ a C₂₀) átomos de carbono, por ejemplo, la porción alquilo del grupo es de 1 a 6 (es decir, C₁ a C₆) átomos de carbono y el resto heterociclilo es de 2 a 14 átomos de carbono. Los ejemplos de heterociclilalquilos incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, heterociclos que contienen azufre, oxígeno y/o nitrógeno de 5 miembros, tales como tiazolilmetilo, 2-tiazoliletan-1-ilo, imidazolilmetilo, oxazolilmetilo, tiadiazolilmetilo, etc., azufre de 6 miembros, heterociclos que contienen oxígeno y/o nitrógeno tales como piperidinilmetilo, piperazinilmetilo, morfolinilmetilo, piridinilmetilo, piridizilmetilo, pirimidilmetilo, pirazinilmetilo, etc.

[0079] "Heteroarilo" se refiere a un heterociclilo aromático que tiene al menos un heteroátomo en el anillo. Ejemplos no limitantes de heteroátomos adecuados que pueden incluirse en el anillo aromático incluyen oxígeno, azufre y nitrógeno. Los ejemplos no limitantes de anillos heteroarilo incluyen todos los anillos aromáticos enumerados en la definición de "heterociclilo", incluidos piridinilo, pirrolilo, oxazolilo, indolilo, isoindolilo, purinilo, furanilo, tienilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, carbazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, quinolilo, isoquinolilo, piridazilo, pirimidilo, pirazilo, etc.

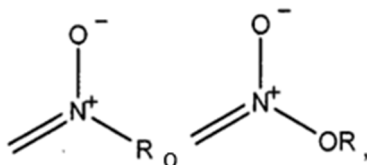
[0080] "Heteroarilalquilo" se refiere a un grupo alquilo, como se define en el presente documento, en el que un átomo de hidrógeno ha sido reemplazado por un grupo heteroarilo como se define en el presente documento. Ejemplos no limitativos de heteroarilalquilo incluyen -CH₂-piridinilo, -CH₂-pirrolilo, -CH₂-oxazolilo, -CH₂-indolilo, -CH₂-isoindolilo, -CH₂-purinilo, -CH₂-furanilo, -CH₂-tienilo, -CH₂-benzofuranilo, -CH₂-benzotiofenilo, -CH₂-carbazolilo, -CH₂-imidazolilo, -CH₂-tiazolilo, -CH₂-isoxazolilo, -CH₂-pirazolilo, -CH₂-isotiazolilo, -CH₂-quinolilo, -CH₂-isoquinolilo, -CH₂-piridazilo, -CH₂-pirimidilo, -CH₂-pirazilo, -CH(CH₃)piridinilo, -CH(CH₃)pirrolilo, -CH(CH₃)oxazolilo, -CH(CH₃)indolilo, -CH(CH₃)isoindolilo, -CH(CH₃)purinilo, -CH(CH₃)furanilo, -CH(CH₃)tienilo, -CH(CH₃)benzofuranilo, -CH(CH₃)benzotiofenilo, -CH(CH₃)carbazolilo, -CH(CH₃)imidazolilo, -CH(CH₃)tiazolilo, -CH(CH₃)isoxazolilo, -CH(CH₃)pirazolilo, -CH(CH₃)isotiazolilo, -CH(CH₃)quinolilo, -CH(CH₃)isoquinolilo, -CH(CH₃)piridazilo, -CH(CH₃)pirimidilo, -CH(CH₃)pirazilo, etc.

[0081] El término "opcionalmente sustituido" en referencia a un resto particular del compuesto de Fórmula I-V (por ejemplo, un grupo arilo opcionalmente sustituido) se refiere a un resto en el que todos los sustituyentes son hidrógeno o en donde uno o más de los hidrógenos de la fracción puede ser reemplazado por sustituyentes como los enumerados en la definición de "sustituido".

[0082] El término "opcionalmente sustituido" en referencia a un resto particular del compuesto de Fórmula I-V (por ejemplo, los átomos de carbono de dicho (C₁-C₈) alquilo puede estar opcionalmente reemplazado por -O-, -S-, o -NR^a-) significa que uno o más de los grupos metileno del alquilo (C₁-C₈) pueden reemplazarse por 0, 1, 2 o más de los grupos especificados (por ejemplo, -O-, -S-, o -NR^a-).

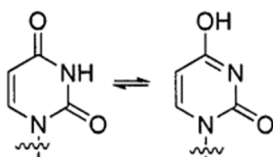
[0083] El término "átomo(s) no terminal(es) de carbono" en referencia a un grupo alquilo, alqueno, alquino, alquilenilo, alquenileno, o resto alquilenilo se refiere a los átomos de carbono en el resto que intervienen entre el primer átomo de carbono del resto y el último átomo de carbono en el resto. Por lo tanto, a modo de ejemplo y no de limitación, en el resto alquilo -CH₂(C*)H₂(C*)H₂CH₃ o resto alquilenilo -CH₂(C*)H₂(C*)H₂CH₂- los átomos de C* se considerarían átomos de carbono no terminales.

[0084] Ciertos Y e Y¹ alternativos son óxidos de nitrógeno, tales como ⁺N(O)(R) o ⁺N(O)(OR). Estos óxidos de nitrógeno, como se muestra aquí unidos a un átomo de carbono, también se pueden representar mediante grupos separados por carga, tal como



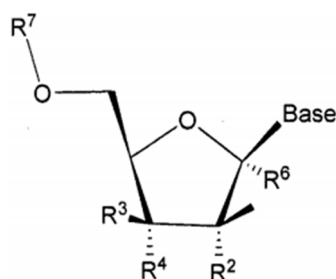
respectivamente, y están destinados a ser equivalentes a las representaciones mencionadas anteriormente para los fines de describir esta invención.

[0085] El término base "pirimidina" comprende, pero no se limita a bases de pirimidina que ocurren naturalmente o modificadas, tales como timina, citosina, 5-fluorocitosina, 5-metilcitosina, 6-azapirimidina, incluyendo 6-azacitosina, 2-y/o 4-mercaptopirimidina, uracilo, 5-halouracilo, incluyendo 5-fluorouracilo, C⁵-alquilpirimidinas, C⁵-bencilpirimidinas, C⁵-halopirimidinas, C⁵-vinilpirimidina, C⁵-pirimidina acetilénica, C⁵-acil pirimidina, C⁵-amidopirimidina, C⁵-cianopirimidina, C⁵-5-yodopirimidina, C₆-yodo-pirimidina, C⁵-Br-vinil pirimidina, C₆-Br-vinil pirimidina, C⁵-nitropirimidina, C⁵-amino- pirimidina, 5-azacitidinilo y 5-azauracililo. Los tautómeros de estas bases también están incluidos en el alcance de la invención. Por ejemplo, los tautómeros de uracilo tienen las siguientes estructuras:

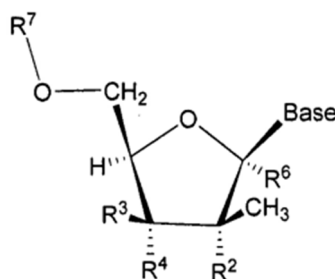


[0086] Las bases de pirimidina de la Fórmula I-V están vinculadas al azúcar ribosa, o análogo del mismo, a través de un átomo de nitrógeno de la base. Los grupos funcionales de oxígeno y nitrógeno en la base se pueden proteger según sea necesario o deseado. Los grupos protectores adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica, e incluyen trimetilsililo, dimetilhexilsililo, t-butildimetilsililo, y t-butildifenilsililo, tritilo, grupos alquilo y grupos acilo tales como acetilo y propionilo, metanosulfonilo y p-toluenosulfonilo.

[0087] A menos que se especifique lo contrario, los átomos de carbono de los compuestos de Fórmula I-V están destinados a tener una valencia de cuatro. En algunas representaciones de estructuras químicas donde los átomos de carbono no tienen un número suficiente de variables unidas para producir una valencia de cuatro, se debe suponer que los sustituyentes de carbono restantes necesarios para proporcionar una valencia de cuatro son hidrógeno. Por ejemplo,



tiene el mismo significado que



[0088] El "grupo protector" se refiere a un resto de un compuesto que enmascara o altera las propiedades de un grupo funcional o las propiedades del compuesto en su conjunto. La subestructura química de un grupo protector varía ampliamente. Una función de un grupo protector es servir como intermediario en la síntesis de la sustancia farmacológica parental. Los grupos protectores químicos y las estrategias para la protección/desprotección son bien conocidos en la técnica. Ver: "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Greene (John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1991). Los grupos protectores a menudo se utilizan para enmascarar la reactividad de ciertos grupos funcionales, para ayudar en la eficiencia de reacciones químicas deseadas, p. ej., hacer y romper enlaces químicos de una manera ordenada y planificada. La protección de los grupos funcionales de un compuesto altera otras propiedades físicas además de la reactividad del grupo funcional protegido, como la polaridad, la lipofilia (hidrofobia) y otras propiedades que pueden medirse mediante herramientas analíticas comunes. Los intermedios químicamente protegidos pueden ser biológicamente activos o inactivos.

[0089] Compuestos protegidos pueden también exhibir propiedades alteradas, y en algunos casos, propiedades optimizadas *in vitro* y *in vivo*, tales como paso a través de las membranas celulares y la resistencia a la degradación enzimática o secuestro. En este papel, los compuestos protegidos con los efectos terapéuticos previstos pueden denominarse profármacos. Otra función de un grupo protector es convertir el fármaco parental en un profármaco, por lo que el fármaco parental se libera tras la conversión del profármaco *in vivo*. Debido a que los profármacos activos pueden absorberse más eficazmente que el fármaco parental, los profármacos pueden poseer una mayor potencia *in vivo* que el fármaco parental. Los grupos protectores se eliminan *in vitro*, en el caso de productos químicos intermedios, o *in vivo*, en el caso de los profármacos. Con productos químicos intermedios, no es particularmente importante que

los productos resultantes después de la desprotección, por ejemplo, los alcoholes, sean fisiológicamente aceptables, aunque en general es más deseable si los productos son farmacológicamente inocuos.

[0090] Por "fracción de profármaco" se entiende un grupo funcional lábil que se separa del compuesto inhibidor activo durante el metabolismo, sistémicamente, dentro de una célula, por hidrólisis, escisión enzimática o por algún otro proceso (Bundgaard, Hans, "Design and Application of Prodrugs" en (1991), P. Krogsgaard-Larsen y H. Bundgaard, Eds. Harwood Academic Publishers Textbook of Drug Design and Development, pp. 113-191). Las enzimas que son capaces de un mecanismo de activación enzimática con los compuestos profármacos de fosfonato de la invención incluyen, pero no se limitan a amidasas, esterasas, enzimas microbianas, fosfolipasas, colinesterasas y fosfasas. Los restos de profármacos pueden servir para mejorar la solubilidad, la absorción y la lipofilia para optimizar el suministro de fármacos, la biodisponibilidad y la eficacia.

[0091] Un resto de profármaco puede incluir un metabolito activo o el propio fármaco.

[0092] Los restos de profármaco ejemplares incluyen los ésteres de aciloximetilo hidrolíticamente sensibles o lábiles $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{30}$ y aciloximetilo carbonatos $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^{30}$ en la que R^{30} es $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquilo sustituido, $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ arilo o $\text{C}_6\text{-C}_{20}$ arilo sustituido. El aciloxialquilo éster se usó como una estrategia de profármaco para ácidos carboxílicos y se aplicó a fosfatos y fosfonatos por Farquhar et al. (1983) J. Pharm. Sci. 72: 324; también Patentes de los Estados Unidos N^{os} 4816570, 4968788, 5663159 y 5792756. En ciertos compuestos de la invención, un resto de profármaco es parte de un grupo fosfato. El éster de aciloxialquilo se puede usar para administrar ácidos fosfóricos a través de las membranas celulares y mejorar la biodisponibilidad oral. Una variante cercana del éster de aciloxialquilo, el éster de alcóxicarboniloxialquilo (carbonato), también puede mejorar la biodisponibilidad oral como un resto de profármaco en los compuestos de las combinaciones de la invención. Un ejemplo de aciloximetil éster es pivaloiloximetoxi, (POM) $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$. Un resto de profármaco de aciloximetil carbonato ejemplar es el pivaloiloximetilcarbonato (POC) $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$.

[0093] El grupo fosfato puede ser un resto de profármaco de fosfato. El resto profármaco puede ser sensible a la hidrólisis, tal como, pero sin limitación, aquellos que comprenden un grupo pivaloiloximetil carbonato (POC) o POM. Alternativamente, el resto de profármaco puede ser sensible a la escisión potenciada enzimáticamente, tal como un éster de lactato o un grupo fosfonamido-éster.

[0094] Se informó que ésteres de arilo de los grupos de fósforo, especialmente los ésteres de fenilo, mejoran la biodisponibilidad oral (DeLambert et al (1994) J. Med. Chem. 37: 498). También se han descrito ésteres de fenilo que contienen un éster carboxílico orto al fosfato (Khamnei y Torrence, (1996) J. Med. Chem. 39: 4109-4115). Se informa que los ésteres de bencilo generan el ácido fosfónico original. En algunos casos, los sustituyentes en la posición *orto* o *para* pueden acelerar la hidrólisis. Los análogos de bencilo con un fenol acilado o un fenol alquilado pueden generar el compuesto fenólico a través de la acción de enzimas, por ejemplo, esterasas, oxidasas, etc., que a su vez se escinden en el enlace de CO bencilico para generar el ácido fosfórico y el intermedio de metona quinona. Mitchell et al. describen ejemplos de esta clase de profármacos. (1992) J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 2345; Brook y col. WO 91/19721. Todavía se han descrito otros profármacos bencilicos que contienen un grupo que contiene éster carboxílico unido al metileno bencilico (Glazier et al. WO 91/19721). Se informa que los profármacos que contienen tio son útiles para la administración intracelular de fármacos de fosfonato. Estos proésteres contienen un grupo etiltio en el que el grupo tiol se esterifica con un grupo acilo o se combina con otro grupo tiol para formar un disulfuro. La desesterificación o reducción del disulfuro genera el tio intermedio libre que posteriormente se descompone en ácido fosfórico y episulfuro (Puech et al. (1993) Antiviral Res., 22: 155-174; Benzaria et al. (1996) J. Med. Chem. 39: 4958). Los ésteres de fosfonato cíclicos también se han descrito como profármacos de compuestos que contienen fósforo (Erion et al., Patente de los Estados Unidos N^o 6312662).

[0095] Es de señalar que todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos de compuestos dentro del alcance de la Fórmula I-V y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos están abarcadas por la presente invención. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diastereómeros están dentro del alcance de la presente invención.

[0096] Un compuesto de sus sales farmacéuticamente aceptables de Fórmula I-V y pueden existir como diferentes polimorfos o pseudopolimorfos. Como se usa en este documento, el polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino de existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino puede ser el resultado de diferencias en el empaque de cristal (polimorfismo de empaque) o diferencias en el empaque entre diferentes conformadores de la misma molécula (polimorfismo conformacional). Como se usa en el presente documento, el pseudopolimorfismo cristalino significa la capacidad de un hidrato o solvato de un compuesto para existir en diferentes estructuras cristalinas. Los pseudopolimorfos de la presente invención pueden existir debido a diferencias en el empaquetamiento de cristal (pseudopolimorfismo de empaquetamiento) o debido a diferencias en el empaquetamiento entre diferentes conformadores de la misma molécula (pseudopolimorfismo conformacional). La presente invención comprende todos los polimorfos y pseudopolimorfos de los compuestos de Fórmula I-V y sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0097] Un compuesto de sus sales farmacéuticamente aceptables de Fórmula I-V, y también pueden existir como un

sólido amorfo. Como se usa en este documento, un sólido amorfo es un sólido en el que no hay un orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición también se aplica cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o menos. Se pueden usar aditivos, incluidos disolventes, para crear las formas amorfas de la presente invención. La presente invención comprende todas las formas amorfas de los compuestos de Fórmula I-V y sus sales farmacéuticamente aceptables.

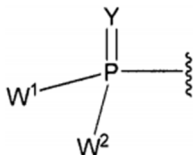
[0098] Sustituyentes seleccionados que comprenden los compuestos de Fórmula I-V están presentes en un grado recursivo. En este contexto, "sustituyente recursivo" significa que un sustituyente puede recitar otra instancia de sí mismo. Debido a la naturaleza recursiva de tales sustituyentes, teóricamente, puede estar presente un gran número de compuestos en cualquier realización dada. Por ejemplo, R^x comprende un sustituyente R^y . R^y puede ser R. R puede ser W^3 . W^3 puede ser W^4 y W^4 puede ser R o comprender sustituyentes que comprenden R^y . Un experto habitual en la técnica de la química medicinal comprende que el número total de dichos sustituyentes está razonablemente limitado por las propiedades deseadas del compuesto deseado. Dichas propiedades incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, propiedades físicas tales como peso molecular, solubilidad o log P, propiedades de aplicación tales como actividad contra el objetivo deseado, y propiedades prácticas tales como facilidad de síntesis.

[0099] A modo de ejemplo y no de limitación, W^3 y R^y son sustituyentes recursivos en ciertas realizaciones. Típicamente, cada sustituyente recursivo puede ocurrir independientemente 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 o 0 veces en una realización dada. Más típicamente, cada sustituyente recursivo puede ocurrir independientemente 12 o menos veces en una realización dada. Aún más típicamente, cada sustituyente recursivo puede ocurrir independientemente 3 o menos veces en una realización dada. Por ejemplo, W^3 ocurrirá de 0 a 8 veces, R^y ocurrirá de 0 a 6 veces en una realización dada. Aún más típicamente, W^3 ocurrirá de 0 a 6 veces y R^y ocurrirá de 0 a 4 veces en una realización dada.

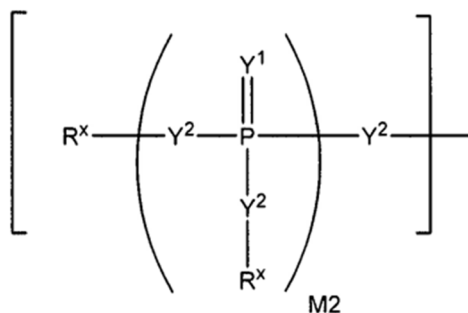
[0100] Los sustituyentes recursivos son un aspecto pretendido de la invención. Un experto habitual en la técnica de la química medicinal comprende la versatilidad de dichos sustituyentes. En la medida en que los sustituyentes recursivos estén presentes en una realización de la invención, el número total se determinará como se establece anteriormente.

[0101] El modificador "aproximadamente" utilizado en relación con una cantidad incluye el valor indicado y tiene el significado dictado por el contexto (por ejemplo, incluye el grado de error asociado con la medición de la cantidad particular).

[0102] Los compuestos de la Fórmula I-V puede comprender un grupo fosfato como R^7 , que puede ser un resto de profármaco



en donde cada Y o Y^1 es, independientemente, O, S, NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, o $N-NR_2$; W^1 y W^2 , cuando se toman juntos, son $-Y^3(C(R^y)_2)_3Y^{3-}$; o uno de W^1 o W^2 junto con R^3 o R^4 es $-Y^{3-}$ y el otro de W^1 o W^2 es Fórmula Ib; o W^1 y W^2 son cada uno, independientemente, un grupo de Fórmula Ib:



en donde:

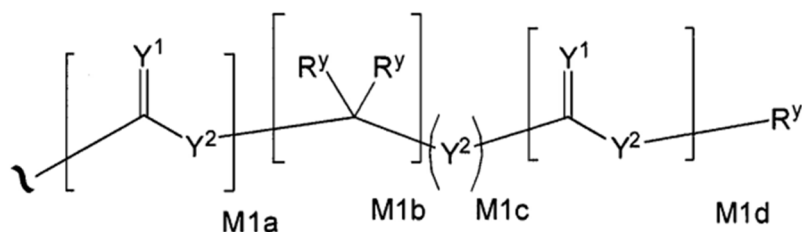
cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 , NR, $^+N(O)(R)$, $N(OR)$, $^+N(O)(OR)$, $N-NR_2$, S, S-S, $S(O)$, o $S(O)_2$;

cada Y^3 es independientemente O, S, o NR;

M_2 es 0, 1 o 2;

cada R^y es independientemente H, F, Cl, Br, I, OH, R, $-C(=Y^1)R$, $-C(=Y^1)OR$, $-C(=Y^1)N(R)_2$, $-N(R)_2$, $^+N(R)_3$, -

SR, -S(O)R, -S(O)₂R, -S(O)(OR), -S(O)₂(OR), -OC(=Y¹)R, -OC(=Y¹)OR, -OC(=Y¹)(N(R)₂), -SC(=Y¹)R, -SC(=Y¹)OR, -SC(=Y¹)(N(R)₂), -N(R)C(=Y¹)R, -N(R)C(=Y¹)OR, o -N(R)C(=Y¹)N(R)₂, -SO₂NR₂, -CN, -N₃, -NO₂, -OR, un grupo protector o W³; o cuando se toman juntos, dos R^y en el mismo átomo de carbono forman un anillo carbocíclico de 3 a 7 átomos de carbono; cada R^x es independientemente R^y, un grupo protector, o la fórmula:



en donde:

M1a, M1c y M1d son independientemente 0 o 1;

M1b es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 o 12;

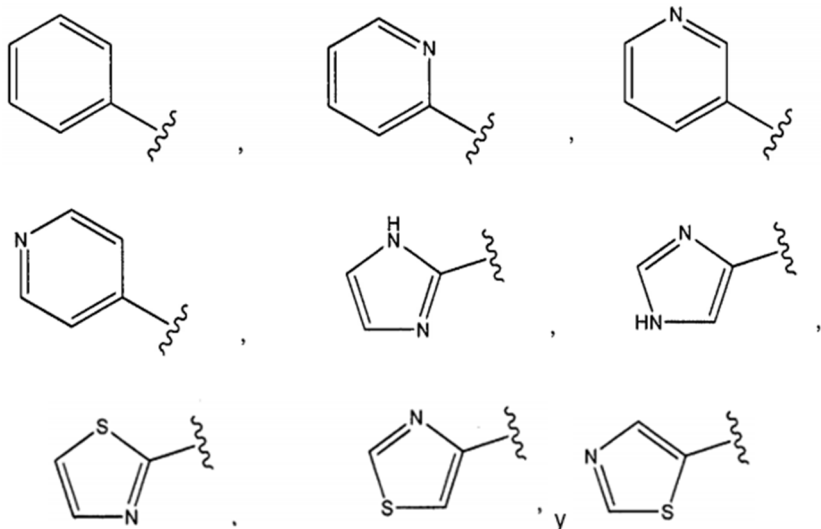
cada R es H, halógeno, (C₁-C₈) alquilo, (C₁-C₈) alquilo sustituido, (C₂-C₈) alqueno, (C₂-C₈) alqueno sustituido, (C₂-C₈) alquino, (C₂-C₈) alquino sustituido, C₆-C₂₀ arilo, C₆-C₂₀ arilo sustituido, (C₂-C₂₀) heterociclo, (C₂-C₂₀) heterociclo sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido o un grupo protector;

W³ es W⁴ o W⁵; W⁴ es R, -C(Y¹)R^y, -C(Y¹)W⁵, -SO₂R^y, o -SO₂W⁵; y W⁵ es un carbociclo o un heterociclo en el que W⁵ está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^y.

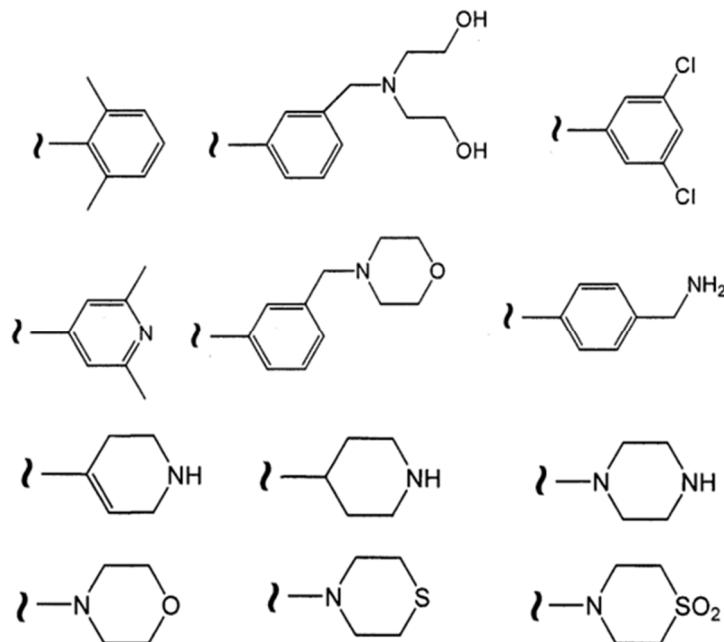
Carbociclos W⁵ y heterociclos W⁵ pueden estar sustituidos independientemente con 0 a 3 grupos R^y. W⁵ puede ser un anillo saturado, insaturado o aromático que comprende un carbociclo o un heterociclo mono- o bicíclico. W⁵ puede tener de 3 a 10 átomos en el anillo, por ejemplo, átomos de 3 a 7 en el anillo. Los anillos W⁵ están saturados cuando contienen 3 átomos en el anillo, saturados o monoinsaturados cuando contienen 4 átomos en el anillo, saturados o mono o di-insaturados cuando contienen 5 átomos en el anillo, y saturados, mono o di-insaturados o aromáticos cuando contiene 6 átomos en el anillo.

El heterociclo W⁵ puede ser un monociclo con 3 a 7 miembros del anillo (2 a 6 átomos de carbono y 1 a 3 heteroátomos seleccionados entre N, O, P y S) o una biciclo que tiene 7 a 10 miembros del anillo (4 a 9 átomos de carbono y 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, O, P y S). W⁵ monociclos heterocíclicos pueden tener de 3 a 6 átomos en el anillo (2 a 5 átomos de carbono y de 1 a 2 heteroátomos seleccionados de N, O, y S); o 5 o 6 átomos en el anillo (3 a 5 átomos de carbono y 1 a 2 heteroátomos seleccionados de N y S). Las bicicletas W⁵ heterocíclicas tienen de 7 a 10 átomos en el anillo (6 a 9 átomos de carbono y 1 a 2 heteroátomos seleccionados de N, O y S) dispuestos como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6], o [6,6]; o 9 a 10 átomos en el anillo (8 a 9 átomos de carbono y 1 a 2 heteroátomos seleccionados de N y S) dispuestos como un sistema biciclo [5,6] o [6,6]. El W⁵ heterociclo puede estar unido a Y² a través de un carbono, nitrógeno, azufre u otro átomo por un enlace covalente estable.

Heterociclos W⁵ incluyen, por ejemplo, piridilo, isómeros dihidropiridilo, piperidina, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, s-triazinilo, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofuranilo, tienilo y pirrolilo. W⁵ también incluye, pero no se limita a, ejemplos como:

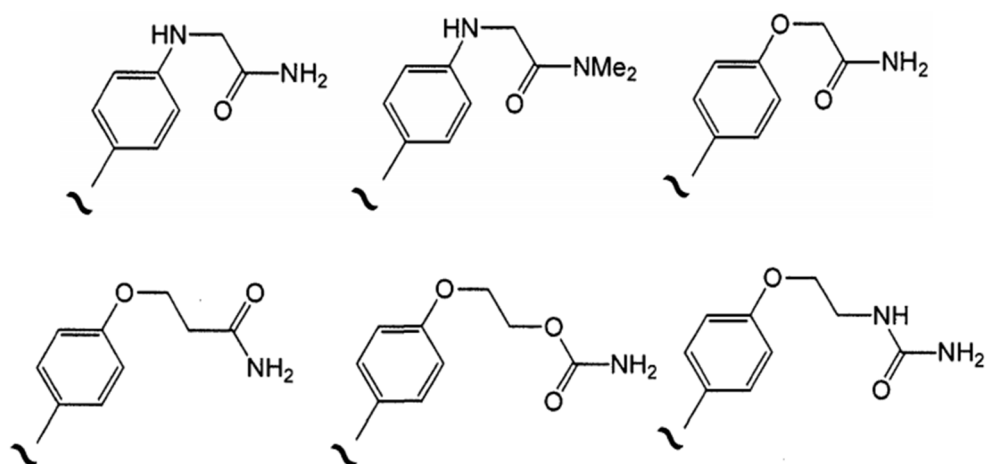


Carbociclos y heterociclos W^5 pueden estar sustituidos independientemente con 0 a 3 grupos R, como se define anteriormente. Por ejemplo, los carbociclos W^5 sustituidos incluyen:

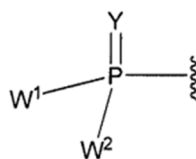


Los ejemplos de fenil carbociclos sustituidos incluyen:

[0103]

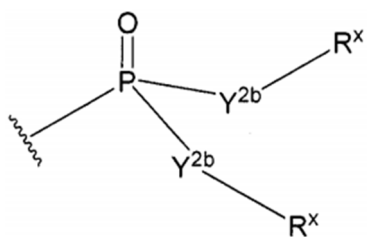


[0104] Realizaciones de

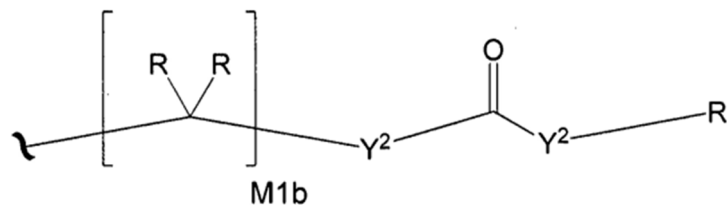


de compuestos de Fórmula I-V incluyen

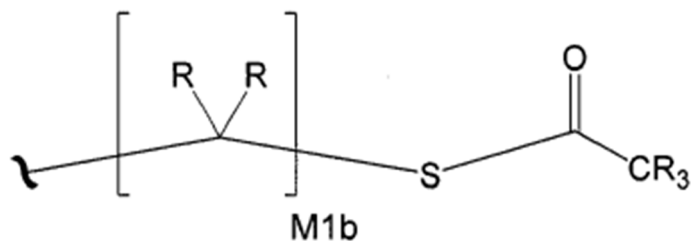
subestructuras tales como:



en donde cada Y^{2b} es, independientemente, O o N(R). En otro aspecto de esta realización, cada Y^{2b} es O y cada R^x es independientemente:



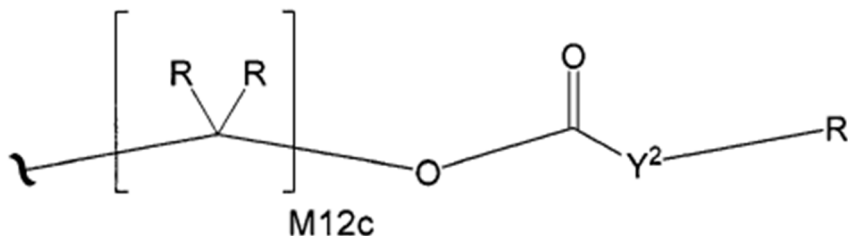
en donde M1b es 1, 2 o 3 y cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 o S. En otro aspecto de esta realización, un $Y^{2b}-R^x$ es NH (R) y el otro $Y^{2b}-R^x$ es O- R^x en donde R^x es:



en donde M1b es 2. En otro aspecto de esta realización, cada Y^{2b} es O y cada R^x es independientemente:

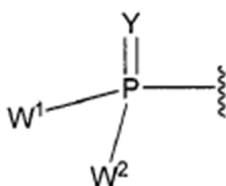


en donde M1b es 2. En otro aspecto de esta realización, cada Y^{2b} es O y cada R^x es independientemente:

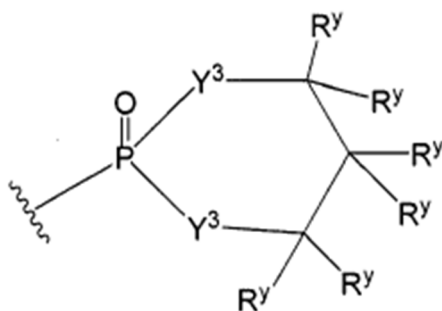


en el que M1b es 1 e Y^2 es un enlace, O, o CR_2 .

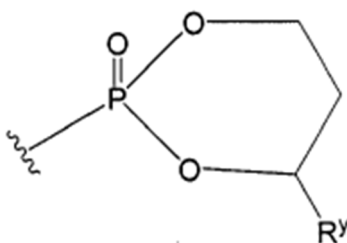
[0105] Otras realizaciones de



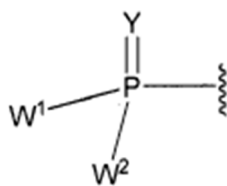
de compuestos de Fórmulas I-V incluyen subestructuras tales como:



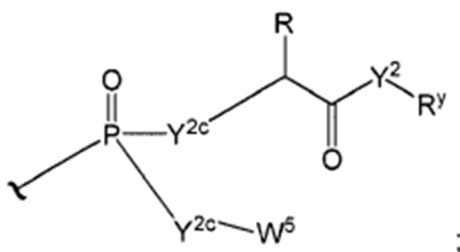
donde cada Y³ es, independientemente, O o N(R). En otro aspecto de esta realización, cada Y³ es O. En otro aspecto de esta realización, la subestructura es:



en donde R^y es W⁵ como se define aquí. Otra realización de

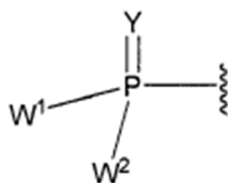


de Fórmula I-V incluye las subestructuras:

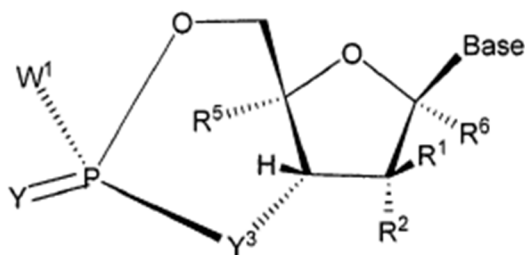
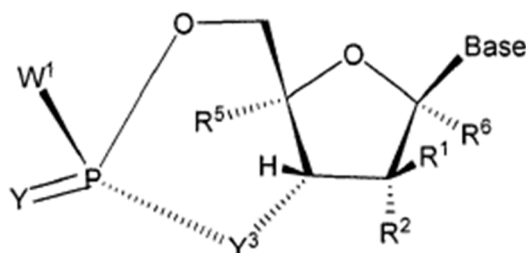


donde cada Y^{2c} es, independientemente, O, N(R^y) o S.

[0106] Otra realización de



de compuestos de Fórmula I-V incluye las subestructuras en donde uno de W^1 o W^2 junto con R^3 o R^4 es $-Y^3-$ y el otro de W^1 o W^2 es Fórmula Ib. Tal realización está representada por un compuesto de Fórmula Ic seleccionado de:

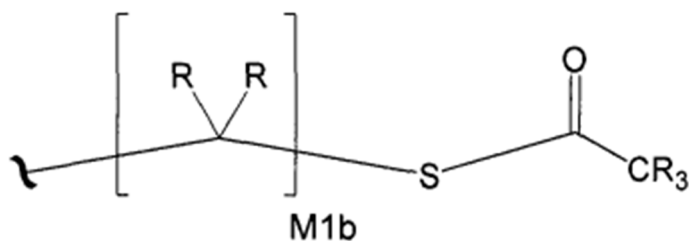


Formula Id

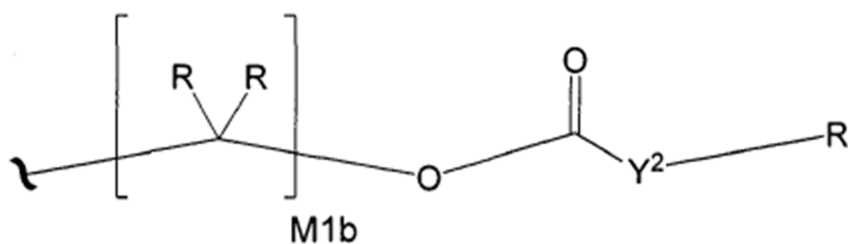
[0107] En otro aspecto de la realización de Fórmula Id, cada Y y Y^3 es O. En otro aspecto de la realización de Fórmula Id, W^1 o W^2 es $Y^{2b}-R^x$; cada Y, Y^3 e Y^{2b} es O y R^x es:



en donde M1b es 1, 2 o 3 y cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 , o S. En otro aspecto de la realización de la Fórmula Id, W^1 o W^2 es $Y^{2b}-R^x$; cada Y, Y^3 e Y^{2b} es O y R^x es:

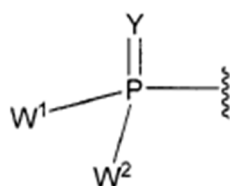


en donde M1 b es 2. En otro aspecto de la realización de la Fórmula Id, W^1 o W^2 es $Y^{2b}-R^x$; cada Y, Y^3 e Y^{2b} es O y R^x es:

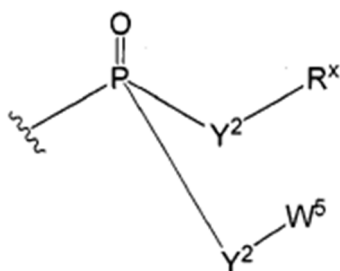


en el que M1b es 1 e Y^2 es un enlace, O, o CR_2 .

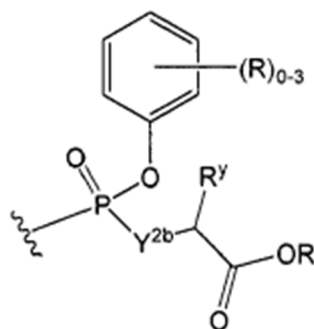
[0108] Otra realización de



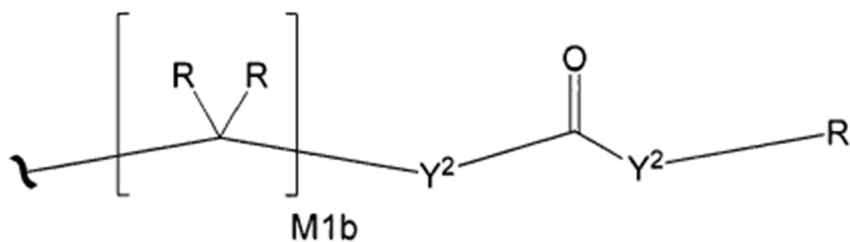
de compuestos de Fórmula I-V incluye una subestructura:



en donde W^5 es un carbociclo tal como fenilo o fenilo sustituido. En otro aspecto de esta realización es:

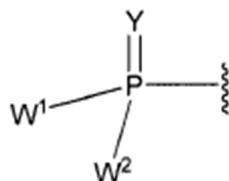


en donde Y^{2b} es O o $N(R)$ y el carbociclo fenilo está sustituido con 0 a 3 grupos R. En otro aspecto de esta realización de la subestructura, R^x es:

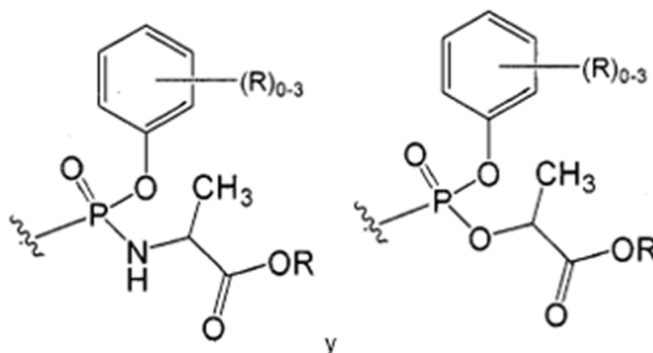


en donde M1b es 1, 2 o 3 y cada Y^2 es independientemente un enlace, O, CR_2 , o S.

[0109] Otra realización de

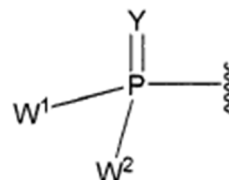


de Fórmula I-V incluye subestructuras:

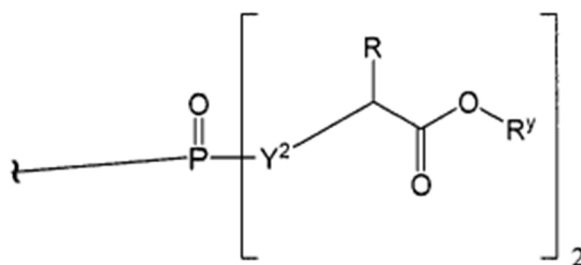


[0110] El carbono quiral de los restos de aminoácidos y lactato puede ser la configuración R o S o la mezcla racémica.

[0111] Otra realización de

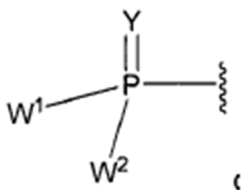


de Fórmula I-V es subestructura

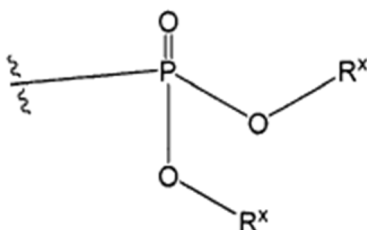


donde cada Y^2 es, independientemente, $-O-$ o $-NH-$. En otro aspecto de esta realización, R^y es (C_1-C_8) alquilo, (C_1-C_8) alquilo sustituido, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquenoilo sustituido, (C_2-C_8) alquinoilo o (C_2-C_8) alquinoilo sustituido. En otro aspecto de esta realización, R^y es (C_1-C_8) alquilo, (C_1-C_8) alquilo sustituido, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquenoilo sustituido, (C_2-C_8) alquinoilo o (C_2-C_8) alquinoilo sustituido; y R es CH_3 . En otro aspecto de esta realización, R^y es (C_1-C_8) alquilo, (C_1-C_8) alquilo sustituido, (C_2-C_8) alquenoilo, (C_2-C_8) alquenoilo sustituido, (C_2-C_8) alquinoilo o (C_2-C_8) alquinoilo sustituido; R es CH_3 ; y cada Y^2 es $-NH-$. En un aspecto de esta realización, W^1 y W^2 son, independientemente, unido por nitrógeno, aminoácidos de origen natural o de origen natural ésteres de aminoácidos. En otro aspecto de esta realización, W^1 y W^2 son, independientemente, de origen natural ácidos carboxílicos 2-hidroxi o de origen natural 2-hidroxi ésteres de ácido carboxílico en el que el ácido o éster está unido a P a través del grupo 2-hidroxi.

[0112] Otra realización de

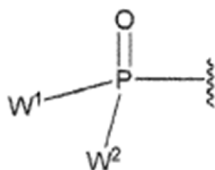


de Fórmula I a V es la subestructura:

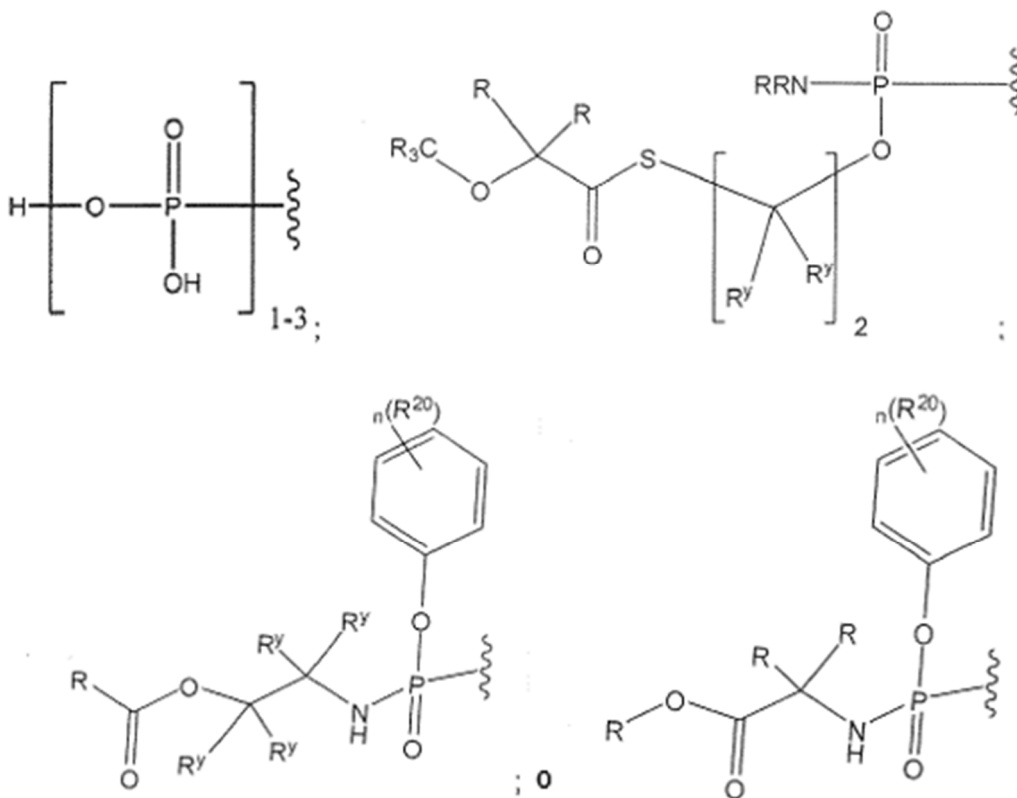


[0113] En un aspecto de esta realización, cada R^x es, independientemente, (C₁-C₈) alquilo. En otro aspecto de esta realización, cada R^x es, independientemente, C₆-C₂₀ arilo o C₆-C₂₀ arilo sustituido.

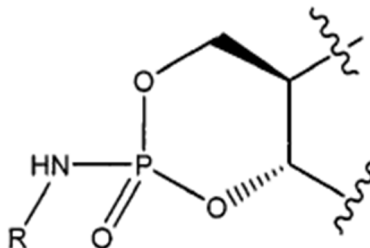
[0114] En una realización,



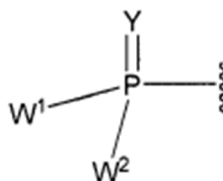
se selecciona de



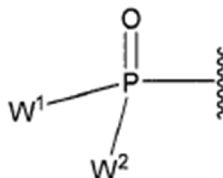
[0115] En algunas realizaciones, el grupo $-R^7-O-C(R^8)-C(R^5)-C(R^3)(R^4)-$ tiene la siguiente fórmula:



[0116] Otra realización de



de Fórmulas I-V es subestructura



en donde W^1 y W^2 se seleccionan independientemente de una de las fórmulas en las Tablas 1,1-1,37 y la Tabla 2,1 a continuación. Las variables utilizadas en las Tablas 1,1-1,37 (p. ej., W^{23} , R^{21} , etc.) pertenecen solo a las Tablas 1,1-1,37, a menos que se indique lo contrario.

[0117] Las variables utilizadas en las Tablas 1,1 a 1,37 tienen las siguientes definiciones:

cada R^{21} es independientemente H o (C_1-C_8) alquilo;

cada R^{22} es independientemente H, R^{21} , R^{23} o R^{24} en donde cada R^{24} está independientemente sustituido con 0 a 3 R^{23} ;

cada R^{23} es independientemente R^{23a} , R^{23b} , R^{23c} o R^{23d} , siempre que cuando R^{23} esté unido a un heteroátomo, entonces R^{23} sea R^{23c} o R^{23d} ;

cada R^{23a} es independientemente F, Cl, Br, I, $-CN$, N_3 o $-NO_2$;

cada R^{23b} es independientemente Y^{21} ;

cada R^{23c} es independientemente $-R^{2x}$, $-N(R^{2x})(R^{2x})$, $-SR^{2x}$, $-S(O)R^{2x}$, $-S(O)_2R^{2x}$, $-S(O)(OR^{2x})$, $-S(O)_2(OR^{2x})$, $-OC(=Y^{21})R^{2x}$, $-OC(=Y^{21})OR^{2x}$, $-OC(=Y^{21})(N(R^{2x})(R^{2x}))$, $-SC(=Y^{21})R^{2x}$, $-SC(=Y^{21})OR^{2x}$, $-SC(=Y^{21})(N(R^{2x})(R^{2x}))$, $-N(R^{2x})C(=Y^{21})R^{2x}$, $-N(R^{2x})C(=Y^{21})OR^{2x}$, o $-N(R^{2x})C(=Y^{21})(N(R^{2x})(R^{2x}))$;

cada R^{23d} es independientemente $-C(=Y^{21})R^{2x}$, $-C(=Y^{21})OR^{2x}$ o $-C(=Y^{21})(N(R^{2x})(R^{2x}))$;

cada R^{2x} es independientemente H, (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenilo, (C_2-C_8) alquinilo, arilo, heteroarilo; o dos R^{2x} tomados junto con un nitrógeno al que ambos están unidos forman un anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros en el que cualquier átomo de carbono de dicho anillo heterocíclico puede reemplazarse opcionalmente con $-O-$, $-S-$ o $-NR^{21}-$; y en el que uno o más de los átomos de carbono no terminales de cada uno de dichos (C_1-C_8) alquilo puede estar opcionalmente sustituido con $-O-$, $-S-$ o $-NR^{21}-$;

cada R^{24} es independientemente (C_1-C_8) alquilo, (C_2-C_8) alquenilo, o (C_2-C_8) alquinilo;

cada R^{25} es independientemente R^{24} en el que cada R^{24} está sustituido con 0 a 3 grupos R^{23} ;

cada R^{25a} es independientemente (C_1-C_8) alquilenilo, (C_2-C_8) alquenilenilo, o (C_2-C_8) alquinilenilo uno cualquiera de los cuales dijo (C_1-C_8) alquilenilo, (C_2-C_8) alquenilenilo, o (C_2-C_8) alquinilenilo está sustituido con 0-3 grupos R^{23} ;

cada W^{23} es independientemente W^{24} o W^{25} ;

cada W^{24} es independientemente R^{25} , $-C(=Y^{21})R^{25}$, $-C(=Y^{21})W^{25}$, $-SO_2R^{25}$, o $-SO_2W^{25}$;

cada W^{25} es independientemente carbociclo o heterociclilo, en el que W^{25} está sustituido independientemente con 0 a 3 grupos R^{22} ; y

cada Y^{21} es independientemente O o S.

Tabla 1.1

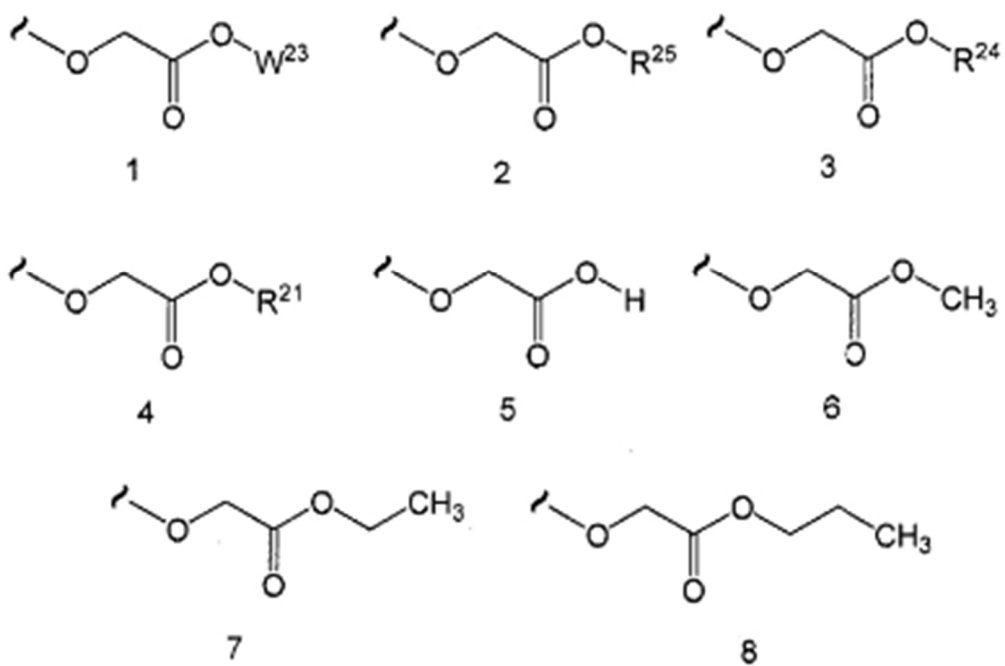


Tabla 1.2

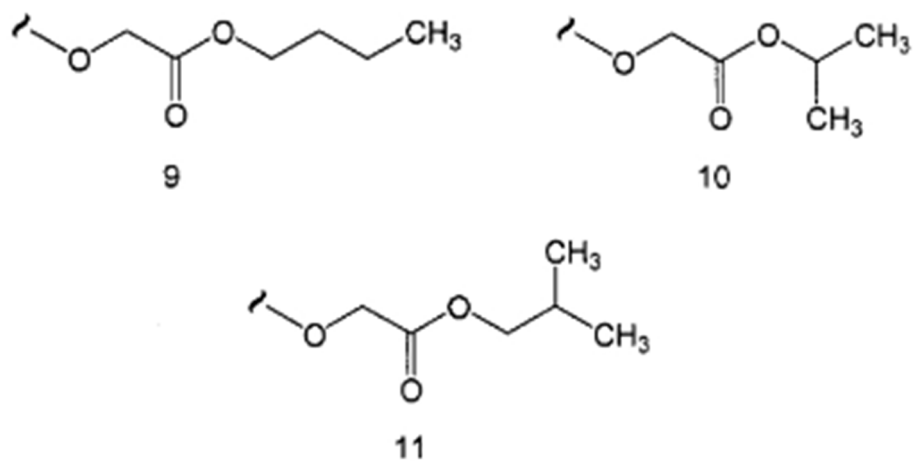


Tabla 1.3

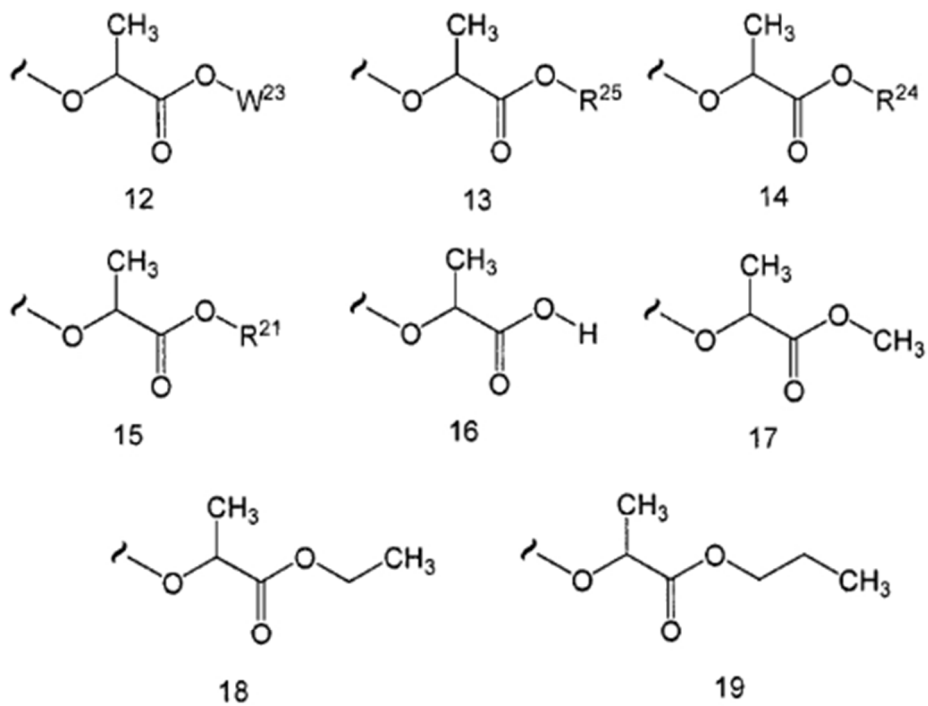


Tabla 1.4

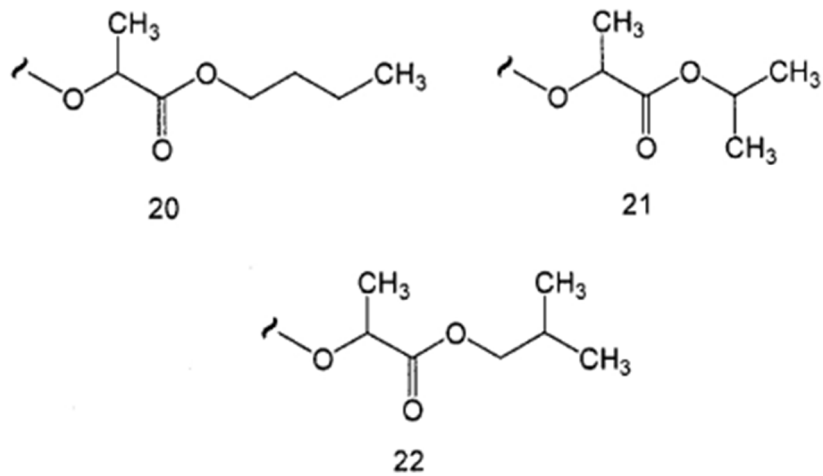


Tabla 1.5

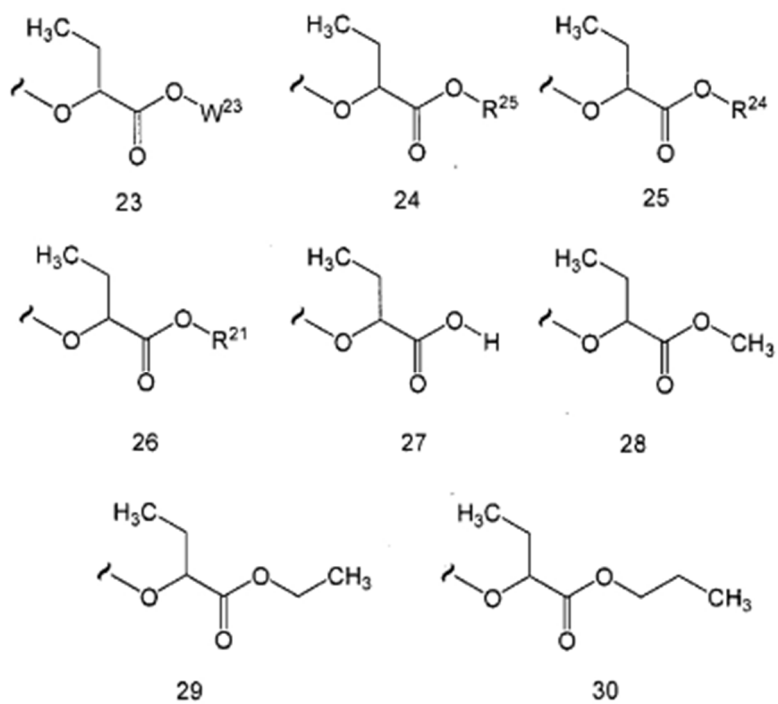


Tabla 1.6

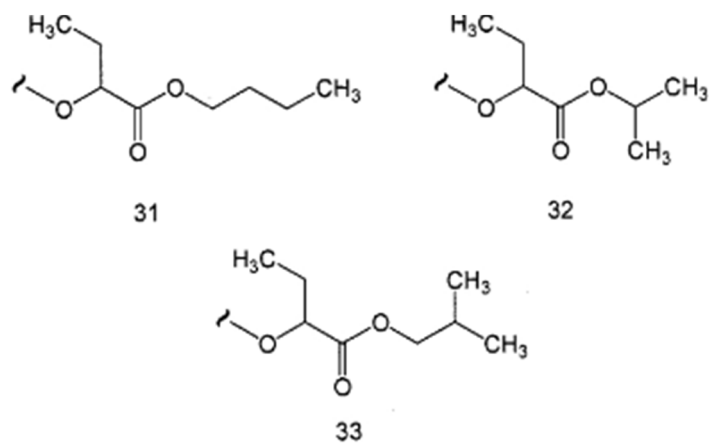


Tabla 1.7

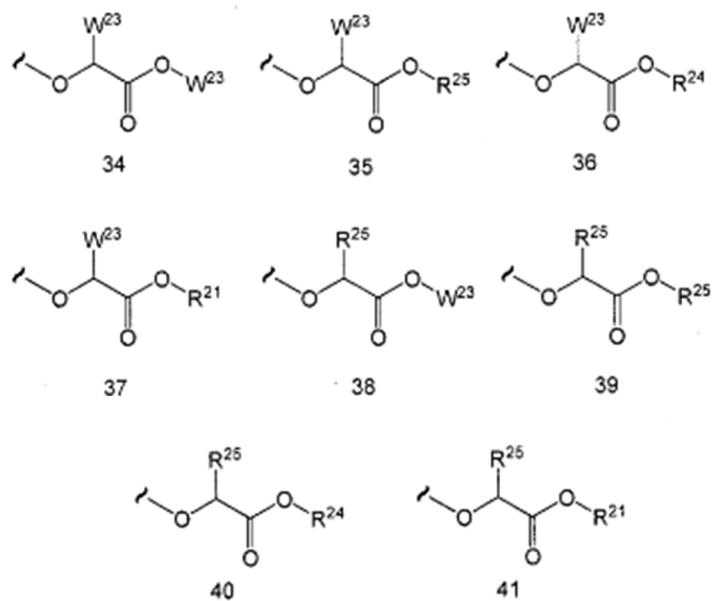


Tabla 1.8

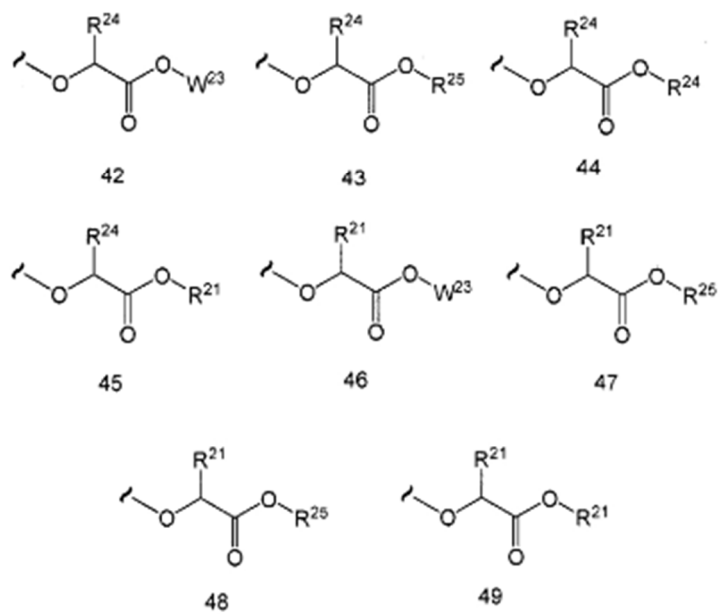


Tabla 1.9

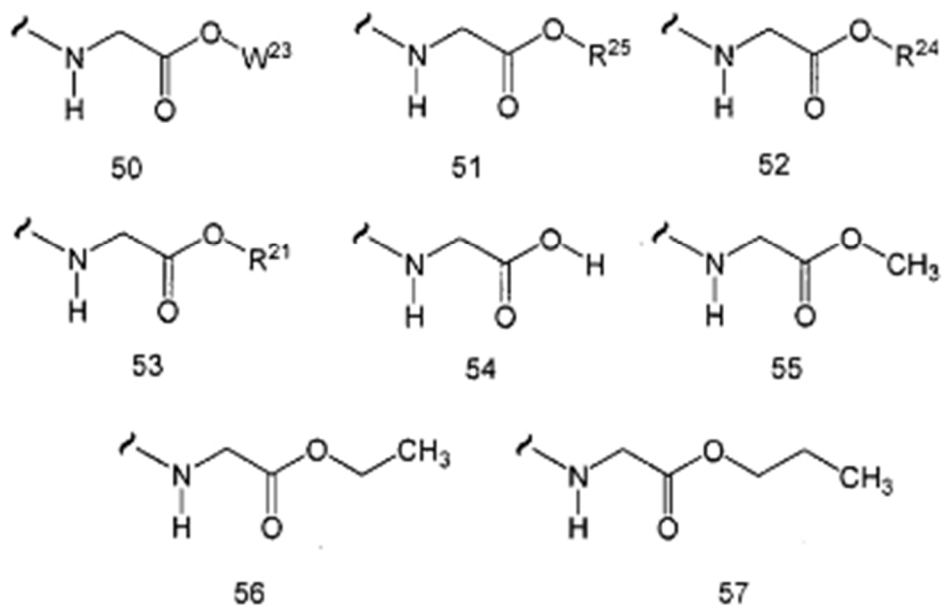


Tabla 1.11

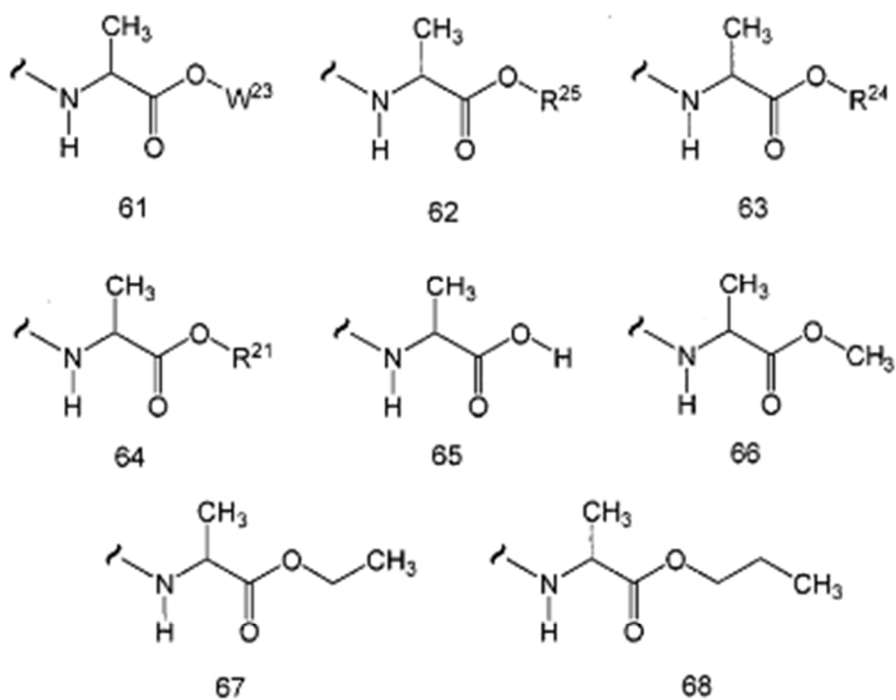


Tabla 1.12

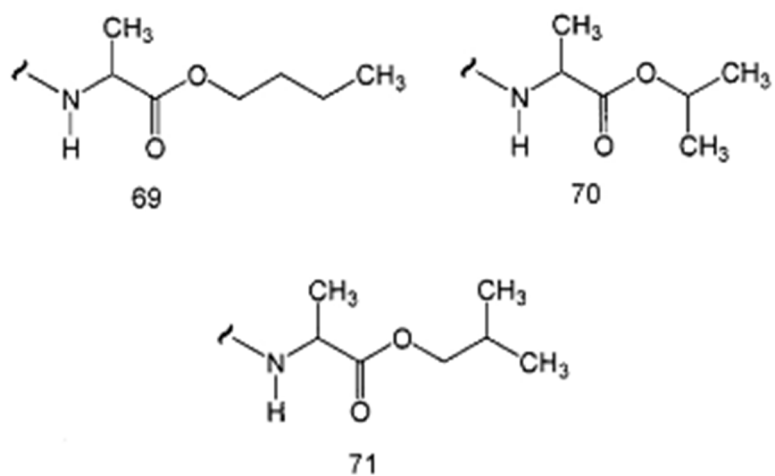


Tabla 1.13

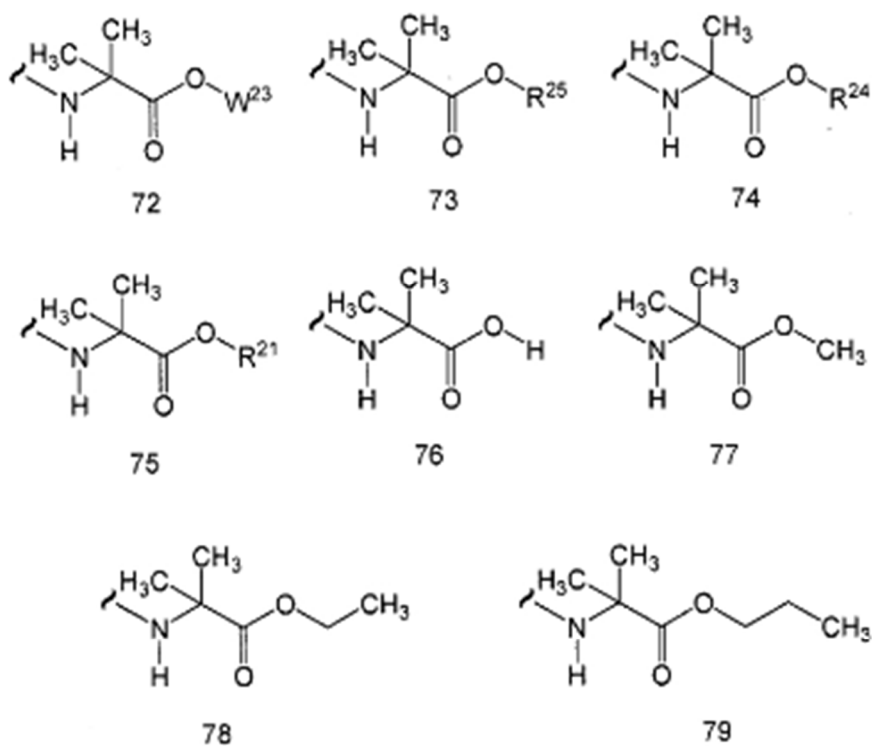
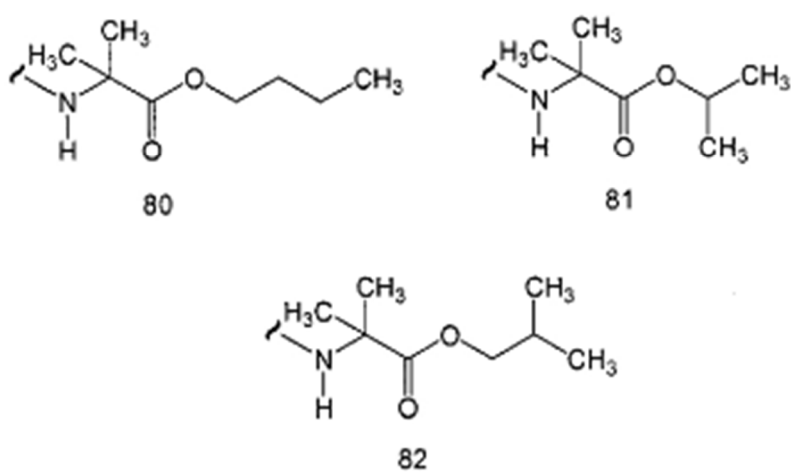
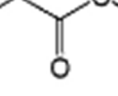
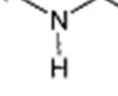
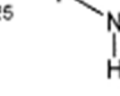
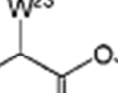
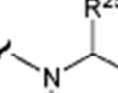
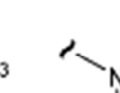
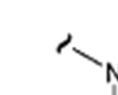
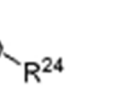


Tabla 1.14




83
 
84
 
85
 
86
 
87
 
88
 
89
 
90

Chemical structures 91-98 are shown below:

91: R^{24} -substituted amide with W^{23} group.

92: R^{24} -substituted amide with R^{25} group.

93: R^{24} -substituted amide with R^{24} group.

94: R^{24} -substituted amide with R^{21} group.

95: R^{21} -substituted amide with W^{23} group.

96: R^{21} -substituted amide with R^{25} group.

97: R^{21} -substituted amide with R^{24} group.

98: R^{21} -substituted amide with R^{21} group.

Tabla 1.17

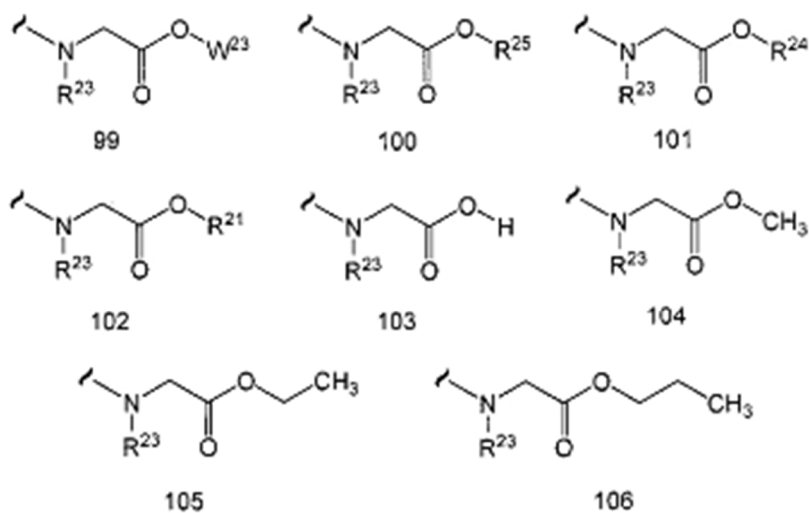


Tabla 1.18

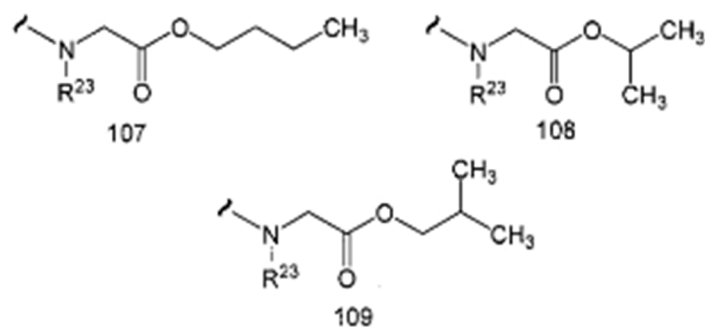


Tabla 1.19

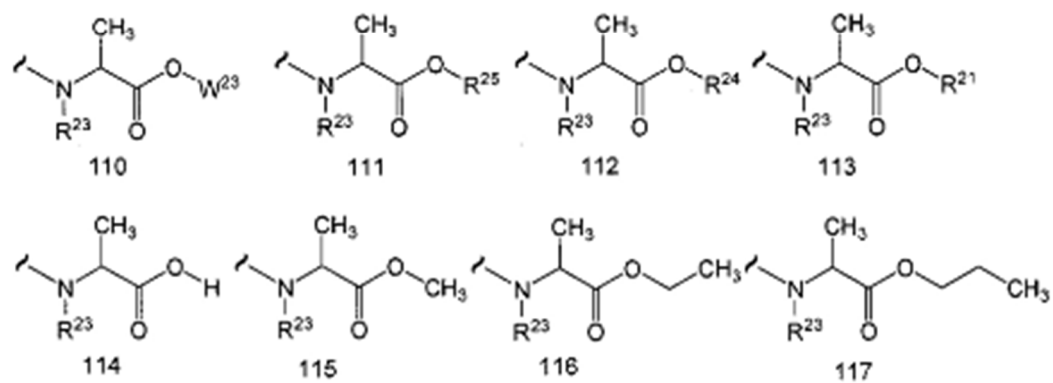


Tabla 1.20

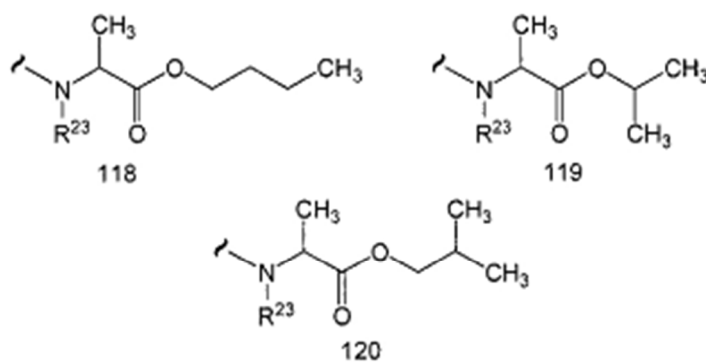


Tabla 1.21

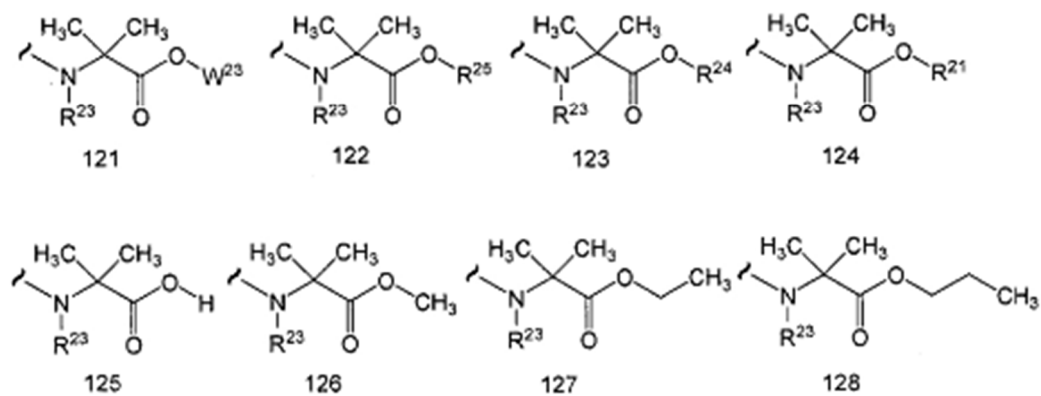


Tabla 1.22

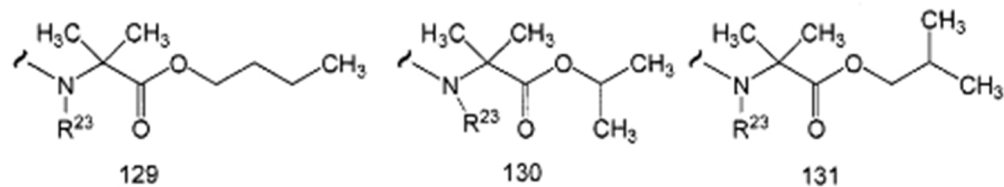


Tabla 1.23

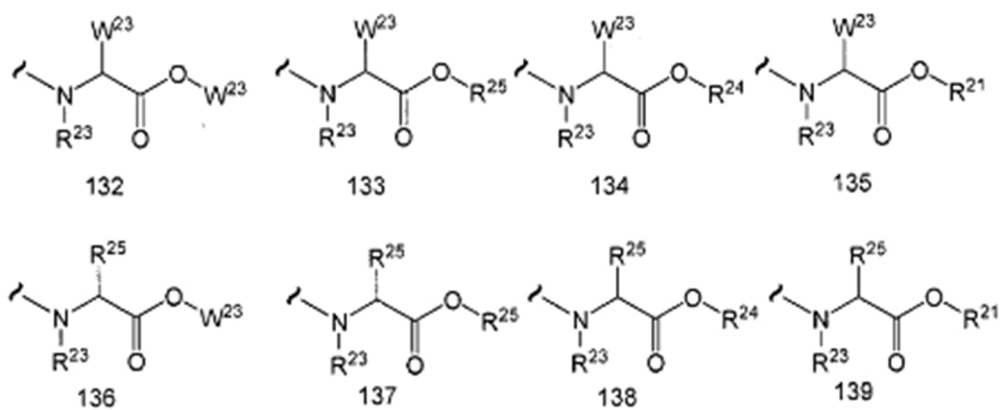


Tabla 1.24

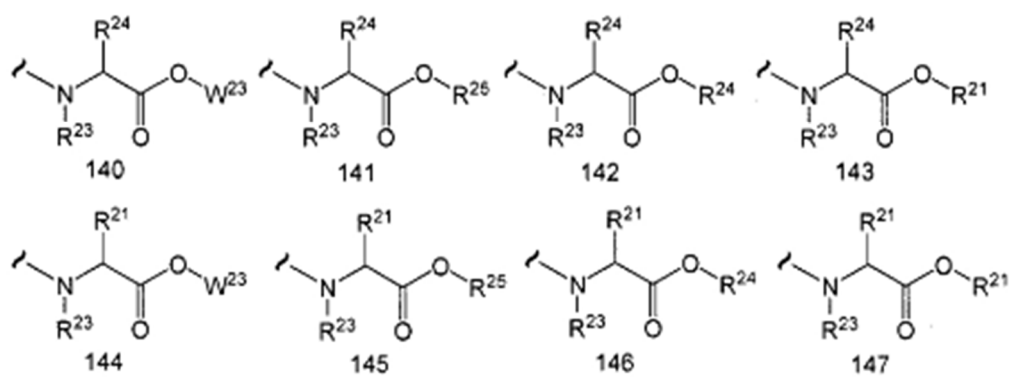


Tabla 1.25

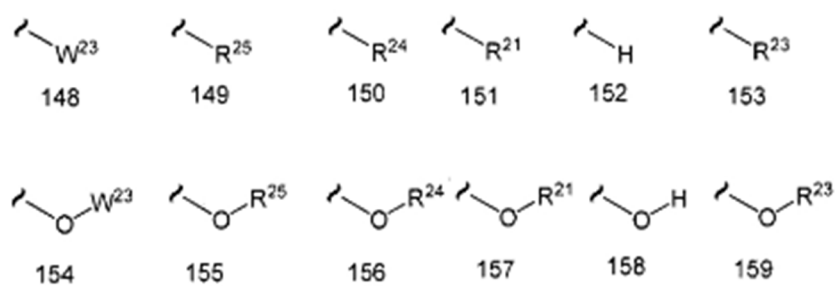


Tabla 1.26

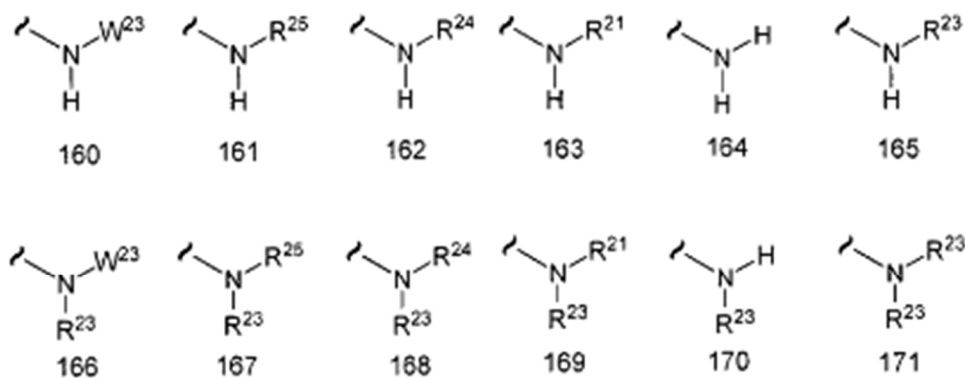


Tabla 1.27

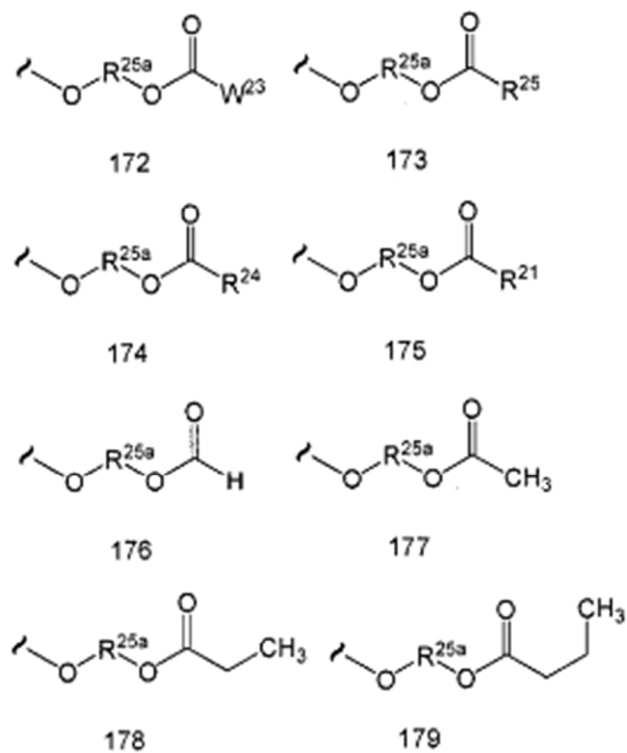


Tabla 1.28

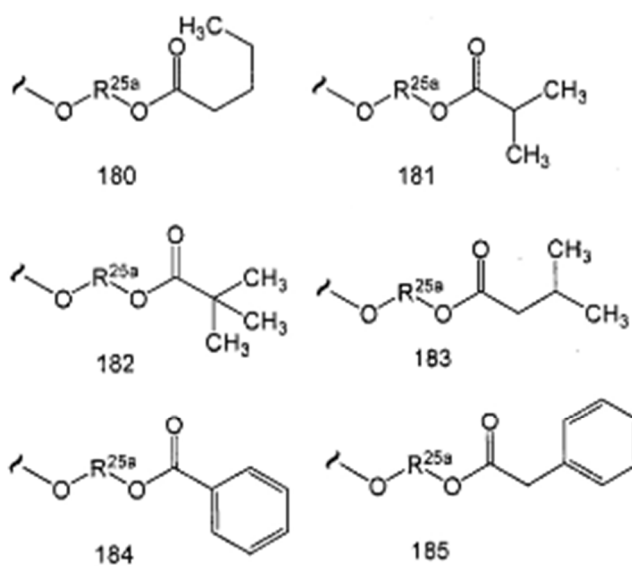


Tabla 1.29

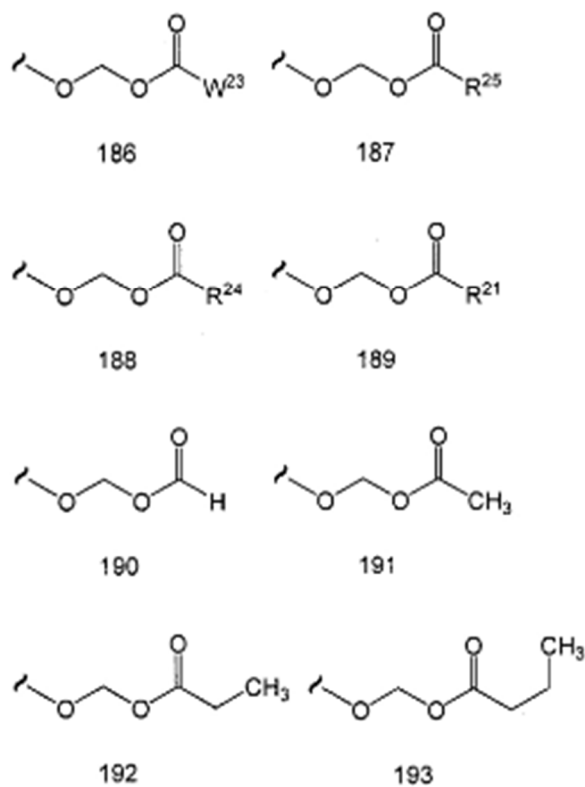


Tabla 1.30

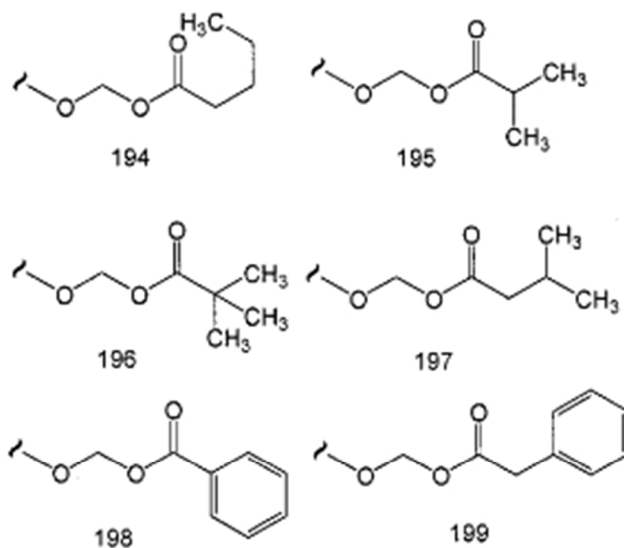


Tabla 1.31

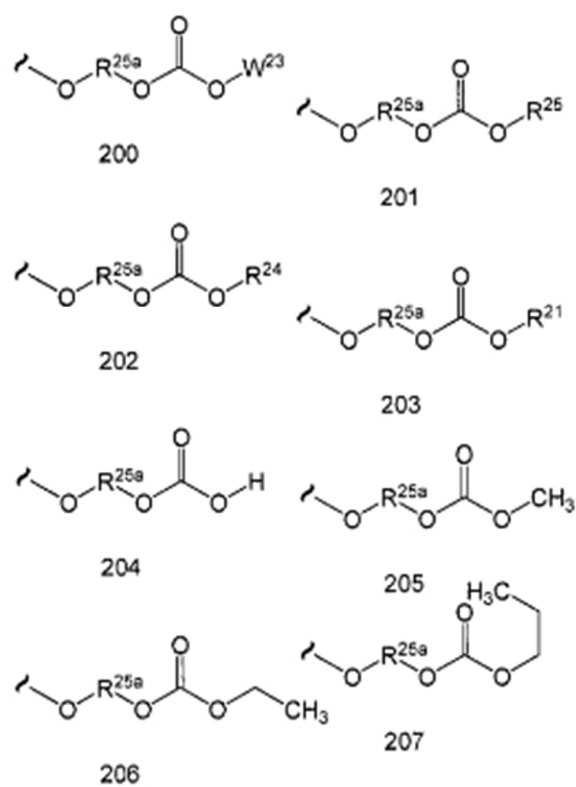


Tabla 1.32

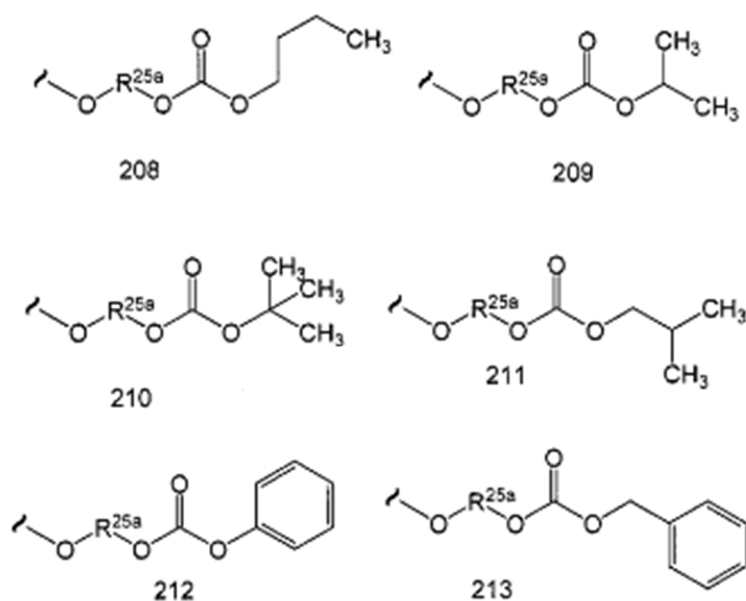


Tabla 1.33

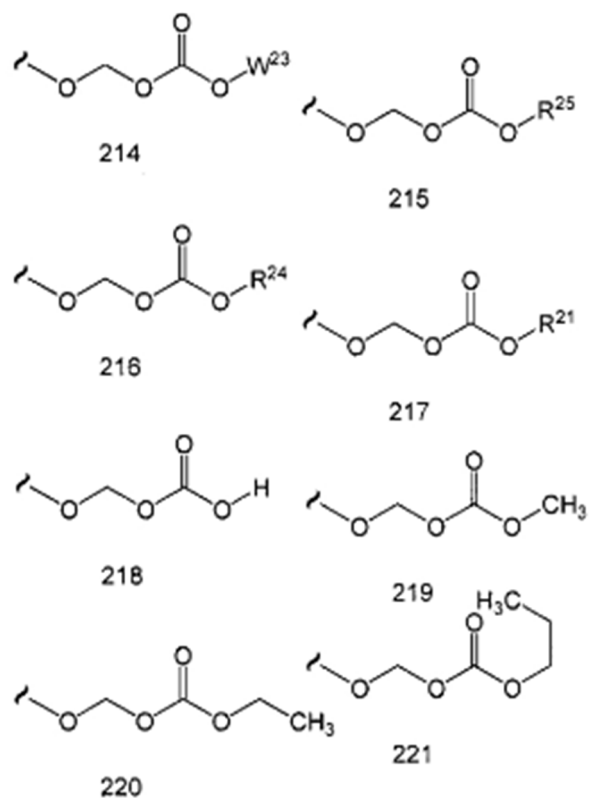


Tabla 1.34

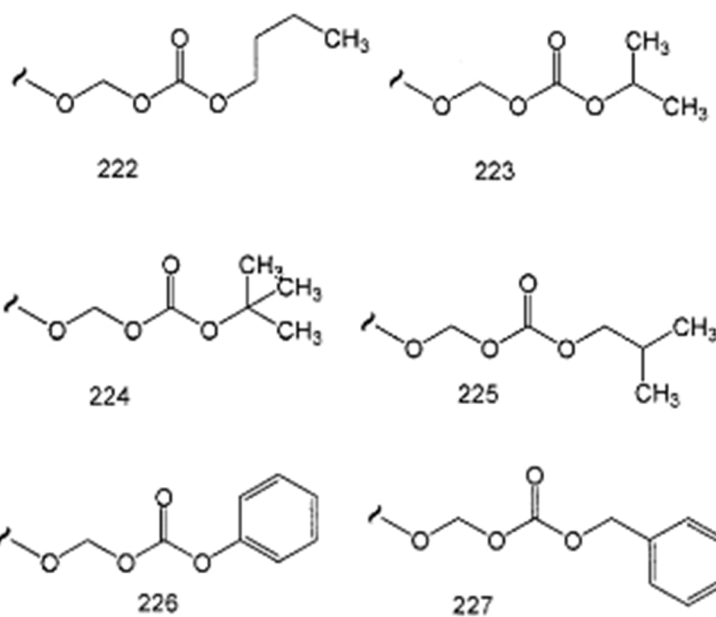


Tabla 1.35

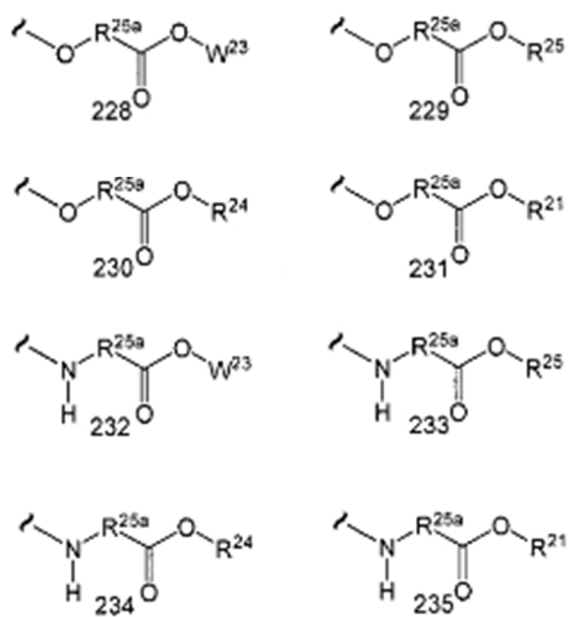


Tabla 1.36

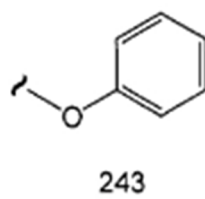
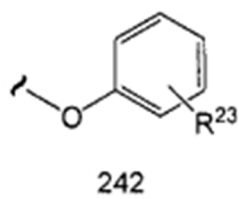
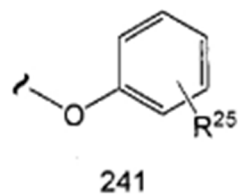
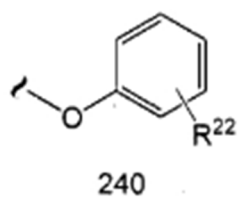
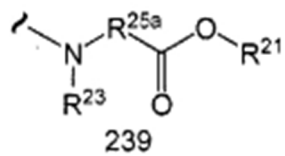
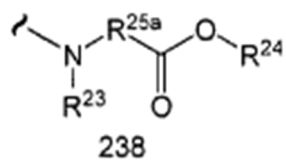
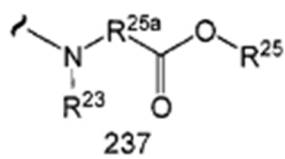
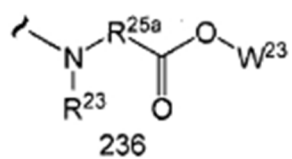


Tabla 1.37

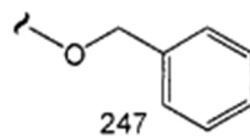
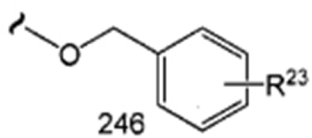
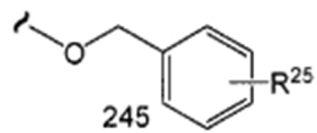
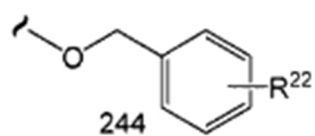
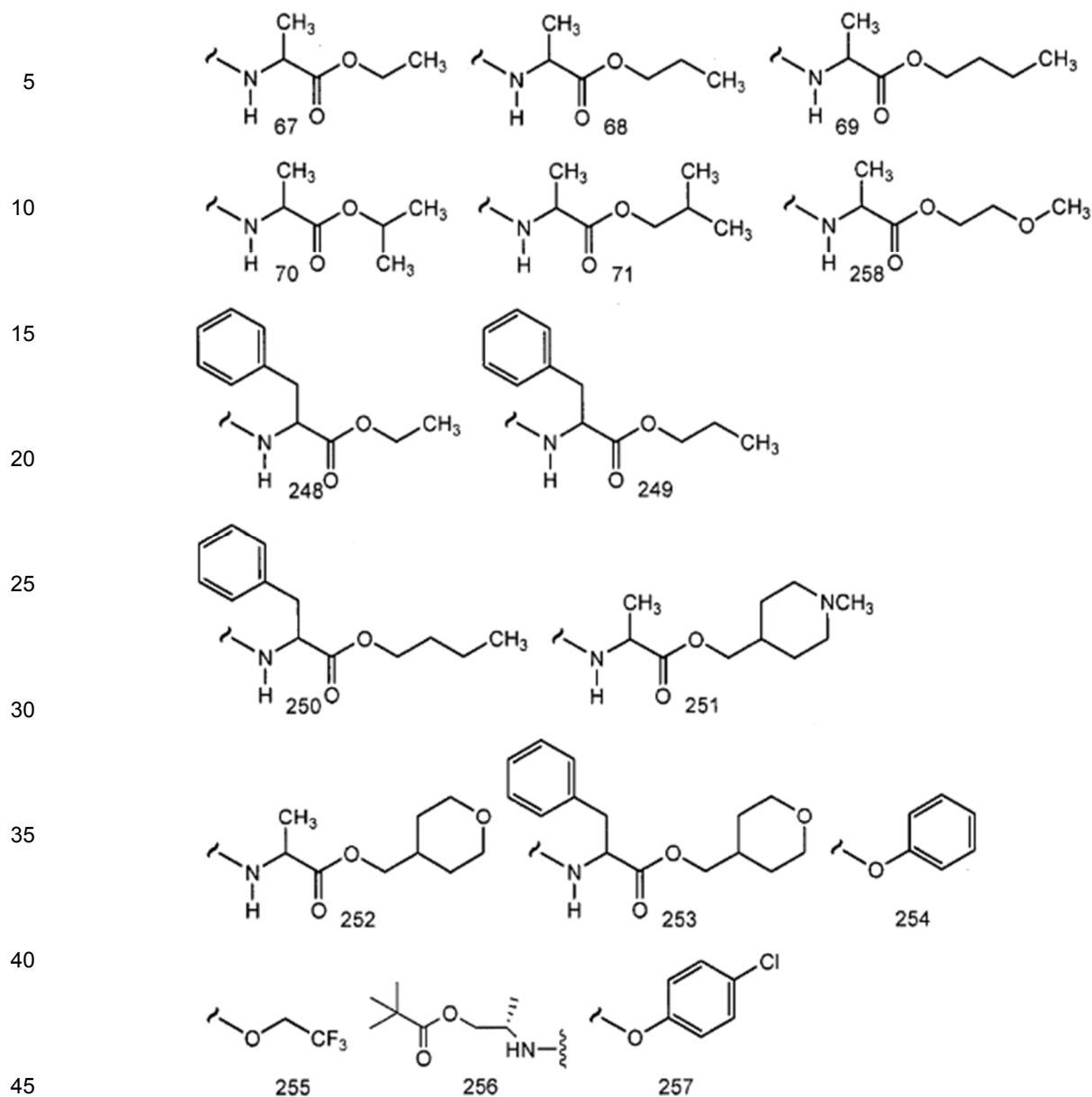
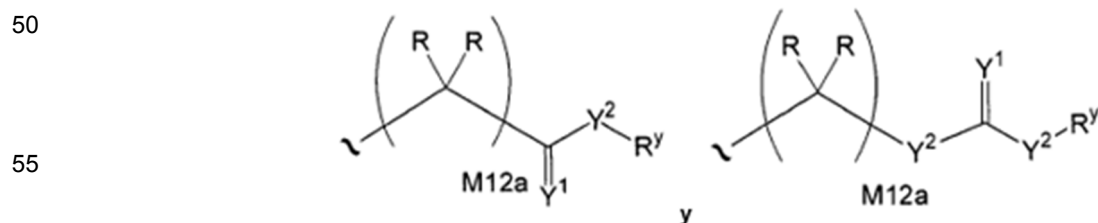


Tabla 2.1



[0118] Las realizaciones de R^x incluyen ésteres, carbamatos, carbonatos, tioésteres, amidas, tioamidas y grupos urea:



[0119] Cualquier referencia a los compuestos de la invención descritos en el presente documento también incluye una referencia a una sal fisiológicamente aceptable de los mismos. Los ejemplos de sales fisiológicamente aceptables de los compuestos de la invención incluyen sales derivadas de una base apropiada, tal como un metal alcalino o una tierra alcalina (por ejemplo, Na^+ , Li^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2}), amonio y NR_4^+ (en donde R se define aquí). Las sales fisiológicamente aceptables de un átomo de nitrógeno o un grupo amino incluyen (a) sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido sulfámico, ácido fosfórico, ácido nítrico y similares; (b) sales formadas con ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido

acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido isetiónico, ácido lactobiónico, ácido tánico, ácido palmítico, ácido algínico, ácido poliglutámico, ácido naftalenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido poligalacturónico, ácido malónico, ácido sulfosalicílico, ácido glicólico, 2-hidroxi-3-naftoato, pamoato, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido ftálico, ácido mandélico, ácido láctico, ácido etanosulfónico, lisina, arginina, ácido glutámico, glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina, leucina y similares; y (c) sales formadas a partir de aniones elementales, por ejemplo, cloro, bromo y yodo. Las sales fisiológicamente aceptables de un compuesto de un grupo hidroxilo incluyen el anión de dicho compuesto en combinación con un catión adecuado tal como Na^+ y NR_4^+ .

[0120] Para uso terapéutico, las sales de ingredientes activos de los compuestos de la invención serán fisiológicamente aceptables, es decir, serán sales derivadas de un ácido o base fisiológicamente aceptable. Sin embargo, las sales de ácidos o bases que no son fisiológicamente aceptables también pueden encontrar uso, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto fisiológicamente aceptable. Todas las sales, derivadas o no de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están dentro del alcance de la presente invención.

[0121] Finalmente, es de entenderse que las composiciones de esta invención comprenden compuestos de la invención en su forma no ionizada, así como la forma de ion híbrido, y combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en hidratos.

[0122] Los compuestos de la invención pueden tener centros quirales, por ejemplo, átomos de carbono quiral o fósforo. Los compuestos de la invención incluyen, por lo tanto, mezclas racémicas de todos los estereoisómeros, incluidos enantiómeros, diastereómeros y atropisómeros. Además, los compuestos de la invención incluyen isómeros ópticos enriquecidos o resueltos en cualquiera o en todos los átomos quirales asimétricos. En otras palabras, los centros quirales aparentes a partir de las representaciones se proporcionan como isómeros quirales o mezclas racémicas. Tanto las mezclas racémicas como las diastereoméricas, así como los isómeros ópticos individuales aislados o sintetizados; sustancialmente libres de sus socios enantioméricos o diastereoméricos, están todos dentro del alcance de la invención. Las mezclas racémicas se separan en sus isómeros individuales, sustancialmente ópticamente puros a través de técnicas bien conocidas como, por ejemplo, la separación de sales diastereoméricas formadas con adyuvantes ópticamente activos, p. ej., ácidos o bases, seguido de la conversión de nuevo a las sustancias ópticamente activas. En la mayoría de los casos, el isómero óptico deseado se sintetiza por medio de reacciones estereoespecíficas, comenzando con el estereoisómero apropiado del material de partida deseado.

[0123] El término "quiral" se refiere a las moléculas que tienen la propiedad de no superponibilidad del compañero de la imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que son superponibles en su compañero de la imagen especular.

[0124] El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

[0125] "Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares entre sí. Los diastereómeros tienen diferentes propiedades físicas, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse bajo procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

[0126] Los "enantiómeros" se refieren a dos estereoisómeros de un compuesto que son imágenes especulares no superponibles entre sí.

[0127] Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en el presente documento generalmente siguen a SP Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada en el plano. Al describir un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S se usan para denotar la configuración absoluta de la molécula sobre su centro o centros quirales. Los prefijos d e l, D y L, o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación de la luz polarizada en plano por el compuesto, con S, (-), o 1 que significa que el compuesto es levorrotatorio mientras que un compuesto con el prefijo R, (+) o d es dextrorrotatorio. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos, excepto que son imágenes especulares entre sí. Un estereoisómero específico también puede denominarse enantiómero, y una mezcla de tales isómeros a menudo se denomina mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se conoce como una mezcla racémica o un racemato, que puede ocurrir donde no ha habido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico. Los términos "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, desprovistas de actividad óptica.

[0128] Siempre que un compuesto descrito en el presente documento se sustituya con más de uno del mismo grupo designado, por ejemplo, "R" o "R1", entonces se entenderá que los grupos pueden ser iguales o diferentes, es decir, cada grupo es independientemente seleccionado. Las líneas onduladas indican el sitio de los enlaces covalentes a las

subestructuras, grupos, restos o átomos adyacentes.

[0129] Los compuestos de la invención también pueden existir como isómeros tautómeros en ciertos casos. Aunque solo se puede representar una estructura de resonancia deslocalizada, todas estas formas se contemplan dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, pueden existir tautómeros de ene-amina para sistemas de purina, pirimidina, imidazol, guanidina, amidina y tetrazol y todas sus formas tautómeras posibles están dentro del alcance de la invención.

Métodos de inhibición de la polimerasa del VHC

[0130] La invención también se refiere a compuestos para su uso en métodos de inhibición de la actividad de la polimerasa del VHC que comprende la etapa de tratar una muestra sospechosa de contener VHC con una composición de la invención.

[0131] Las composiciones de la invención pueden actuar como inhibidores de la polimerasa del VHC, como intermediarios para tales inhibidores o tener otras utilidades como se describe a continuación. Los inhibidores se unirán a ubicaciones en la superficie o en una cavidad de la polimerasa del VHC que tiene una geometría única para la polimerasa del VHC. Las composiciones que se unen a la polimerasa del VHC pueden unirse con diversos grados de reversibilidad. Aquellos compuestos que se unen de manera sustancialmente irreversible son candidatos ideales para uso en este método de la invención. Una vez marcadas, las composiciones de unión sustancialmente irreversibles son útiles como sondas para la detección de la polimerasa del VHC. Por consiguiente, también se describen en el presente documento métodos para detectar la polimerasa de VHC en una muestra sospechosa de contener polimerasa de VHC que comprende los pasos de: tratar una muestra sospechosa de contener polimerasa de VHC con una composición que comprende un compuesto de la invención unido a una etiqueta; y observar el efecto de la muestra en la actividad de la etiqueta. Los marcadores adecuados son bien conocidos en el campo del diagnóstico e incluyen radicales libres estables, fluoróforos, radioisótopos, enzimas, grupos quimioluminiscentes y cromógenos. Los compuestos de la presente invención se marcan de manera convencional usando grupos funcionales tales como hidroxilo, carboxilo, sulfhidrido o amino.

[0132] Dentro del contexto de la invención, las muestras sospechosas de contener polimerasa de VHC incluyen materiales naturales o artificiales tales como organismos vivos; cultivos de tejidos o células; muestras biológicas tales como muestras de material biológico (sangre, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, esputo, saliva, muestras de tejido y similares); muestras de laboratorio; muestras de comida, agua o aire; muestras de bioproductos tales como extractos de células, particularmente células recombinantes que sintetizan una glicoproteína deseada; y similares. Por lo general, se sospechará que la muestra contiene un organismo que produce polimerasa del VHC, con frecuencia un organismo patógeno como el VHC. Las muestras pueden estar contenidas en cualquier medio incluyendo agua y mezclas de solvente orgánico/agua. Las muestras incluyen organismos vivos como los humanos y materiales hechos por el hombre como los cultivos celulares.

[0133] La etapa de tratamiento de la invención comprende agregar la composición de la invención a la muestra o comprende agregar un precursor de la composición a la muestra. La etapa de adición comprende cualquier método de administración como se describe anteriormente.

[0134] Si se desea, la actividad de la polimerasa del VHC después de la aplicación de la composición puede observarse mediante cualquier método que incluya métodos directos e indirectos para detectar la actividad de la polimerasa del VHC. Se contemplan todos los métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para determinar la actividad de la polimerasa del VHC. Normalmente, se aplica uno de los métodos de detección descritos anteriormente, sin embargo, cualquier otro método, como la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo, también es aplicable.

[0135] Los organismos que contienen polimerasa de VHC incluyen el virus de VHC. Los compuestos de esta invención son útiles en el tratamiento o la profilaxis de infecciones por VHC en animales o en el hombre.

[0136] Sin embargo, en el cribado de compuestos capaces de inhibir los virus de la inmunodeficiencia humana, se debe tener en cuenta que los resultados de los ensayos enzimáticos pueden no correlacionarse con los ensayos de cultivo celular. Por lo tanto, un ensayo basado en células debería ser la principal herramienta de detección.

Cribas para inhibidores de la polimerasa del VHC

[0137] Las composiciones de la invención se seleccionan para determinar la actividad inhibitoria contra la polimerasa del VHC por cualquiera de las técnicas convencionales para evaluar la actividad enzimática. Dentro del contexto de la invención, típicamente las composiciones se seleccionan primero para la inhibición de la polimerasa del VHC *in vitro* y las composiciones que muestran actividad inhibitoria se seleccionan luego para la actividad *in vivo*. Las composiciones que tienen K_i *in vitro* (constantes inhibitorias) de menos de aproximadamente 5×10^{-6} M y preferiblemente menos de aproximadamente 1×10^{-7} M se prefieren para uso *in vivo*.

[0138] Las cribas *in vitro* útiles se han descrito en detalle y no se elaborarán aquí. Sin embargo, los ejemplos describen ensayos *in vitro* adecuados.

Formulaciones farmacéuticas

[0139] Los compuestos de esta invención se formulan con vehículos y excipientes convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica ordinaria. Las tabletas contendrán excipientes, deslizantes, rellenos, aglutinantes y similares. Formulaciones acuosas se preparan en forma estéril y, cuando están destinadas a ser administradas por otra vía que no sea la administración oral, generalmente serán isotónicas. Todas las formulaciones contendrán opcionalmente excipientes como los establecidos en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986). Los excipientes incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes como EDTA, carbohidratos como dextrano, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmethylcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones varía de aproximadamente 3 a aproximadamente 11, pero normalmente es de aproximadamente 7 a 10.

[0140] Si bien es posible que los ingredientes activos se administren solos, puede ser preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como humano, de la invención comprenden al menos un ingrediente activo, como se definió anteriormente, junto con uno o más vehículos aceptables y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El (los) vehículo(s) debe(n) ser "aceptable(s)" en el sentido de ser compatible(s) con los otros ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuo(s) para el receptor de los mismos.

[0141] Las formulaciones incluyen aquellas adecuadas para las rutas de administración anteriores. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia. Las técnicas y formulaciones generalmente se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Dichos métodos incluyen el paso de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y luego, si es necesario, moldeando el producto.

[0142] Las formulaciones de la presente invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o tabletas que contienen cada una una cantidad predeterminada del ingrediente activo; como un polvo o gránulos; como una solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El ingrediente activo también puede administrarse como un bolo, electuario o pasta.

[0143] Una tableta está hecha por compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente activo en una forma que fluye libremente, como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Las tabletas moldeadas pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del ingrediente activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Las tabletas pueden recubrirse o ranurarse opcionalmente y, opcionalmente, formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo a partir de las mismas.

[0144] Para infecciones del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo, boca y piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como una pomada o crema tópica que contiene los ingredientes activos en una cantidad de, por ejemplo, 0,075 a 20% p/p (incluidos los ingredientes activos en un rango entre 0,1% y 20% en incrementos de 0,1% p/p como 0,6% p/p, 0,7% p/p, etc.), preferiblemente 0,2 a 15% p/p y lo más preferiblemente 0,5 a 10% p/p. Cuando se formula en una pomada, los ingredientes activos pueden emplearse con una base de pomada parafínica o miscible con agua. Alternativamente, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con una base de crema de aceite en agua.

[0145] Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol (incluido PEG 400) y sus mezclas. Las formulaciones tópicas pueden incluir deseablemente un compuesto que mejore la absorción o penetración del ingrediente activo a través de la piel u otras áreas afectadas. Los ejemplos de tales potenciadores de penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

[0146] La fase oleosa de las emulsiones de esta invención puede estar constituida por ingredientes conocidos de una manera conocida. Mientras que la fase puede comprender simplemente un emulsionante (también conocido como un emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite. Preferiblemente, se incluye un emulsionante hidrofílico junto con un emulsionante lipofílico que actúa como estabilizador. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. Juntos, el (los) emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) forman la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa forman la denominada base de ungüento emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de formulaciones de crema.

[0147] Los emulgentes y estabilizadores de emulsión adecuados para uso en la formulación de la invención incluyen

Tween® 60, Span® 80, alcohol cetosteárfilico, alcohol bencílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio.

[0148] La elección de aceites o grasas para la formulación adecuados se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas. La crema debe ser preferiblemente un producto no grasoso, no manchable y lavable con una consistencia adecuada para evitar fugas de tubos u otros recipientes. Cadena recta o ramificada, ésteres de alquilo mono o dibásicos como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una combinación de cadena ramificada pueden usarse ésteres conocidos como Crodamol CAP, siendo los tres últimos ésteres preferidos. Estos pueden usarse solos o en combinación dependiendo de las propiedades requeridas. Alternativamente, se utilizan lípidos de alto punto de fusión tales como parafina blanda blanca y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

[0149] Las formulaciones farmacéuticas según la presente invención comprenden una combinación de acuerdo con la invención junto con uno o más vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros agentes terapéuticos. Las formulaciones farmacéuticas que contienen el ingrediente activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido. Cuando se usa para uso oral, por ejemplo, se pueden preparar tabletas, grageas, pastillas, suspensiones acuosas o oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires. Composiciones destinadas a uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes que incluyen agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes, para proporcionar una preparación palatable. Las tabletas que contienen el ingrediente activo mezclado con un excipiente no tóxico farmacéuticamente aceptable que son adecuadas para la fabricación de tabletas son aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio o sodio, lactosa, fosfato de calcio o sodio; agentes de granulación y desintegración, tales como almidón de maíz o ácido alginico; agentes aglutinantes, tales como almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden no estar recubiertas o pueden estar recubiertas por técnicas conocidas que incluyen microencapsulación para retrasar la desintegración y adsorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera.

[0150] Las formulaciones para uso oral también pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio de aceite, como aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

[0151] Las suspensiones acuosas de la invención contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen un agente de suspensión, como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábiga, y agentes dispersantes o humectantes como una fosfatida natural (p. ej., lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso (p. ej., estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (p. ej., heptadecaetilenoxietanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhidrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes tales como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

[0152] Las suspensiones de aceite se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden agregar agentes edulcorantes, como los establecidos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral agradable al paladar. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

[0153] Los polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión, y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados se ejemplifican por los descritos anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

[0154] Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, como el aceite de oliva o el aceite de arachis, un aceite mineral, como parafina líquida, o una mezcla de estos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas naturales, tales como goma arábiga y goma de tragacanto, fosfátidos que se producen naturalmente, tales como lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhidridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, como el monooleato de

polioxietilensorbitán. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, como glicerol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante, un saborizante o un agente colorante.

[0155] Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión acuosa o inyectable estéril oleaginosa. Esta suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como una solución en 1,3-butanodiol o preparada como un polvo liofilizado. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, los aceites fijos estériles se pueden emplear convencionalmente como solvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como el ácido oleico también pueden usarse en la preparación de inyectables.

[0156] La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con el material portador para producir una sola forma de dosificación variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Por ejemplo, una formulación de liberación prolongada destinada a la administración oral a humanos puede contener aproximadamente 1 a 1000 mg de material activo compuesto con una cantidad apropiada y conveniente de material portador que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% de las composiciones totales (peso:peso). La composición farmacéutica se puede preparar para proporcionar cantidades fácilmente medibles para la administración. Por ejemplo, una solución acuosa destinada a infusión intravenosa puede contener de aproximadamente 3 a 500 µg del ingrediente activo por mililitro de solución para que pueda producirse una infusión de un volumen adecuado a una velocidad de aproximadamente 30 ml/h.

[0157] Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo también incluyen gotas para los ojos en las que el ingrediente activo se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo está presente preferiblemente en tales formulaciones en una concentración de 0,5 a 20%, ventajosamente de 0,5 a 10%, y particularmente de aproximadamente 1,5% p/p.

[0158] Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base aromatizada, generalmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

[0159] Las formulaciones para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

[0160] Las formulaciones adecuadas para administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 a 500 micras, tal como 0,5, 1, 30, 35, etc., que se administra por inhalación rápida a través del paso nasal o por inhalación a través de la boca para alcanzar los sacos alveolares. Las formulaciones adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración de aerosol o polvo seco pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con otros agentes terapéuticos tales como compuestos utilizados hasta ahora en el tratamiento o profilaxis de infecciones por VHC como se describe a continuación.

[0161] Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen además del ingrediente activo los portadores que se conocen en la técnica como apropiados.

[0162] Las formulaciones adecuadas para administración parenteral incluyen soluciones de inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes.

[0163] Las formulaciones se presentan en recipientes de dosis unitaria o de múltiples dosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en una condición secada por congelación (liofilizada) que requiere sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones de inyección extemporánea se preparan a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles del tipo descrito anteriormente. Las formulaciones preferidas de dosificación unitaria son aquellas que contienen una dosis diaria o una subdosis unitaria diaria, como se menciona anteriormente en el presente documento, o una fracción apropiada de la misma, del ingrediente activo.

[0164] Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, aquellas adecuadas para administración oral pueden incluir aromatizantes

agentes.

[0165] La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se definió anteriormente junto con un vehículo veterinario para ello.

[0166] Los vehículos veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y pueden ser materiales sólidos, líquidos o gaseosos que son de otro modo inertes o aceptables en la técnica veterinaria y son compatibles con el ingrediente activo. Estas composiciones veterinarias pueden administrarse por vía oral, parenteral o por cualquier otra vía deseada.

[0167] Los compuestos de la invención se utilizan para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como ingrediente activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación controlada") en las que la liberación del ingrediente activo se controlan y regulan para permitir menos frecuencia de dosificación o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un ingrediente activo dado.

[0168] La dosis efectiva de ingrediente activo depende al menos de la naturaleza de la afección a tratar, la toxicidad, si el compuesto se está utilizando profilácticamente (dosis más bajas) o contra una infección viral activa, el método de entrega, y la formulación farmacéutica, y será determinado por el clínico utilizando estudios convencionales de aumento de dosis. Se puede esperar que sea de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día; típicamente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal por día; más típicamente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal por día; más típicamente, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal por día. Por ejemplo, la dosis candidata diaria para un humano adulto de aproximadamente 70 kg de peso corporal oscilará entre 1 mg y 1000 mg, preferiblemente entre 5 mg y 500 mg, y puede tomar la forma de dosis únicas o múltiples.

Vías de administración

[0169] Uno o más compuestos de la invención (denominados en la presente como los ingredientes activos) se administran por cualquier vía apropiada para la afección a tratar. Las vías adecuadas incluyen oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural) y similares. Se apreciará que la vía preferida puede variar con, por ejemplo, la condición del receptor. Una ventaja de los compuestos de esta invención es que son biodisponibles por vía oral y pueden dosificarse por vía oral.

Terapia de combinación

[0170] Las composiciones de la invención también se usan en combinación con otros ingredientes activos. Para el tratamiento de infecciones por el VHC, preferiblemente, los otros ingredientes o agentes terapéuticos activos son interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de la NS5a, inhibidores de la polimerasa NS5b, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, inhibidores de la ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otras drogas para tratar el VHC.

[0171] Las combinaciones de los compuestos de Fórmula I-V se seleccionan típicamente en función de la condición a tratar, las reactividades cruzadas de los ingredientes y las farmaco-propiedades de la combinación. Por ejemplo, cuando se trata una infección (p. ej., VHC), las composiciones de la invención se combinan con otros agentes terapéuticos activos (como los descritos aquí).

[0172] Agentes o ingredientes terapéuticos activos adecuados que se pueden combinar con los compuestos de Fórmula I-V se incluyen interferones, por ejemplo, rIFN-alfa 2b pegilado, rIFN-alfa 2a pegilado, rIFN-alfa 2b, IFN alfa-2b XL, rIFN alfa 2a, consenso IFN alfa, interferon, rebif, locteron, AVI-005, PEG-interferon, IFN-beta pegilado, interferon alfa oral, ferón, reaferón, intermax alfa, r-IFN-beta, interferon + actinmune, IFN-omega con DUROS y albuferon; análogos de ribavirina, por ejemplo, rebetol, copegus, VX-497 y viramidina (taribavirina); inhibidores de NS5a, por ejemplo, A-831, A-689 y BMS-790052; inhibidores de la polimerasa NS5b, por ejemplo, NM-283, valopicitabina, R1626, IDX184, PSI-7851, PSI-6130 (R1656), HCV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF- 868554, GSK625433 y XTL-2125; inhibidores de la proteasa NS3, por ejemplo, SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (Telaprevir), ITMN-191 y BILN-2065; inhibidores de alfa-glucosidasa 1, por ejemplo, MX-3253 (celgosivir) y UT-231B; hepatoprotectores, por ejemplo, IDN-6556, ME 3738, MitoQ y LB-84451; inhibidores no nucleósidos del VHC, por ejemplo, derivados de bencimidazol, derivados de benzo-1,2,4-tiadiazina y derivados de fenilalanina; y otros medicamentos para tratar el VHC, por ejemplo, zadaxina, nitazoxanida (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavixumab, oglufanida, PYN-17, KPE02003002, actilon (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975, XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacina, EHC-18 y NIM811.

[0173] En otra realización más, la presente solicitud da a conocer composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, y/o éster del mismo, en combinación con al menos un agente terapéutico adicional, y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0174] Según la presente invención, el agente terapéutico usado en combinación con el compuesto de la presente invención puede ser cualquier agente que tenga un efecto terapéutico cuando se usa en combinación con el compuesto de la presente invención. Por ejemplo, el agente terapéutico utilizado en combinación con el compuesto de la presente invención puede ser interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de la polimerasa NS5b, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, inhibidores de la ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores de nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otras drogas para tratar el VHC.

[0175] En otra realización, la presente solicitud proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención, o una sal, solvato y/o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en rIFN-alfa 2b pegilado, rIFN-alfa 2a pegilado, rIFN-alfa 2b, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, consenso IFN alfa, infergen, rebif, locteron, AVI-005, PEG-infergen, IFN-beta pegilado, interferón alfa oral, ferón, reaferón, alfa intermax, r-IFN-beta, infergen + actimmune, IFN-omega con DUROS, albuferón, rebetol, copegus, VX-497, viramidina (taribavirina), A-831, A-689, NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), IDX184, PSI-7851, HCV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, GSK625433, XTL-2125, SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (Telaprevir), ITMN-191 y BILN-2065, MX-3253 (celgosivir), UT-231B, IDN-6556, ME 3738, MitoQ, y LB-84451, derivados de bencimidazol, derivados de benzo-1,2,4-tiadiazina y derivados de fenilalanina, zadaxina, nitazoxanida (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavixumab, oglufanida, PYN-17, KPE02003002, actilon (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975, XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacina, EHC-18 y NIM811 y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

[0176] En otra realización más, la presente solicitud proporciona un agente farmacéutico combinado que comprende:

- a) una primera composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal, solvato o éster farmacéuticamente aceptable del mismo; y
- b) una segunda composición farmacéutica que comprende al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en compuestos inhibidores de proteasa del VIH, inhibidores de VIH no nucleosídicos de la transcriptasa inversa, inhibidores nucleosídicos de VIH de la transcriptasa inversa, los inhibidores de nucleótidos del VIH de la transcriptasa inversa, inhibidores de integrasa del VIH, inhibidores de gp41, inhibidores de CXCR4, inhibidores de gp120, inhibidores de CCR5, interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de alfa-glucosidasa 1, inhibidores de ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores de nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos de VHC y otras drogas para tratar el VHC y sus combinaciones.

[0177] Las combinaciones de los compuestos de Fórmula I-V y agentes terapéuticos activos adicionales se pueden seleccionar para tratar a pacientes infectados con VHC y otras afecciones, como infecciones por VIH. En consecuencia, los compuestos de Fórmula I-V pueden combinarse con uno o más compuestos útiles en el tratamiento del VIH, por ejemplo, compuestos inhibidores de la proteasa del VIH, inhibidores no nucleosídicos del VIH de la transcriptasa inversa, inhibidores nucleosídicos del VIH de la transcriptasa inversa, inhibidores nucleótidos del VIH de la transcriptasa inversa, inhibidores de la integrasa del VIH, inhibidores de gp41, inhibidores de CXCR4, inhibidores de gp120, inhibidores de CCR5, interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de alfa-glucosidasa 1, inhibidores de ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores de nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleosídicos del VHC y otras drogas para tratar el VHC.

[0178] Más específicamente, uno o más compuestos de la presente invención pueden combinarse con uno o más compuestos seleccionados del grupo que consiste en 1) inhibidores de la proteasa del VIH, por ejemplo, amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, ritonavir, lopinavir + ritonavir, nelfinavir, saquinavir, tipranavir, brecanavir, darunavir, TMC-126, TMC-114, mozenavir (DMP-450), JE-2147 (AG1776), AG1859, DG35, L-756423, RO0334649, KNI-272, DPC-681, DPC-684 y GW640385X, DG17, PPL-100, 2) un inhibidor no nucleosídico del VIH de la transcriptasa inversa, por ejemplo, capravirina, emivirina, delaviridina, efavirenz, nevirapina, (+) calanolida A, etravirina, GW5634, DPC-083, DPC-961, DPC-963, MIV-150 y TMC-120, TMC-278 (rilpivirina), efavirenz, BILR 355 BS, VRX 840773, UK-453,061, RDEA806, 3) un inhibidor de nucleosídicos del VIH de transcriptasa inversa, por ejemplo, zidovudina, emtricitabina, didanosina, estavudina, zalcitabina, lamivudina, abacavir, amdoxovir, elvicitabina, alovudina, MIV-210, racivir (6-FTC), D-d4FC, emtricitabina, fosfazida, fozivudina tidoxil, fosalvudina tidoxil, apricitabina (AVX754), amdoxovir, KP-1461, abacavir + lamivudina, abacavir + lamivudina + zidovudina, zidovudina + lamivudina, inhibidor de la transcripción de un inhibidor de VIH; tenofovir disoproxil fumarato + emtricitabina, tenofovir disoproxil fumarato + emtricitabina + efavirenz y adefovir, 5) un inhibidor de la integrasa del VIH, p. ej., curcumina, derivados de la curcumina, ácido chicórico, derivados del ácido chicórico, ácido 3,5-dicafeoilquinico, derivados de ácido 3,5-dicafeoilquinico, ácido aurintricarboxílico, derivados del ácido aurintricarboxílico, éster fenético del ácido cafeico, derivados del éster fenético del ácido cafeico, tirfostina, derivados de la tirfostina, quercetina, derivados de la quercetina, S-1360, zintevir (AR-177), L-870812 y L-870810, MK-0518 (raltegravir), BMS-707035, MK-2048, BA-011, BMS- 538158, GSK364735C, 6) un inhibidor de gp41, por ejemplo, enfuvirtida, sifuvirtida, FB006M, TRI-1144, SPC3, DES6, Locus gp41, CovX y REP 9, 7) un inhibidor de CXCR4, por ejemplo, AMD-070, 8) un inhibidor de entrada, por ejemplo, SP01A, TNX-355, 9) un inhibidor de gp120, por ejemplo, BMS-488043 y BlockAide/CR, 10) un inhibidor de G6PD y NADH-oxidasa, por ejemplo, inmunitina, 10) un inhibidor de CCR5, por ejemplo, aplavivroc, vicrivivroc,

INCB9471, PRO-140, INCB15050, PF-232798, CCR5mAb004, y maraviroc, 11) un interferón, por ejemplo, rIFN-alfa 2b pegilado, rIFN-alfa 2a pegilado, rIFN-alfa 2b, IFN alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, consenso IFN alfa, infergen, rebif, locteron, AVI-005, PEG-infergen, IFN-beta pegilado, interferón alfa oral, ferón, reaferón, intermax alfa, r-IFN-beta, infergen + actinmune, IFN-omega con DUROS y albuferón, 12) análogos de ribavirina, por ejemplo, rebetol, copegus, VX-497 y viramidina (taribavirina) 13) inhibidores de NS5a, por ejemplo, A-831, A-689 y BMS-790052, 14) inhibidores de la polimerasa NS5b, por ejemplo, NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), IDX184, PSI-7851, HCV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, GSK625433 y XTL-2125, 15) inhibidores de la proteasa NS3, p. ej., SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (Telaprevir), ITMN-191 y BILN-2065, 16) inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, p. ej., MX-3253 (celgosivir) y UT-231B, 17) hepatoprotectores, por ejemplo, IDN-6556, ME 3738, MitoQ y LB-84451, 18) inhibidores no nucleósidos del VHC, por ejemplo, derivados de bencimidazol, derivados de benzo-1,2,4-tiadiazina, y derivados de fenilalanina, 19) otros medicamentos para tratar el VHC, por ejemplo, zadaxina, nitazoxanida (alinea), BIVN-401 (virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanida, PYN-17, KPE02003002, actilon (CPG-10101), KRN-7000, civacir, GI-5005, ANA-975, XTL-6865, ANA 971, NOV-205, tarvacina, EHC-18 y NIM811, 19) potenciadores farmacocinéticos, por ejemplo, BAS-100 y SPI452, 20) inhibidores de la ARNasa H, por ejemplo, ODN-93 y ODN-112, 21) otros agentes anti-VIH, por ejemplo, VGV-1, PA-457 (bevirimat), ampligeno, HRG214, citolina, polimun, VGX-410, KD247, AMZ 0026, CYT 99007, A-221 HIV, BAY 50-4798, MDX010 (iplimumab), PBS119, ALG889 y PA-1050040.

[0179] Para el tratamiento de infecciones por virus *Paramyxoviridae*, preferiblemente, el otro agente terapéutico activo es activo contra infecciones por virus *Paramyxoviridae*, particularmente infecciones por virus sincitial respiratorio y/o infecciones por virus parainfluenza. Ejemplos no limitantes de estos otros agentes terapéuticos activos son ribavirina y/o palivizumab.

[0180] Para el tratamiento de las infecciones por el virus *Orthomyxoviridae*, preferiblemente, el otro agente terapéutico activo es activo contra las infecciones por el virus *Orthomyxoviridae*, particularmente las infecciones por el virus de la influenza. Ejemplos no limitantes de estos otros agentes terapéuticos activos son los inhibidores virales de neuramidasa y/o los inhibidores virales del canal M2. Ejemplos no limitantes de inhibidores de neuramidasa incluyen oseltamivir, zanamivir, laninamivir y peramivir. Ejemplos no limitantes de inhibidores virales del canal M2 incluyen amantadina y rimantadina.

[0181] Para el tratamiento de las infecciones por el virus *Picornaviridae*, preferiblemente, el otro agente terapéutico activo es activo contra las infecciones por el virus *Picornaviridae*, particularmente las infecciones por enterovirus. Ejemplos no limitantes de estos otros agentes terapéuticos activos son los inhibidores de unión a la cápside, tales como pleconaril, BTA-798 y otros compuestos descritos por Wu, et al. (US 7,078,403) y Watson (US 7,166,604).

[0182] Muchas de las infecciones de los virus *Paramyxoviridae*, *Orthomyxoviridae* y *Picornaviridae* son infecciones respiratorias. Por lo tanto, se pueden usar terapias activas adicionales para tratar síntomas respiratorios y secuelas de infección en combinación con los compuestos de Fórmula I-V. Por ejemplo, otros agentes terapéuticos adicionales preferidos en combinación con los compuestos de Fórmula I-V para el tratamiento de infecciones respiratorias virales incluyen, pero no se limitan a broncodilatadores y corticosteroides. Los glucocorticoides, que se introdujeron por primera vez como una terapia para el asma en 1950 (Carrier, Journal of Allergy, 21, 282-287, 1950), siguen siendo la terapia más potente y consistentemente efectiva para esta enfermedad, aunque su mecanismo de acción aún no se comprende completamente (Morris, J. Allergy Clin. Immunol., 75 (1 Pt) 1-13, 1985). Desafortunadamente, las terapias de glucocorticoides orales están asociadas con profundos efectos secundarios indeseables, como obesidad troncal, hipertensión, glaucoma, intolerancia a la glucosa, aceleración de la formación de cataratas, pérdida mineral ósea y efectos psicológicos, todo lo cual limita su uso como agentes terapéuticos a largo plazo. (Goodman y Gilman, 10ª edición, 2001). Una solución a los efectos secundarios sistémicos es administrar medicamentos esteroides directamente al sitio de la inflamación. Los corticosteroides inhalados (SCI) se han desarrollado para mitigar los efectos adversos graves de los esteroides orales. Ejemplos no limitantes de corticosteroides que pueden usarse en combinaciones con los compuestos de Fórmula I-V son dexametasona, fosfato sódico de dexametasona, fluorometolona, acetato de fluorometolona, loteprednol, loteprednol etabonato, hidrocortisona, prednisolona, fludrocortisonas, triamcinolona, triamcinolonas acetona, betametasona, acetona, betametasona, acetona, betametasona, acetona, metilprednisolona, fluocinolona, acetona de fluocinolona, flunisolida, fluortina-21-butilato, flumetasona, pivalato de flumetasona, budesonida, propionato de halobetasol, furoato de mometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0183] Otros agentes antiinflamatorios que funcionan a través de mecanismos antiinflamatorios en cascada también son útiles como agentes terapéuticos adicionales en combinación con los compuestos de Fórmula I-V para el tratamiento de infecciones respiratorias virales. Aplicando "moduladores de la transducción de señales antiinflamatorias" (en este texto denominado AISTM), como inhibidores de la fosfodiesterasa (p. ej., PDE-4, PDE-5 o PDE-7 específicos), inhibidores del factor de transcripción (p. ej., bloqueo de NF- κ B a través de la inhibición de IKK), o inhibidores de la quinasa (p. ej., el bloqueo de P38 MAP, JNK, PI3K, EGFR o Syk) es un enfoque lógico para desactivar la inflamación ya que estas pequeñas moléculas se dirigen a un número limitado de vías intracelulares comunes: esas vías de transducción de señales que son puntos críticos para la intervención terapéutica antiinflamatoria (ver revisión de PJ Barnes, 2006). Estos agentes terapéuticos adicionales no limitantes incluyen: 5-(2,4-difluoro-fenoxi)-1-isobutil-1H-indazol-6-ácido carboxílico (2-dimetilamino-etil)-amida (inhibidor de la mapa quinasa P38 ARRY-797); 3-

ciclopropilmetoxi-N-(3,5-dicloro-piridin-4-il)-4-difluorometoxi-benzamida (inhibidor de PDE-4 Roflumilast); 4-[2-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-fenil-etil]-piridina (inhibidor de PDE-4 CDP-840); N-(3,5-dicloro-4-piridinil)-4-(difluorometoxi)-8-[(metilsulfonil)amino]-1-dibenzofurancarboxamida (inhibidor de PDE-4 Oglemilast); N-(3,5-dicloro-piridin-4-il)-2-[1-(4-fluorobencil)-5-hidroxi-1H-indol-3-il]-2-oxo-acetamida (inhibidor PDE-4 AWD 12-281); 8-metoxi-2-trifluorometil-quinolin-5-ácido carboxílico (3,5-dicloro-1-oxi-piridin-4-il)-amida (inhibidor de PDE-4 Sch 351591); 4-[5-(4-fluorofenil)-2-(4-metanosulfonil-fenil)-1H-imidazol-4-il]-piridina (inhibidor de P38 SB-203850); 4-[4-(4-Fluoro-fenil)-1-(3-fenil-propil)-5-piridin-4-il-1H-imidazol-2-il]-but-3-in-1-ol (Inhibidor de P38 RWJ-67657); 4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi-fenil)-ácido ciclohexanocarboxílico 2-dietilamino-etil éster (profármaco 2-dietil-etil éster de Cilomilast, inhibidor de PDE-4); (3-cloro-4-fluorofenil)-[7-metoxi-6-(3-morfolin-4-il-propoxi)-quinazolin-4-il]-amina (Gefitinib, inhibidor de EGFR); y 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida (Imatinib, EGFR inhibidor)

[0184] Las combinaciones que comprenden broncodilatadores agonistas de β 2-adrenoreceptor inhalados tales como formoterol, albuterol o salmeterol con los compuestos de Fórmula I-V también son combinaciones adecuadas, pero no limitantes, útiles para el tratamiento de infecciones virales respiratorias.

[0185] Las combinaciones de broncodilatadores agonistas de β 2-adrenoreceptor inhalados tales como formoterol o salmeterol con ICS también se usan para tratar tanto la broncoconstricción como la inflamación (Symbicort® y Advair®, respectivamente). Las combinaciones que comprenden estas combinaciones de ICS y agonista de los receptores β 2-adrenérgicos junto con los compuestos de Fórmula I-V también son combinaciones adecuadas, pero no limitantes, útiles para el tratamiento de infecciones virales respiratorias.

[0186] Para el tratamiento o la profilaxis de la broncoconstricción pulmonar, los anticolinérgicos son de uso potencial y, por lo tanto, útiles como agentes terapéuticos adicionales en combinación con los compuestos de Fórmula I-V para el tratamiento de infecciones respiratorias virales. Estos anticolinérgicos incluyen, entre otros, antagonistas del receptor muscarínico (particularmente del subtipo M3) que han demostrado eficacia terapéutica en el hombre para el control del tono colinérgico en la EPOC (Witek, 1999); 1-{4-hidroxi-1-[3,3,3-tris-(4-fluoro-fenil)-propionil]-pirrolidina-2-carbonil}-pirrolidina-2-ácido carboxílico (1-metil-piperidin-4-ilmetil)-amida; 3-[3-(2-dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-8-isopropil-8-metil-8-azonia-biciclo[3,2,1]octano (ipratropio-N,N-dietilglicinato); 1-ciclohexil-3,4-dihidro-1H-isoquinolin-2-ácido carboxílico 1-azabicyclo[2,2,2]oct-3-il éster (revatropato); 2-{1-[2-(2,3-dihidrobenzofuran-5-il)-etil]-pirrolidin-3-il}-2,2-difenil-acetamida (darifenacina); 4-azepan-1-il-2,2-difenil-butiramida (buzepida); 7-[3-(2-dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-9-etil-9-metil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3,3,1,02,4]nonano (Oxitropio-N,N-dietilglicinato); 7-[2-(2-dietilamino-acetoxi)-2,2-di-tiofen-2-il-acetoxi]-9,9-dimetil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3,3,1,02,4]nonano (tiotropio-N,N-dietilglicinato); ácido dimetilaminoacético 2-(3-diisopropilamino-1-fenil-propil)-4-metil-fenil éster (Tolterodina-N,N-dimetilglicinato); 3-[4,4-Bis-(4-fluoro-fenil)-2-oxo-imidazolidin-1-il]-1-metil-1-(2-oxo-2-piridin-2-il-etil)-pirrolidinio; 1-[1-(3-fluoro-bencil)-piperidin-4-il]-4,4-bis-(4-fluoro-fenil)-imidazolidin-2-ona; -Ciclooctil-3-(3-metoxi-1-azabicyclo[2,2,2]oct-3-il)-1-fenil-prop-2-in-1-ol; 3-[2-(2-Dietilamino-acetoxi)-2,2-ditiofen-2-il-acetoxi]-1-(3-fenoxi-propil)-1-azonia-biciclo[2,2,2]octano (Aclidinio-N,N-dietilglicinato); o (2-Dietilamino-acetoxi)-di-tiofen-2-il-ácido acético 1-metil-1-(2-fenoxi-etil)-piperidin-4-il éster.

[0187] Los compuestos de Fórmula I-V también se pueden combinar con agentes mucolíticos para tratar tanto la infección y los síntomas de las infecciones respiratorias. Un ejemplo no limitante de un agente mucolítico es el ambroxol. Del mismo modo, los compuestos de Fórmula I-V pueden combinarse con expectorantes para tratar tanto la infección como los síntomas de las infecciones respiratorias. Un ejemplo no limitativo de un expectorante es la guaifenesina.

[0188] También es posible combinar cualquier compuesto de la invención con uno o más de otros agentes terapéuticos activos en una forma de dosificación unitaria para administración simultánea o secuencial a un paciente. La terapia combinada puede administrarse como un régimen simultáneo o secuencial. Cuando se administra secuencialmente, la combinación puede administrarse en dos o más administraciones.

[0189] La administración conjunta de un compuesto de la invención con uno o más de otros agentes terapéuticos activos generalmente se refiere a la administración simultánea o secuencial de un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos activos, de modo que cantidades terapéuticamente eficaces del compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos activos están presentes en el cuerpo del paciente.

[0190] La administración conjunta incluye la administración de dosis unitarias de los compuestos de la invención antes o después de la administración de dosis unitarias de uno o más de otros agentes terapéuticos activos, por ejemplo, la administración de los compuestos de la invención en segundos, minutos, u horas de la administración de uno o más agentes terapéuticos activos adicionales. Por ejemplo, una dosis unitaria de un compuesto de la invención se puede administrar primero, seguido en segundos o minutos por la administración de una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos. Alternativamente, se puede administrar primero una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos, seguido de la administración de una dosis unitaria de un compuesto de la invención en segundos o minutos. En algunos casos, puede ser deseable administrar primero una dosis unitaria de un compuesto de la

invención, seguido, después de un período de horas (por ejemplo, 1-12 horas), por la administración de una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos. En otros casos, puede ser deseable administrar una dosis unitaria de uno o más agentes terapéuticos activos primero, seguido, después de un período de horas (por ejemplo, 1-12 horas), por la administración de una dosis unitaria de un compuesto de la invención.

[0191] La terapia de combinación puede proporcionar "sinergia" y "sinérgico", es decir, el efecto logrado cuando los ingredientes activos usados juntos es mayor que la suma de los efectos que resultan del uso de los compuestos por separado. Se puede lograr un efecto sinérgico cuando los ingredientes activos son: (1) co-formulados y administrados o administrados simultáneamente en una formulación combinada; (2) entregados por alternancia o en paralelo como formulaciones separadas; o (3) por algún otro régimen. Cuando se administra en terapia de alternancia, se puede lograr un efecto sinérgico cuando los compuestos se administran o entregan secuencialmente, por ejemplo, en tabletas, píldoras o cápsulas separadas, o mediante diferentes inyecciones en jeringas separadas. En general, durante la terapia de alternancia, una dosis efectiva de cada ingrediente activo se administra secuencialmente, es decir, en serie, mientras que en la terapia de combinación, las dosis efectivas de dos o más ingredientes activos se administran juntas. Un efecto antivírico sinérgico denota un efecto antiviral que es mayor que los efectos puramente aditivos predichos de los compuestos individuales de la combinación.

[0192] En otra realización más, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir la polimerasa de VHC en una célula, que comprende: poner en contacto una célula infectada con VHC con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o un solvato de sal farmacéuticamente aceptable, y/o éster del mismo, por lo que se inhibe la polimerasa del VHC.

[0193] En otra realización más, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir la polimerasa de VHC en una célula, que comprende: poner en contacto una célula infectada con VHC con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o un solvato de sal farmacéuticamente aceptable, y/o éster del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional, mediante el cual se inhibe la polimerasa de VHC.

[0194] En todavía otra realización, la presente solicitud proporciona métodos para inhibir la polimerasa del VHC en una célula, que comprende: poner en contacto una célula infectada con HCV con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, y/o éster del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de alfa-glucosidasa 1, inhibidores de ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores de nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otras drogas para tratar el VHC.

[0195] En otra realización más, la presente solicitud proporciona métodos para tratar el VHC en un paciente, que comprende: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o una sal, solvato farmacéuticamente aceptable y/o éster del mismo.

[0196] En otra realización más, la presente solicitud proporciona métodos para tratar el VHC en un paciente, que comprende: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o una sal, solvato farmacéuticamente aceptable y/o éster del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional, mediante el cual se inhibe la polimerasa del VHC.

[0197] En otra realización más, la presente solicitud proporciona métodos para tratar el VHC en un paciente, que comprende: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I-V, o una sal, solvato farmacéuticamente aceptable y/o éster del mismo, y al menos un agente terapéutico activo adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de alfa-glucosidasa 1, inhibidores de ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otros medicamentos para tratar el VHC.

[0198] En todavía otra realización más, la presente solicitud proporciona el uso de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, y/o éster del mismo, para la preparación de un medicamento para tratar una infección por VHC en un paciente.

Ejemplos

[0199] Se usan ciertas abreviaturas y siglas para describir los detalles experimentales. Aunque la mayoría de estos se entenderían por un experto en la materia, la Tabla 3 contiene una lista de muchas de estas abreviaturas y acrónimos.

Tabla 3. Lista de abreviaturas y acrónimos.

	Abreviatura	Significado
	Ac ₂ O	Anhídrido acético
	ACN	Acetonitrilo
5	AcOH o HOAc	Ácido acético
	AIBN	2,2'-azobis(2-metilpropionitrilo)
	Ar	Arilo
	Bn	Bencilo
10	bs o br s	Singlete ancho
	Bu	Butilo
	Bz	Benzoílo
	cm	Centímetros
	conc.	Concentración
	d	Doblete
15	DABCO	1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano
	DBN	1,5-diazabicyclo[4,3,0]non-5-eno
	DBU	1,5-diazabicyclo[5,4,0]undec-5-eno
	DCC	diciclohexilcarbodiimida
20	DCE	dicloroetano
	DCM	diclorometano
	dd	doblete de dobletes
	ddd	doblete de dobletes de dobletes
	DMAP	4-dimetilaminopiridina
	DMEM	medio de Eagle modificado de Dulbecco
25	DMF	dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	dt	doble triplete
	DTT	ditiotreitól
30	EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
	equiv.	equivalentes
	Et	etilo
	EtOAc	acetato de etilo
	FBS	suero bovino fetal
35	g	gramo
	h o hr	hora
	Hex	hexano o hexanos
	HPLC	cromatografía líquida de alta presión
	IBX	ácido 2-iodoxibenzoico
	IPA	alcohol isopropílico
40	kg	kilogramo
	LC/MS	cromatografía líquida/espectrometría de masas
	m	metro
	m/z o m/e	relación masa a carga
45	MDCK	células de riñón de canino de Madin-Darby
	Me	metilo
	MeCN	acetonitrilo
	MeOH	metanol
	mg	miligramo
50	MH ⁻	masa menos 1
	MH ⁺	masa más 1
	MHz	megahertz
	min	minuto
	mL	mililitro
	mmol	milimol
55	MS o ms	espectro de masas
	Ms-Cl	cloruro de sulfonilo de metano

(continúa)

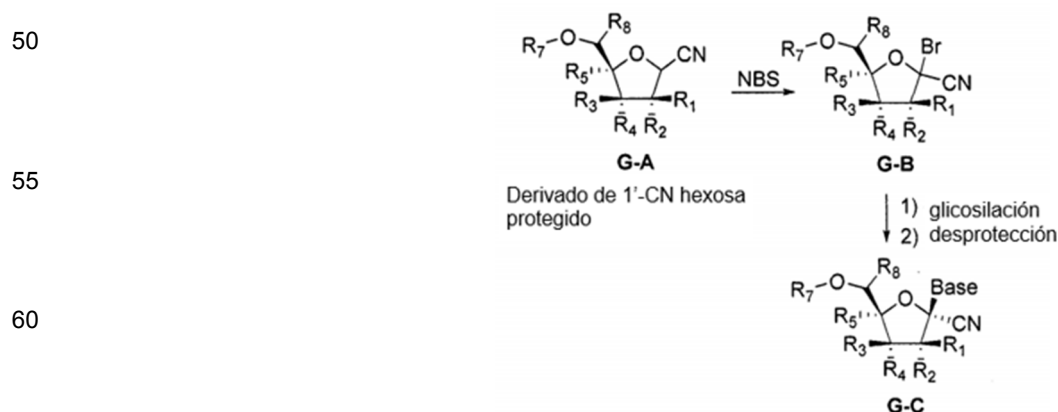
	Abreviatura	Significado	
	N	normal	
	NBS	N-bromosuccinimida	
5	NMP	N-metilpirrolidinona	
	RMN	resonancia magnética nuclear	
	PBS	solución salina tamponada de fosfato	
	PEG	polietilenglicol	
	Ph	fenilo	
10	ppm	partes por millón	
	Pyr o Py	piridina	
	q	cuarteto	
	RP	fase inversa	
15	RPML	Roswell Park Memorial Institute	
	ta o t.a. o TA	temperatura ambiente	
	s	singlete	
	sat.	saturado	
	t	triplete	
20	TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio	
	TBDMS	terc-butildimetilsililo	
	TEA	triethylamina	
	TES	triethylsilano	
	Tf	trifluorometanosulfonato	
25	TFA	ácido trifluoroacético	
	THF	tetrahidrofurano	
	TIPDS-Cl	1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropilo	
	TLC o tlc	cromatografía en capa fina	
	TMS	trimethylsilano	
30	TMSOTf	(trimethylsilyl)trifluoromethylsulfonato	
	Tr	trifenylnitro o tritilo	
	XTT	{2,3-bis(2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil)-5-[(fenilamino)carbonil]-2H-hidróxido	de
	δ	tetrazolio}	

35 Preparación de compuestos

Método general para la preparación de nucleósidos sustituidos con 1'-CN

40 [0200] El nucleósido sustituido con 1'-CN (Compuesto GC) puede prepararse siguiendo un método similar al descrito en Tetrahedron Letters, 1993, 8579. En consecuencia, 1'-bromo-1'-ciano hexosa protegida adecuadamente (**Compuesto G-B**), que se obtiene de una reacción de la 1'-ciano hexosa correspondiente (**Compuesto G-A**) con un agente bromante como NBS, se acopla a una base de pirimidina sililada con o sin un ácido de Lewis como tetracloruro de tino, mercurio cianuro o triflato de plata. El producto acoplado se desprotege luego para obtener un nucleósido sustituido con 1'-CN (**Compuesto G-C**, Esquema 1). Las referencias para la preparación de cada **Compuesto G-A** individual se citan en la sección de Ejemplos a continuación.

Esquema 1

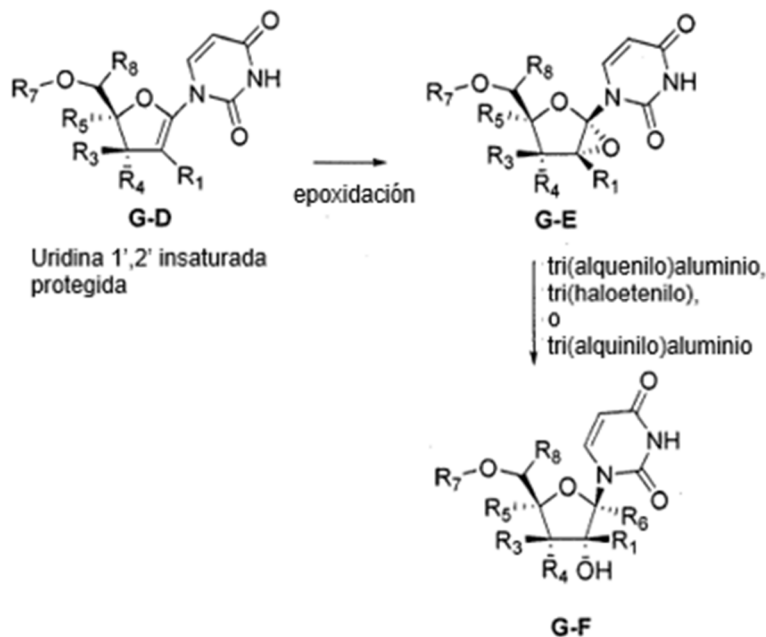


65 Método general para nucleósidos sustituidos con 1'-alquénilo, 1'-haloetenilo o 1'-alquínulo

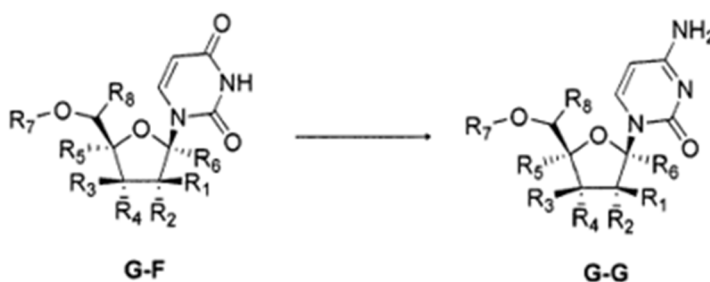
la preparación de

[0201] El nucleósido sustituido por 1'-alquenilo, 1'-haloetenilo, o 1'-alquinilo se puede preparar siguiendo un método similar al descrito en el Journal of Organic Chemistry, 2004, 1831. En consecuencia, un nucleósido de uridina insaturado de 1',2' apropiadamente protegido (**Compuesto G-D**) se convierte en el epóxido 1',2' (**Compuesto G-E**), que se hace reaccionar con un tri(alquenil), tri(haloetenil) o tri(alquinil)aluminio apropiado para proporcionar un nucleósido de uridina sustituido por 1'-alquenilo, 1'-haloetenilo o alquinilo (**Compuesto G-F**) (Esquema 2A). El análogo de uridina se puede convertir en el correspondiente análogo de citidina (**Compuesto G-G**) siguiendo métodos generales bien establecidos en la práctica de la química de nucleósidos, algunos de los cuales se describen procedimientos detallados en la sección de Ejemplos a continuación (Esquema 2B).

Esquema 2A

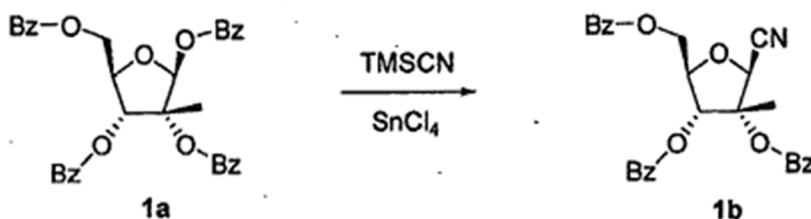


Esquema 2B

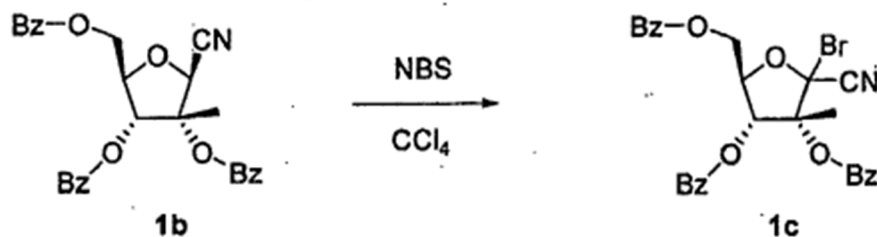


Preparación de compuestos ejemplares

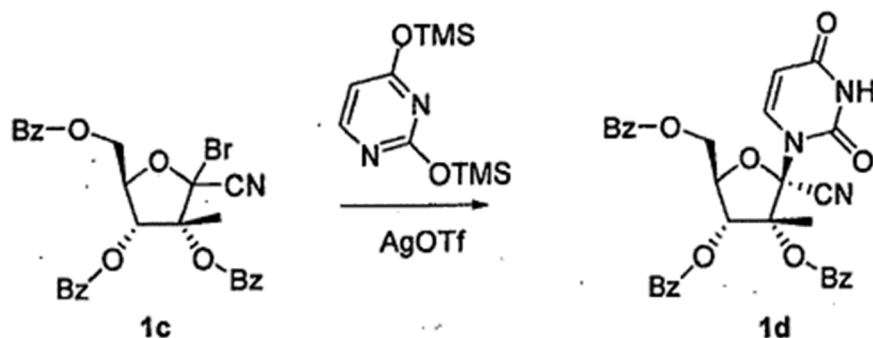
[0202] Los compuestos 1-6, 12-17, 23-31, 34, 35 y 39-42 a continuación no forman parte de la presente invención.
Compuesto 1



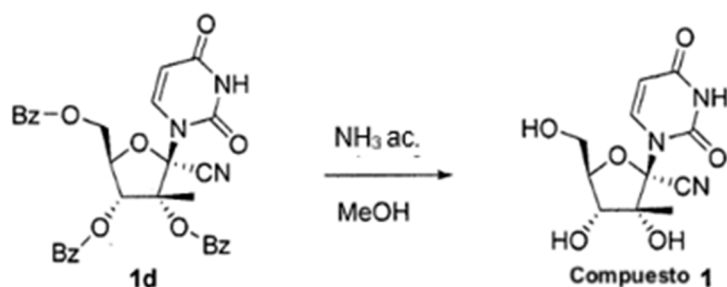
[0203] El **Compuesto 1a** (preparado según J. Organic Chemistry, 1968, 2490) se sometió a las condiciones de reacción similares a las descritas en WO200512308, proporcionando el **Compuesto 1b** (Rendimiento; 74%). Punto de fusión; 101-103°C.



[0204] El **Compuesto 1b** se sometió a las condiciones de reacción similares a las descritas en Tetrahedron Letters, 1993, 8579, proporcionando el **Compuesto 1c**. Punto de fusión; 44-49°C.

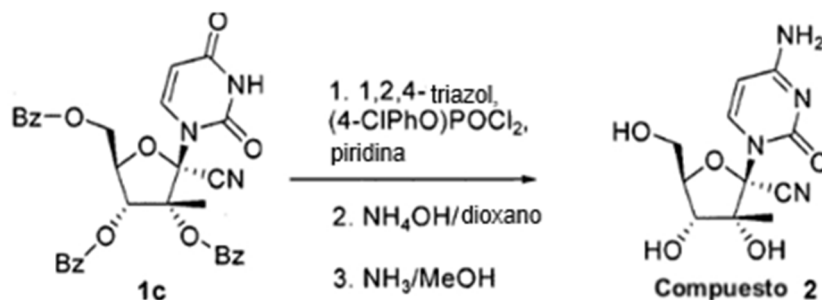


[0205] El **Compuesto 1c** (300 mg, 0,53 mmol) se colocó en un vial de microondas bajo argón y se disolvió con una mezcla 1:1 de dicloroetano anhidro y acetonitrilo (12 ml). Se añadió 2,6-Lutidina (0,3 ml, 2,6 mmol), seguido de 0,3 ml de uracilo bis-TMS. Luego, se añadieron 300 mg (1,17 mmol) de Ag (OTf) y la mezcla se selló y se calentó a 150°C durante 30 minutos mediante el uso de un reactor de microondas. Después de este tiempo, la reacción se juzgó completa por análisis LC/MS. La reacción se filtró y el filtrado se diluyó con 300 ml de DCM. La capa orgánica se lavó con 300 ml de solución saturada de bicarbonato de sodio, luego 2x 300 ml de H₂O, y luego con 300 ml de solución saturada. solución de salmuera. La fase orgánica se secó por paso a través de un filtro de membrana hidrófoba y los volátiles se eliminaron para dar 330 mg de producto bruto. La cromatografía usando una columna de sílice de 40 g y un gradiente de hexanos/EtOAc 7:3 a EtOAc al 100% dio 90 mg 1d (rendimiento del 28%) como un isómero único. ¹H-RMN (400 MHz, CD₃CN): δ 9,30 (bs, 1H), 8,15 (m, 1H), 8,08 (m, 2H), 7,78 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,65 (m, 2H), 7,58 (m, 4H), 7,25 (m, 2H), 5,92 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 5,72 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,98 (m, 1H), 4,87 (m, 2H), 1,68 (s, 3H). MS = 596 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 2,48 min.



[0206] A una solución del **Compuesto 1d** (40 mg, 0,07 mmol) en MeOH (1 ml) a temperatura ambiente se añadieron 2 ml de conc. ac. amoníaco. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. El análisis LC/MS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró hasta un residuo y el producto bruto, 40 mg, se disolvió en agua y se purificó mediante HPLC de fase reverenciada. La concentración de las fracciones del producto proporcionó 14 mg (74% de rendimiento) del producto tris-debenzoilado **Compuesto 1**. ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,91 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,78 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,15 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,67 (m, 1H), 1,18 (s, 3H). MS = 282 (M - H⁺) Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 0,52 min.

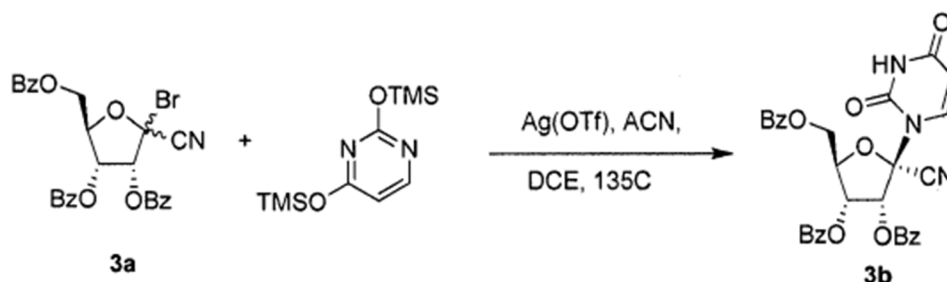
Compuesto 2



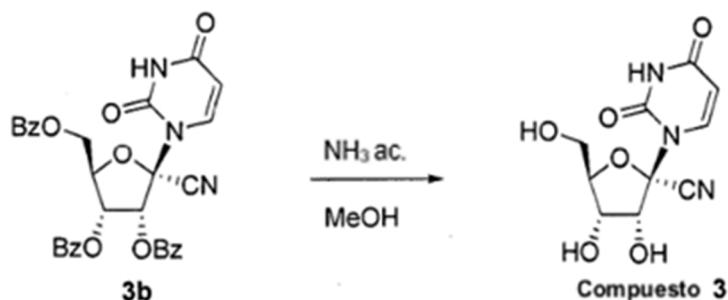
[0207] A una solución del **Compuesto 1c** (250 mg, 0,4 mmol) en piridina (8 ml) a 0°C se le añadieron 0,5 g (2 mmol, 5 equiv.) De 4-Cl-fenilfosforodichloridato, seguido de 350 mg (5 mmol, 12,5 equiv) 1,2,4-triazol. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 h adicionales. El análisis LC/MS indicó que la reacción se había completado. La reacción se concentró a un residuo, se disolvió en 100 ml de DCM, se lavó con 2x50 ml de agua, 50 ml 50% saturada de NaHCO₃ acuoso. solución, seguido de secado y concentración para dar 340 mg del producto intermedio bruto.

[0208] 175 mg del residuo en bruto se recogió en 10 ml de una mezcla 1:3 de HCl conc. ac. NH₄OH y dioxano. La reacción se agitó durante 5 h, momento en el cual se eliminó el disolvente y el residuo se formó un azeótropo con tolueno para dar 160 mg de producto intermedio. En este momento, se añadieron 10 ml de 7N NH₃ en metanol y la solución resultante se agitó durante 18 h. LC/MS mostró que la reacción se había completado, y el material resultante se purificó mediante HPLC de fase inversa. La concentración de las fracciones del producto proporcionó 23 mg (28% de rendimiento global) del producto tris-benzoilado **Compuesto 2**. ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,74 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,84 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,20 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,68 (m, 1H), 3,62 (m, 1H), 1,08 (s, 3H). MS = 281 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 0,37 min.

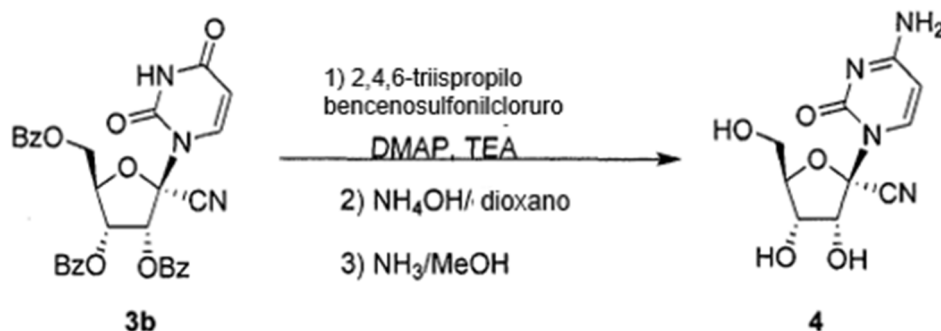
Compuesto 3



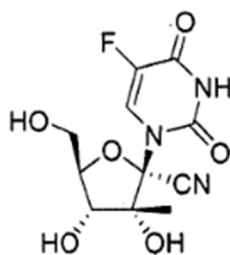
[0209] El **Compuesto 3a** (preparado de acuerdo con Tetrahedron Letters, 1993, 8579; 16,4 g, 30 mmol) se disolvió en 75 ml de cada DCE y ACN en un recipiente de alta presión de 400 ml. A esto se le añadió uracilo Bis (TMS) (12 g, 47 mmol) como sólido y finalmente se añadió Ag (OTf) (11g, 43 mmol). La reacción se selló y se calentó a 135°C durante 90 minutos. La mezcla de reacción se enfrió luego a ta y se filtró AgBr precipitado. Luego se eliminaron los disolventes al vacío y el residuo resultante se redisolvió en EtOAc y aq. NaHCO₃. La mezcla resultante se extrajo 3x con EtOAc, luego los orgánicos se lavaron con agua (1x), ac. bicarbonato de sodio (2x), agua (2x) y salmuera (1x) antes de secar sobre sulfato de sodio. La solución se filtró y se evaporó hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice con Hex: EtOAc para proporcionar 3b (12,8 g; rendimiento del 74%). MS [M + H⁺] = 581,9. ¹H RMN: (400 MHz, CD₃OD) δ 8,15 (1H, d, J = 8,4 Hz), 5,68 (1H, d, J = 8,4 Hz), 4,52 (1H, d), 4,26 (1H, m), 4,06 (1H, dd), 3,97 (1H, dd, J = 12,8, 2,0 Hz), 3,73 (1H, dd, J = 12,8, 2,0 Hz). MS [M - H⁺] = 268,0.



[0210] El **Compuesto 3b** se convirtió en el **Compuesto 3** de una manera similar a la preparación del **Compuesto 1**.

Compuesto 4

[0211] A una solución de agitación del **Compuesto 3b** (2 g, 3,44 mmol) en ACN (100 ml) se añadió TEA (0,96 ml, 6,88 mmol) y luego cloruro de 2,4,6 triisopropilbencenosulfonilo (2,08 g, 6,88 mmol). Por último, se añadió DMAP (840 mg, 6,88 mmol) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente bajo argón durante la noche. Al día siguiente, se determinó que la reacción se completaba por LCMS y los disolventes se eliminaron a presión reducida. El crudo fue luego aminado seguido de desbenzoilado, siguiendo el procedimiento descrito en la preparación del **Compuesto 2**. El producto bruto resultante se disolvió en agua y se purificó por HPLC preparativa para dar el **Compuesto 4** (330 mg, 36% de rendimiento). MS $[M - H^+] = 267,0$. ^1H RMN: (400 MHz, D_2O) δ 7,84 (1H, d, $J = 7,6$ Hz), 5,91 (1H, d, $J = 7,6$ Hz), 4,44 (1H, d), 4,26 (1H, m), 3,96 (1H, dd), 3,88 (1H, dd, $J = 12,8, 2,0$ Hz), 3,67 (1H, dd, $J = 12,8, 2,0$ Hz). MS $[M - H^+] = 267,0$.

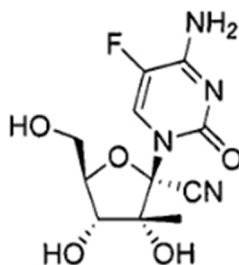
Compuesto 5**Compuesto 5**

[0212] El **Compuesto 5** se preparó en una materia similar a la del **Compuesto 3** sustituyendo el uracilo bis (TMS) 5-F por el uracilo bis(TMS) 5-no sustituido.

^1H RMN: (400 MHz, D_2O) δ 8,16 (1H, d, $J = 7,2$ Hz), 4,15 (1H, m), 3,95 (1H, dd, $J = 12,8, 2,4$ Hz), 3,73 (1H, dd, $J = 12,8, 2,4$ Hz), 3,69 (1H, d, $J = 8,8$ Hz), 1,19 (3H, s).

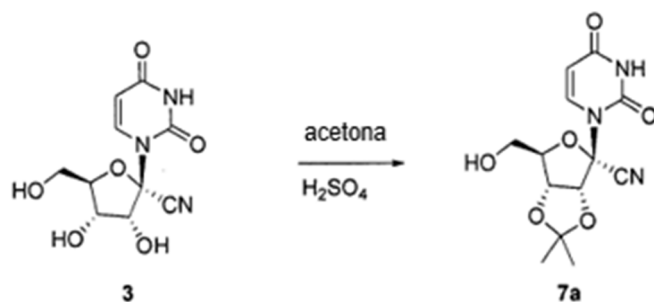
^{19}F RMN: (376 MHz, D_2O) δ -165,4 ppm.

LC/MS: m/z (M - H) $^- = 300$, $t_r = 0,67$ min en un método de HPLC C18 de 3,5 min.

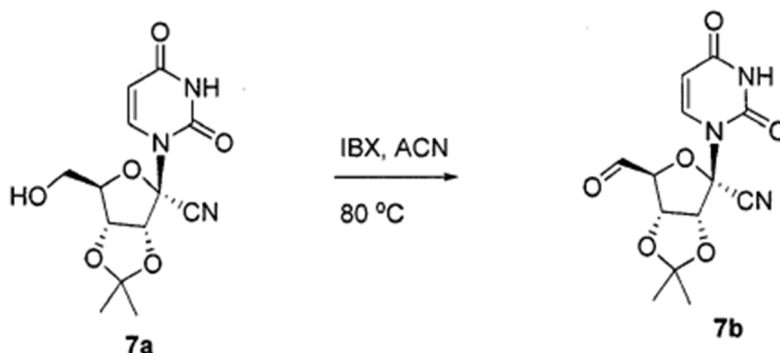
Compuesto 6**Compuesto 6**

[0213] El **Compuesto 6** se preparó de una manera similar para preparar el **Compuesto 4**. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,47 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H), 4,15 (dt, $J = 8,5, 2,5$ Hz, 1H), 4,01 (dd, $J = 12,8, 2,3$ Hz, 1H), 3,80 (dd, $J = 12,8, 2,6$ Hz, 1H), 3,73 (t, $J = 9,4$ Hz, 1H), 1,24 (s, 3H). MS = 301 (M + H^+). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 0,50 min.

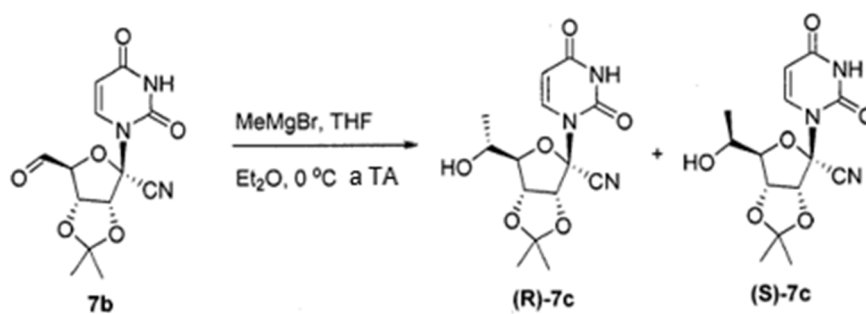
Compuesto 7



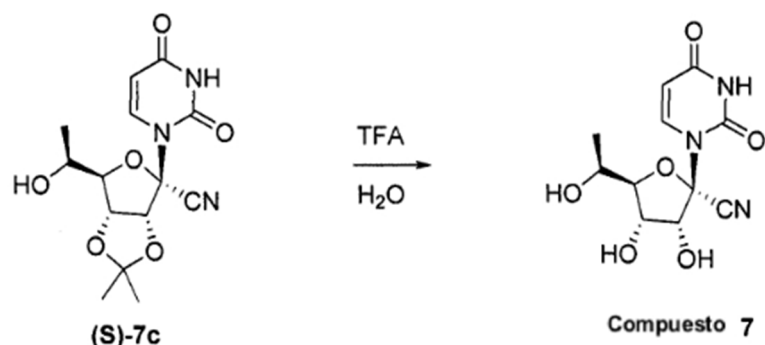
[0214] Se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,7 ml) a una solución (turbia) del **Compuesto 3** (2,57 g, 9,5 mmol) en acetona (70 ml). La solución resultante (transparente) se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se neutralizó con trietilamina (3,5 ml) y el disolvente se eliminó a presión reducida. El aceite amarillo resultante se sometió a cromatografía en gel de sílice con un eluyente (metanol al 20% en diclorometano) y diclorometano en un gradiente de 0 -100%. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó a presión reducida proporcionando el **Compuesto 7a** (2,13 g, 72%).



[0215] Ácido 2-iodoxibenzoico (IBX) (3 g, 4,8 mmol, 45% en peso) se agitó con acetato de etilo (15 ml) durante 15 minutos hasta obtener una mezcla suave formada. El sólido se aisló por filtración por succión y luego se añadió a una solución del **Compuesto 7a** (500 mg, 1,6 mmol) en acetonitrilo (20 ml). La mezcla se calentó a 80°C durante 30 min. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo y las aguas madres se aislaron por filtración por succión. El disolvente se eliminó a presión reducida, y el sólido blanco se formó un azeótropo con tolueno. El material **Compuesto 7b** se usó inmediatamente, y se supuso que el rendimiento era del 100%.

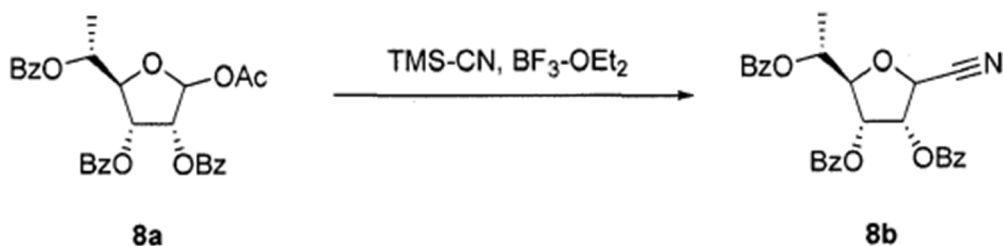


[0216] Se añadió una solución de bromuro de metilmagnesio (2,69 ml, 8,1 mmol, 3 M en éter dietílico) a una solución del **Compuesto 7b** (495 mg, 1,6 mmol) en tetrahydrofurano (20 ml) a - 20°C bajo una atmósfera de argón. Después de 5 minutos, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 45 minutos, la mezcla se enfrió a 0°C y la reacción se inactivó con cloruro de amonio saturado (10 ml). El tetrahydrofurano se eliminó a presión reducida y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio y se filtraron. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase inversa con un eluyente de agua y acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó por liofilización proporcionando el **Compuesto (R)-7c** (35 mg, 7%) y el **Compuesto (S)-7c** (15 mg, 3%).

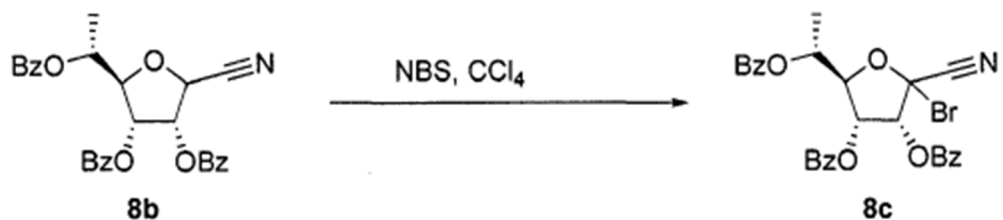


[0217] Una solución del **Compuesto (S)-7c** (15 mg, 0,046 mmol) y ácido trifluoroacético (1 ml) en agua (1 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5,5 horas. La solución se diluyó con agua (5 ml) y acetonitrilo (5 ml), y el disolvente se eliminó por liofilización. El residuo resultante se sometió a HPLC de fase inversa con un eluyente de agua y acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó por liofilización, proporcionando el **Compuesto 7** (4,2 mg, 32%). ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ 8,15 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 5,59 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 4,00 (dd, J_1 = 2,8 Hz, J_2 = 8,8 Hz, 1H), 3,94 (dd, J_1 = 4,0 Hz, J_2 = 8,4 Hz, 1H), 3,85 (dd, J_1 = 2,4 Hz, J_2 = 6,4 Hz, 1H), 1,27 (d, J = 6,4 Hz, 3H). MS = 281,8 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6,0 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 0,33 min.

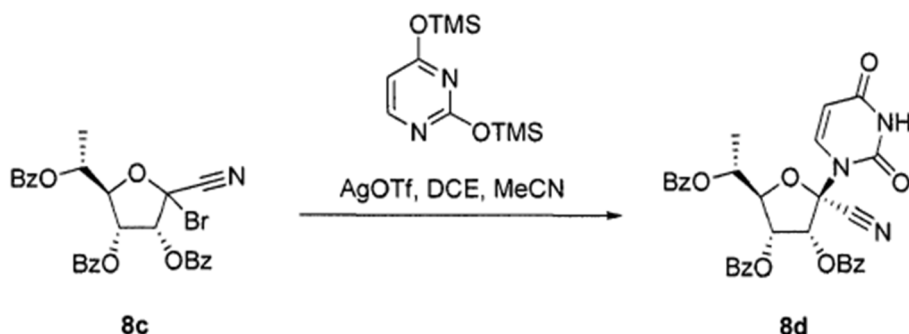
Compuesto 8



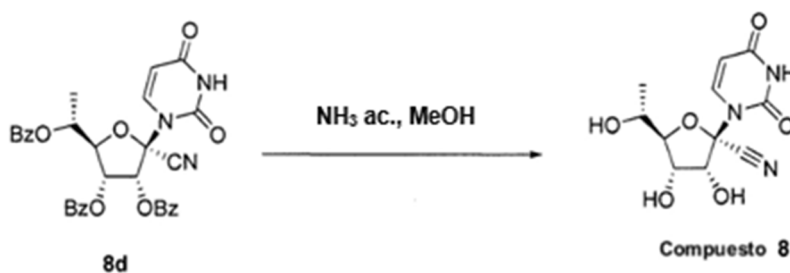
[0218] El **Compuesto 8a** (preparado por un método informado en Journal of Medicinal Chemistry, 2000, 43, 2566; 1,0 g, 2,06 mmol) se disolvió en nitrometano (20 ml) a temperatura ambiente. TMS-cianuro (296 mg, 2,97 mmol) seguido por BF₃ eterato (0,246 ml). La agitación a temperatura ambiente continuó. Después de 45 minutos, los volátiles se eliminaron *al vacío*. El material bruto se llevó a DCM y la solución se lavó con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes produjeron el material bruto **Compuesto 8b** (923 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,08 (m, 2H), 7,92 (m, 4H), 7,57 (m, 3H), 7,43 - 7,35 (m, 6H), 6,00 - 5,93 (m, 2H), 5,51 (m, 1H), 4,94 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 1,52 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm. Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 4,87 min.



[0219] El **Compuesto 8b** (923 mg, 1,90 mmol) se sometió a las condiciones de reacción similares a las descritas en Tetrahedron Letters, 1993, 8579, que proporciona el **Compuesto 8c** (768,0 mg, 1,36 mmol). El **Compuesto 8c** se obtuvo como una mezcla de dos isómeros. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,10-7,88 (m, 6H), 7,62 - 7,34 (m, 9H), 6,33 - 6,26 (m, 1H), 6,10 y 5,90 (m, 1H), 5,58 (m, 1H), 4,81 - 4,75 (m, 1H), 1,56 y 1,52 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm. Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 5,14 min.

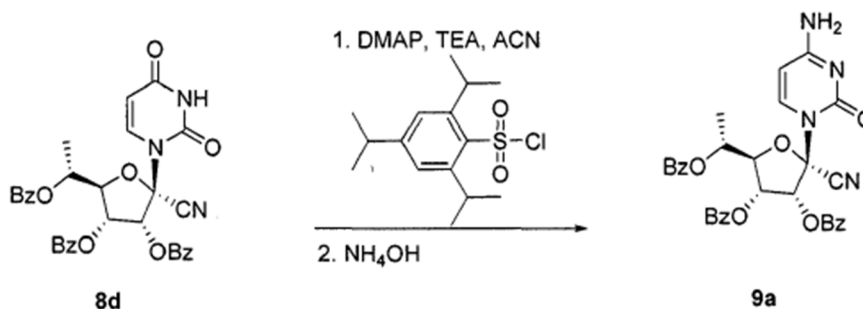


[0220] El **Compuesto 8c** (703 mg, 1,24 mmol), uracilo bis-TMS (630 mg, 2,46 mmol) y triflato de plata (I) (630 mg, 2,46 mmol) se colocaron en un vial de microondas bajo argón y dicloroetano anhidro. (5 ml) y acetonitrilo (5 ml) se añadieron. La mezcla se calentó a 135°C durante 30 minutos mediante el uso de un reactor de microondas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró y los volátiles se eliminaron *al vacío*. El material bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: hexanos/EtOAc) proporcionando el **Compuesto 8d** (504 mg, 0,845 mmol) como un isómero único. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,08 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 8,03 - 8,00 (m, 4H), 7,62 - 7,37 (m, 10H), 6,36 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 6,11 (m, 1H), 5,66 (dq, *J* = 7,2/2,8 Hz, 1H), 4,50 (dd, *J* = 8,4/2,4 Hz, 1H), 4,90 (m, 1H), 1,57 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H) ppm. MS = 596 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6 minutos (columna Polar RP) = 4,43 min.

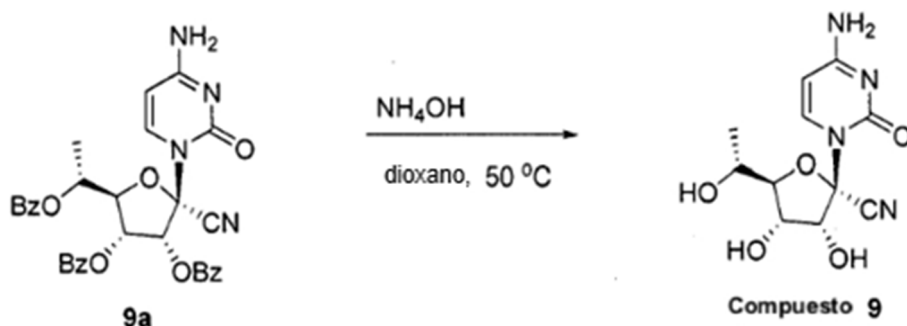


[0221] A una solución del **Compuesto 8d** (65 mg, 0,109 mmol) en MeOH (1 ml) a temperatura ambiente se añadieron 2 ml de amoníaco concentrado. ac. amoníaco. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. El análisis LC/MS indicó que se consumió casi todo el material de partida. La reacción se concentró *al vacío*. El producto de reacción bruto se disolvió en agua y se purificó mediante HPLC de fase inversa (eluyente: agua/MeCN). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, congelaron y liofilizaron para proporcionar el **Compuesto 8** (22,0 mg, 0,077 mmol). ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,93 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 5,75 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,15 (m, 3H), 1,16 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H) ppm. MS = 282 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 0,97 min.

Compuesto 9

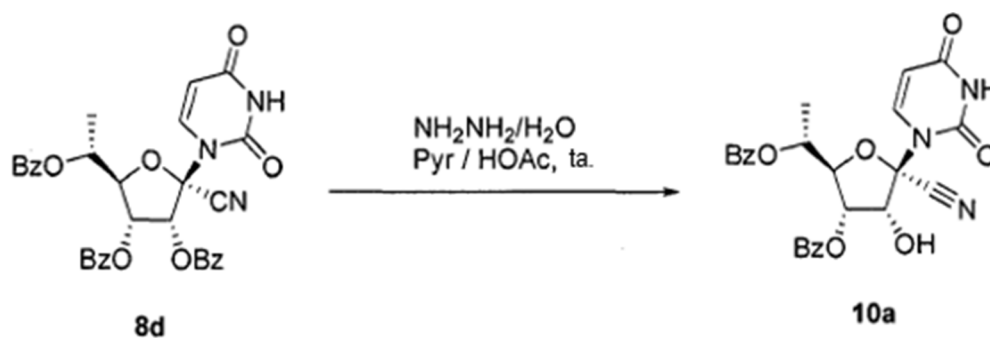


[0222] 2,4,6-Triisopropilbenceno-1-cloruro de sulfonilo se añadió (1,58 g, 5,2 mmol) a una solución de **Compuesto 8d** (1,56 g, 2,6 mmol), *N,N*-dimetilaminopiridina (640 mg, 5,2 mmol) y trietilamina (0,73 ml, 5,2 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió hidróxido de amonio acuoso concentrado (6 ml) y después de 15 minutos se eliminó el acetonitrilo a presión reducida. El residuo se recogió en acetato de etilo (75 ml) y se lavó con agua (20 ml), cloruro de amonio saturado (20 ml) y luego salmuera (20 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se filtró. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice con un eluyente de metanol y diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó a presión para proporcionar el **Compuesto 9a** (920 mg, 60%).

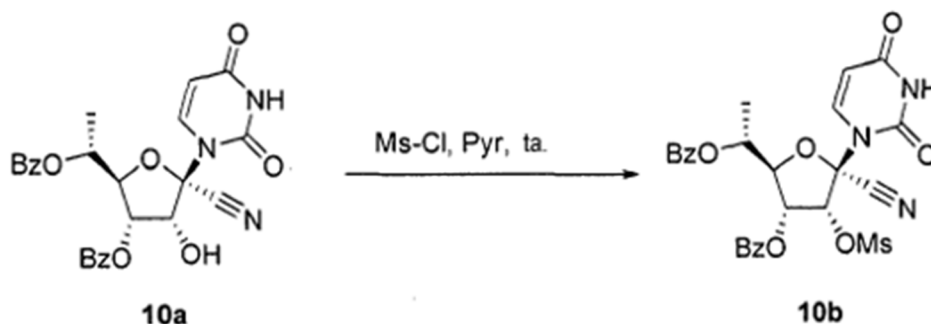


[0223] Se añadió hidróxido de amonio concentrado (30 ml) a una solución de **Compuesto 9a** (460 mg, 7,7 mmol) en 1,4-dioxano (15 ml). La solución se agitó a 50°C en un recipiente sellado. Después de 9 horas, la solución se enfrió y el disolvente se concentró hasta un volumen de 10 ml. La mezcla se enfrió a 0°C durante 5 minutos y se filtró. El filtrado se sometió a HPLC de fase inversa con un eluyente de agua y acetonitrilo. Las fracciones que contenían el producto se combinaron. El disolvente se eliminó por liofilización para proporcionar el **Compuesto 9** (148 mg, 67%). ¹H-RMN (400 MHz, D₂O): δ 7,88 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,42 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,09 (m, 2H), 1,16 (d, J = 7,2 Hz, 3H). MS = 283,1 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 0,28 min.

Compuesto 10

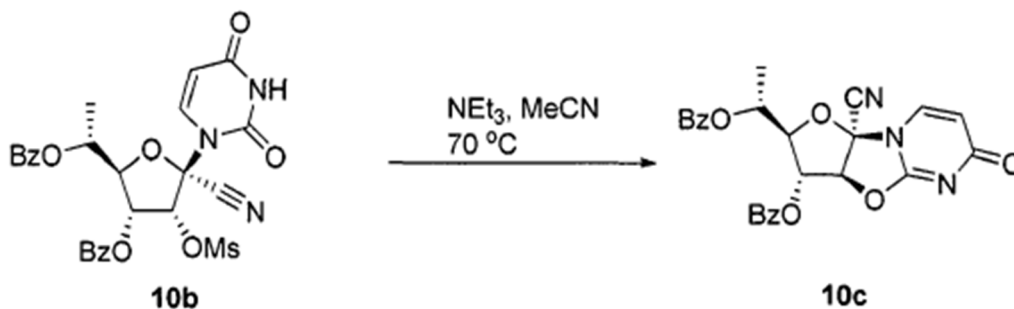


[0224] A una solución del **Compuesto 8d** (4,32 g, 7,25 mmol) en piridina/ácido glacial (55 ml/13,5 ml) a temperatura ambiente se añadió hidrato de hidrazina (598 mg, 10,87 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas. Se añadió acetona (4 ml) y se continuó la agitación a temperatura ambiente. Después de 2 horas adicionales, el volumen de disolvente se redujo *al vacío* a ~ 1/3 del volumen original. La mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl acuoso (1 N) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes proporcionaron el **Compuesto bruto 10a** (3,33 g, 6,77 mmol). El material se usó en el siguiente paso sin más purificación. ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,43 (m, 1H), 8,17 (d, J = 6,8 Hz, 2H), 7,86 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 7,61 - 7,41 (m, 7H), 6,04 (dd, J = 5,2/1,2 Hz, 1H), 5,63 (m, 2H), 4,99 (s, 1H), 4,94 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 1,54 (d, J = 6,8 Hz, 3H) ppm. MS = 489 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6 minutos (columna Polar RP) = 3,53 min.

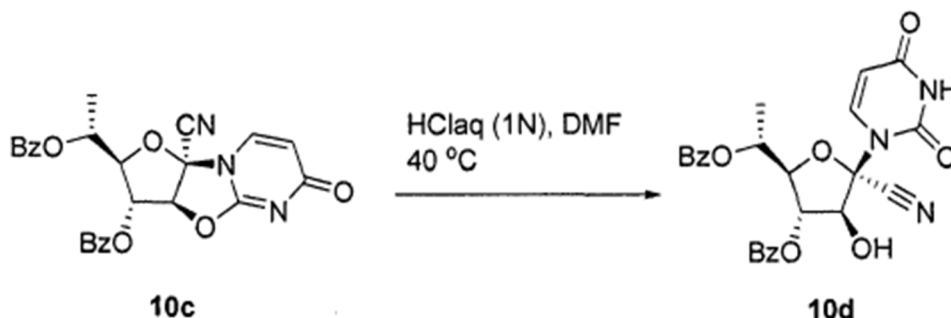


[0225] A una solución del **Compuesto 10a** (3,25 g, 6,61 mmol) en piridina (40 ml) a temperatura ambiente se añadió cloruro de metanosulfonyl (1,51 g, 13,22 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añadió más cloruro de metilsulfonyl (0,75 g, 6,61 mmol) y se continuó la agitación a temperatura ambiente. Después de 5 horas, los volátiles se eliminaron *al vacío*. La mezcla de reacción cruda se diluyó con EtOAc, se lavó con HCl acuoso (1 N) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó

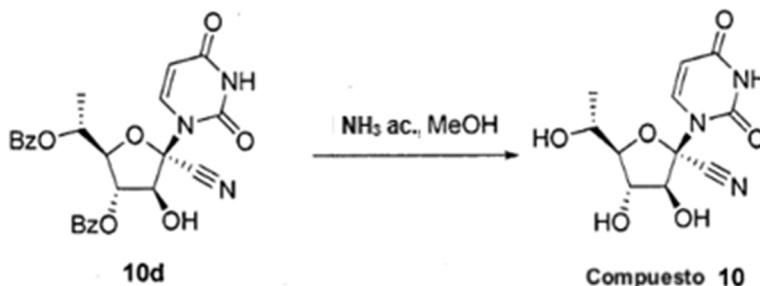
sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes proporcionaron material bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexanos) para proporcionar el **Compuesto 10b** (2,53 g, 4,27 mmol). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 9,22 (m, 1H), 8,07 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,95 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,61 (m, 2H), 7,47 - 7,39 (m, 5H), 5,81 - 5,72 (m, 3H), 5,29 (d, d, *J* = 8,4/1,6 Hz, 1H), 4,87 (dd, *J* = 9,2/3,2 Hz, 1H), 3,36 (s, 3H), 1,45 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H) ppm. MS = 570 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 3,84 min.



[0226] A una solución del **Compuesto 10b** (2,45 g, 4,30 mmol) en acetonitrilo (40 ml) a temperatura ambiente se le añadió trietilamina (2,45 g, 24,20 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 65°C (baño de aceite). Después de 2 horas, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y los volátiles se eliminaron *al vacío*. La mezcla de reacción cruda se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl acuoso (1 N) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes dieron el producto **Compuesto 10c** (1,78 g, 3,76 mmol). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 8,07 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,92 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,69 - 7,37 (m, 7H), 6,01 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,91 (m, 1H), 5,78 (d, *J* = 0,8 Hz, 1H), 5,43 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 1,40 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H) ppm. MS = 472 (M - H⁺). Tiempo de retención LC/MS en un método LC/MS de 6 minutos (columna Polar RP) = 4,09 min.



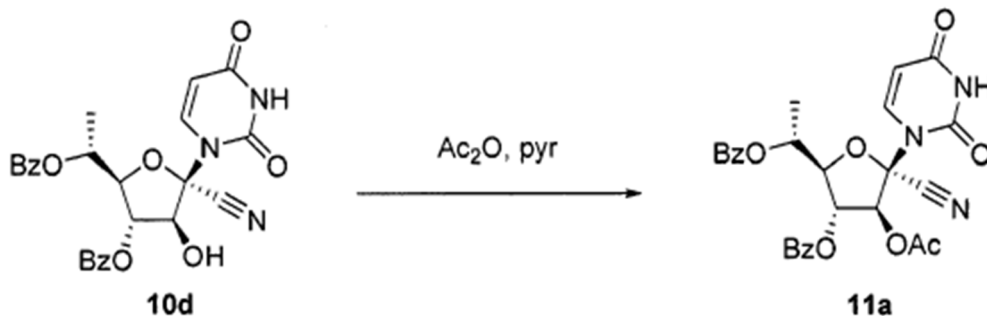
[0227] A una solución del **Compuesto 10c** (1,70 g, 3,59 mmol) en DMF (10 ml) se le añadió HCl acuoso (1 N, 10 ml) a temperatura ambiente. A la suspensión resultante se le añadió más DMF (10 ml). La mezcla de reacción se calentó a 40°C (baño de aceite). Después de 30 minutos, la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc, y se lavó con salmuera, LiCl acuoso (5%) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes produjeron una mezcla de reacción cruda que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexanos) para proporcionar el producto **Compuesto 10d** (1,65 g, 3,37 mmol). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 10,08 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 8,07 (d, *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,57 - 7,37 (m, 7H), 5,77 (m, 1H), 5,71 (m, 1H), 5,13 (s, 1H), 5,04 (s, 1H), 4,79 (d, d, *J* = 8,4/1,6 Hz, 1H), 4,59 (m, 1H), 1,52 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H) ppm. MS = 492 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6 minutos (columna Polar RP) = 3,71 min.



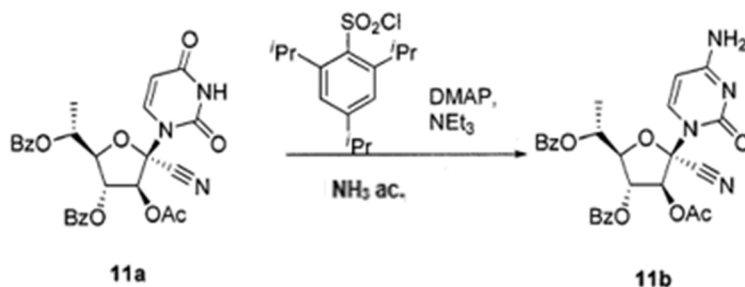
[0228] A una solución del **Compuesto 10d** (65,2 mg, 0,132 mmol) en MeOH (1 ml) a temperatura ambiente se añadieron 2 ml de concentrado. ac. amoníaco. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción se concentró *al vacío*. El producto de reacción bruto se disolvió en agua y se purificó mediante

HPLC de fase inversa (eluyente: agua/MeCN). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, congelaron y liofilizaron para proporcionar el **Compuesto 10** (10,3 mg, 0,036 mmol). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, D_2O): δ 7,74 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,76 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,69 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 4,13 (m, 1H), 3,99 (m, 1H), 1,17 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H) ppm. MS = 284 ($\text{M} + \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 1,37 min.

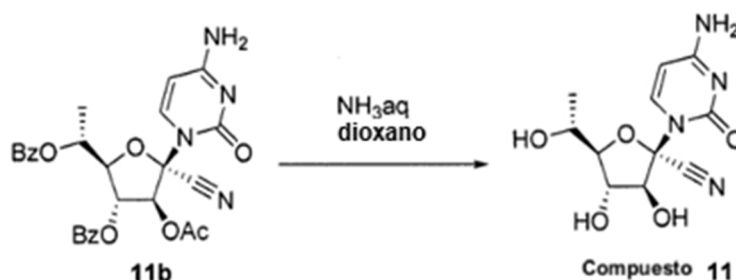
Compuesto 11



[0229] A una solución del **Compuesto 10d** (189,2 mg, 0,385 mmol) en piridina (2 ml) a temperatura ambiente se añadió anhídrido acético (47,5 mg, 0,462 mmol). Después de 2 horas, los volátiles se eliminaron *al vacío*. La mezcla de reacción cruda se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl acuoso (1 N) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes proporcionaron material bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexanos) para proporcionar el **Compuesto 11a** (185,5 mg, 0,348 mmol). $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8,15 (m, 3H), 8,04 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,65 - 7,44 (m, 7H), 5,99 (s, 1H), 5,81 - 5,73 (m, 3H), 4,69 (m, 1H), 1,57 - 1,54 (m, 6H) ppm. MS = 533 ($\text{M} + \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 3,89 min.

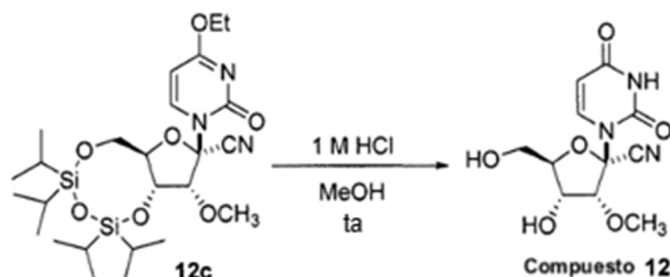


[0230] A una solución del **Compuesto 11a** (180,0 mg, 0,338 mmol), DMAP (82,4 mg, 0,676 mmol) y trietilamina (68,2 mg, 0,676 mmol) en acetonitrilo (8 ml) a temperatura ambiente se le añadió cloruro de trisopropilfenilsulfonilo (204 mg, 0,666 mmol). La agitación a temperatura ambiente continuó. Después de 30 minutos, la reacción se enfrió a 0°C . La solución NH_3 acuosa concentrada (2 ml) se añadió y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 30 minutos adicionales, el volumen de la mezcla de reacción se redujo *al vacío*. La mezcla de reacción cruda se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl acuoso (1 N) y solución acuosa saturada de bicarbonato sódico/salmuera (1/1). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la evaporación de los disolventes proporcionaron material bruto que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: EtOAc/hexanos) para proporcionar una mezcla del **Compuesto 11b** y su derivado 2O' des-acetilo (128,5 mg, combinados). Esta mezcla se usó en la siguiente reacción. Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6 minutos (columna Polar RP) = 3,59 min (**Compuesto 11b**) y 3,42 min (des-Ac).



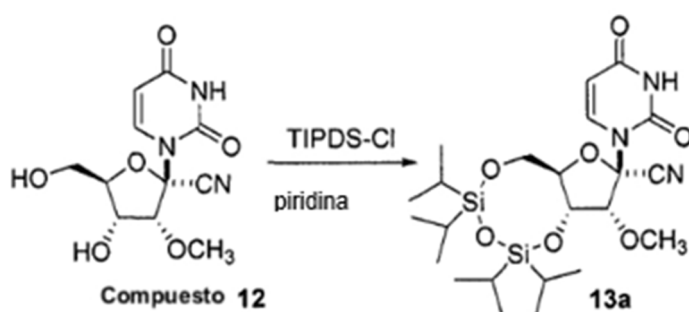
[0231] A una solución del **Compuesto 11b** y su derivado de des-acetilo (11,0 mg, $\sim 0,230$ mmol) en dioxano (1 ml) a temperatura ambiente se añadieron 2 ml de concentrado. ac. amoníaco. La mezcla de reacción se agitó a temperatura

[0234] El **Compuesto 12b** (900 mg, 1,8 mmol) se disolvió en acetona seca (20 ml). Se añadió óxido de plata (I) (3,3 g, 14 mmol) a la solución, seguido de la adición de yoduro de metilo (2,5 g, 18 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se filtró para eliminar el óxido suspendido, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexanos para dar el **Compuesto 12c** (250 g, 26% de rendimiento). MS = 554 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 2,75 min.

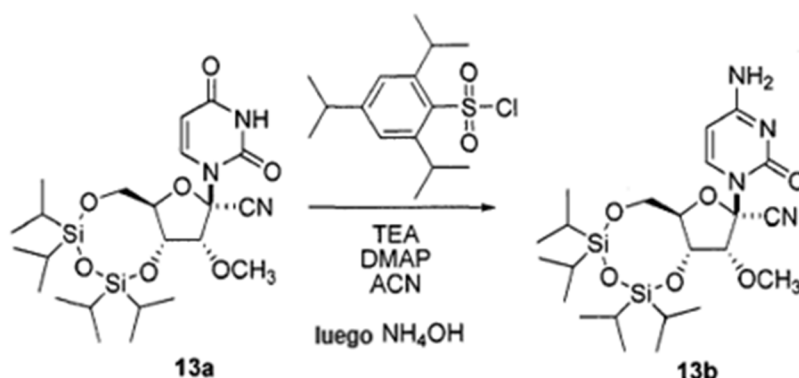


[0235] El **Compuesto 12c** (220 mg, 0,40 mmol) se disolvió en metanol (6 ml) y la solución resultante se enfrió a 0°C en un baño de hielo. El ácido clorhídrico (0,6 ml, 1 M en H₂O) se añadió gota a gota. Una vez completada la adición, la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 12 horas. El disolvente se concentró y el residuo se lavó dos veces con DCM para eliminar las impurezas de sililo. El crudo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando MeOH/DCM para dar el **Compuesto 12** (80 mg, 70% de rendimiento). MS = 284 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 0,90 min.

Compuesto 13

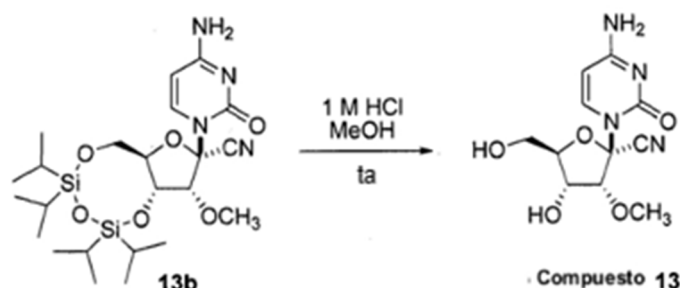


[0236] El **Compuesto 12** (70 mg, 0,25 mmol) se disolvió en piridina seca (2 ml). A esta mezcla, se añadió gota a gota 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropil disiloxano (0,10 ml, 1,3 eq). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después, el disolvente se eliminó a vacío y el residuo resultante se disolvió en EtOAc, se lavó con H₂O y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó a sequedad. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo/hexanos para dar el **Compuesto 13a** (120 mg, 55% de rendimiento). MS = 526 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 2,57 min.



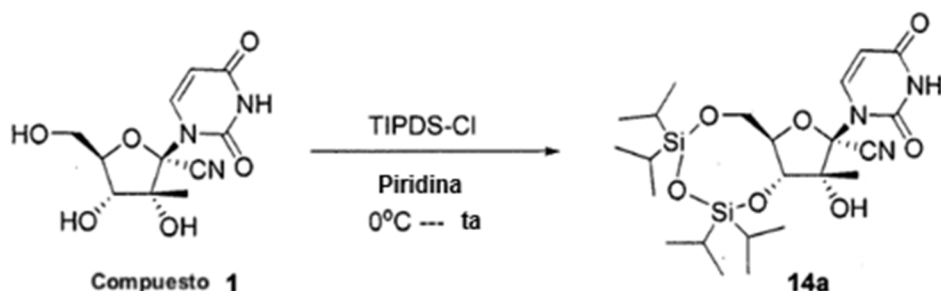
[0237] Se añadió trietilamina (60 mg, 0,60 mmol) a una solución en agitación de **Compuesto 13a** (155 mg, 0,30 mmol) en CH₃CN (1 ml). Se añadieron cloruro de 2,4,6-triisopropilbencenosulfonilo (179 mg, 0,60 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (72 mg, 0,60 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla se evaporó a la sequedad. El residuo se disolvió en CH₃CN (3 ml) y NH₃ se añadió (solución acuosa al 28%,

6 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A continuación, el disolvente se eliminó a vacío y el residuo se disolvió en CH_2Cl_2 y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se evaporó a sequedad. El producto bruto se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando acetato de etilo/metanol 3:1 para dar el **Compuesto 13b** (80 mg, 52% de rendimiento). MS = 556 ($\text{M} + \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 2,45 min.

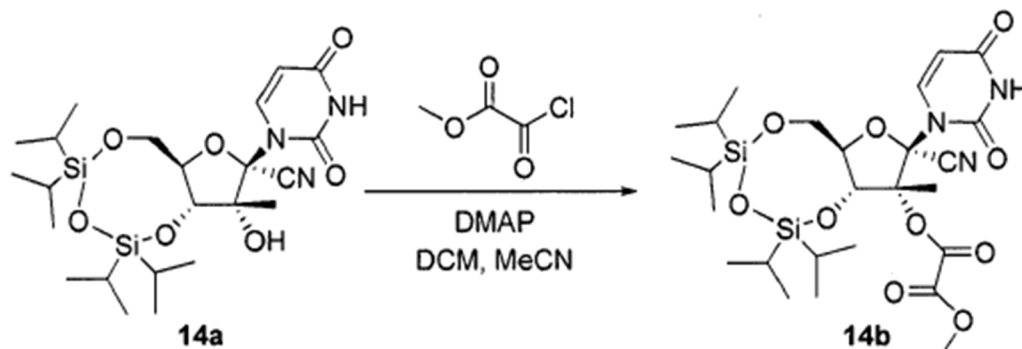


[0238] El **Compuesto 13b** (240 mg, 0,46 mmol) se disolvió en THF anhidro (6 ml). Se añadió difluorodifenilsilicato de tetrabutylamonio (TBAT) (540 mg, 1,01 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 min. Se añadió ácido acético (0,06 ml, 1,0 mmol). La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en agua. El material insoluble se eliminó por filtración. El filtrado se purificó por HPLC (modo neutro, columna RP Polar) para dar el **Compuesto 13** (30 mg, 24% de rendimiento). MS = 283 ($\text{M} + \text{H}^+$). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ 8,14 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 5,89 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H), 4,16 (dd, $J = 10,1, 4,4$ Hz, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,73 (dd, $J = 10,0, 2,5$ Hz, 1H). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 0,48 min.

Compuesto 14

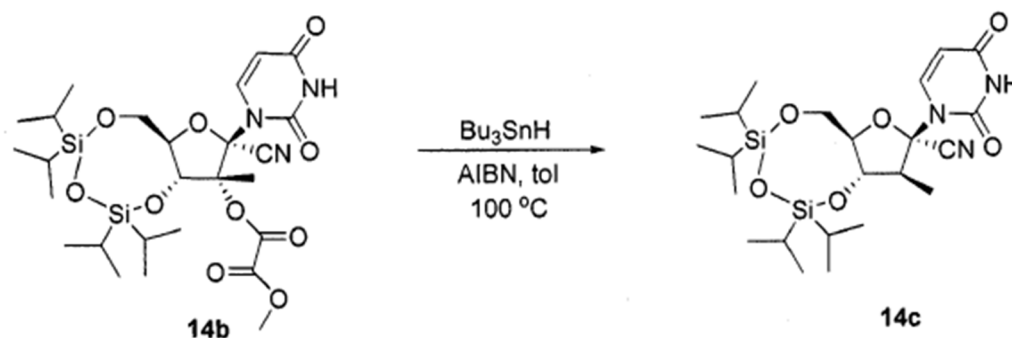


[0239] A un matraz seco de fondo redondo purgado con argón (25 ml) se le añadió el **Compuesto 1** y piridina anhidra (4 ml). Se añadió gota a gota 1,3-dicloro-1,1,3,3-tetraisopropil disiloxano (1,33 ml, 4,16 mmol) y la reacción se agitó durante 2 horas a 0°C. Luego se retiró el baño de hielo y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y continuó agitándose hasta la desaparición completa del material de partida. Después de 10 minutos de calentamiento, la reacción se diluyó con 10 ml de H_2O y se recogió el material deseado a través de filtración a vacío. El material se colocó a alto vacío durante la noche para un secado adicional. Se recogieron 1,90 g (96% de rendimiento) del material deseado, **Compuesto 14a**. MS = 526,4 ($\text{M} - \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 5,09 min.

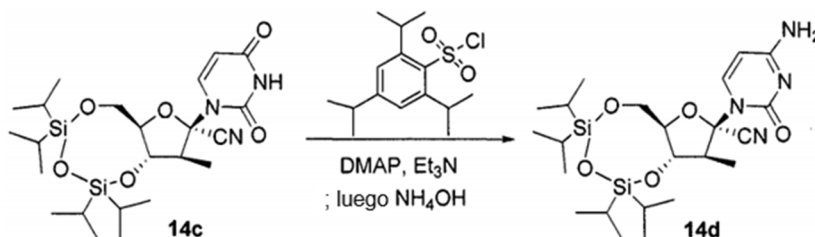


[0240] A un matraz seco de fondo redondo purgado con argón (50 ml) se le añadió el **Compuesto 14a** (1,7 g, 3,23 mmol), diclorometano anhidro (10 ml) y acetonitrilo anhidro (10 ml). Luego se añadió en porciones dimetilamino piridina (1,19 g, 9,7 mmol) seguido de la adición gota a gota de cloroacetato de metilo (0,89 ml, 9,7 mmol). La reacción se dejó agitar a temperatura ambiente hasta la desaparición completa del material de partida. Después de 1,5 h, la mezcla de reacción en bruto se diluyó con EtOAc, seguido de lavados con NaHCO_3 (sat), agua, y salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla se secó

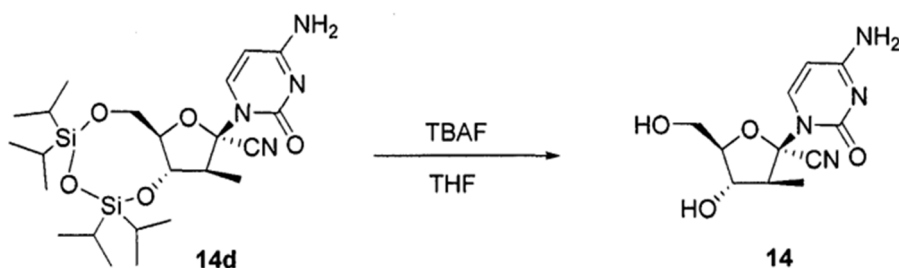
azeotrópicamente usando tolueno y se colocó a alto vacío durante la noche para completar. Se recogieron 1,72 g (rendimiento del 87%) del material deseado, **Compuesto 14b**. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,47 (m, 1H), 4,30 (m, 1H), 4,20 (m, 2H), 3,93 (s, 3H), 2,89 (s, 3H), 1,08 (m, 28H). MS = 609,8 ($\text{M} - \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 5,35 min.



[0241] A un matraz seco de fondo redondo purgado con argón (500 ml) se le añadió el **Compuesto 14b** (1,75 g, 2,86 mmol) y tolueno anhidro (120 ml). Luego se añadieron AIBN (118,8 g, 0,49 mmol) y Bu_3SnH (2,3 ml, 8,78 mmol) y el matraz se colocó en un bloque de calentamiento y se ajustó a 100°C . Después de 3 h, el disolvente se eliminó a presión reducida y la mezcla de reacción cruda se purificó usando cromatografía ultrarrápida (Hex/EtOAc). Se recogió el material deseado, el **Compuesto 14c**, junto con el isómero alfa (900 mg; 62%, 78:22 beta/alfa). Isómero beta después de la separación de la columna; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,82 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,73 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,09 (m, 2H), 3,15 (m, 1H), 1,01 (m, 31H). MS = 507,9 ($\text{M} - \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6,0 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 5,18 min.

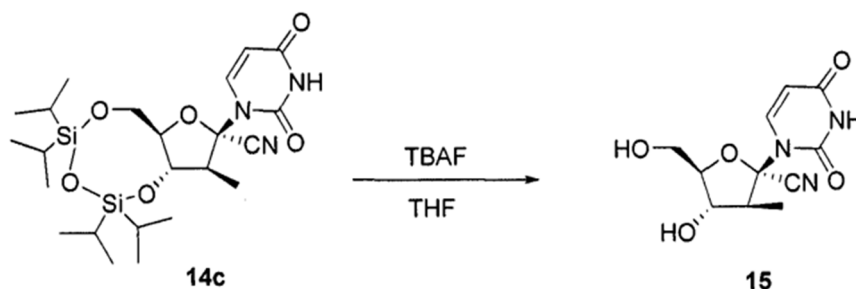


[0242] A un matraz seco de fondo redondo purgado con argón (100 ml) se le añadió el **Compuesto 14c** (500 mg, 1,00 mmol) y acetonitrilo anhidro (13 ml). Luego se añadieron dimetilamino piridina (244 mg, 2,0 mmol) y trietilamina (0,28 ml, 2,0 mmol) al matraz. Por último, se añadió cloruro de 2,4,6-triisopropilbencenosulfonilo (0,28 ml, 2 mmol) a la mezcla y la solución se volvió amarilla. La reacción continuó agitándose a temperatura ambiente hasta la desaparición completa del material de partida. Después de 45 minutos, se añadió hidróxido de amonio (2,6 ml, 20% en volumen) a 0°C y la reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. Después de 20 minutos adicionales, el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción bruta se diluyó con EtOAc, seguido de lavados con NaHCO_3 (sat), agua, y salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre NaSO_4 y el disolvente se eliminó a presión reducida. La mezcla de reacción cruda se purificó luego usando cromatografía instantánea (DCM/MeOH). Se recogieron 380 mg (75% de rendimiento) del material deseado, **Compuesto 14d**. $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD_3OD): δ 7,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,23 (m, 2H), 4,07 (m, 2H), 3,17 (m, 1H), 1,25 (m, 1H), 1,09 (m, 27H), 0,96 (m, 3H). MS = 509,1 ($\text{M} - \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de 6,0 minutos LC/MS (columna Polar RP) = 4,83 min.



[0243] A un matraz de fondo redondo seco de argón purgado (50 ml) se añadió el **Compuesto 14d** (180 mg, 0,35 mmol) y tetrahidrofurano anhidro (9 ml). Luego se añadió TBAF (0,23 mL, 0,778 mmol) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente hasta la desaparición completa del material de partida. Después de 10 minutos, se añadió ácido acético para neutralizar la solución y luego se eliminó el disolvente a presión reducida. La mezcla de reacción cruda se disolvió en agua, los insolubles se filtraron y el filtrado se purificó usando HPLC preparativa. Se recogieron 80 mg (86%) del material deseado, **Compuesto 14**. ^1H -RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,77 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,94 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,91 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,07 (m, 1H), 0,66 (d, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS = 267,1 ($M + \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,0 minutos (columna Polar RP) = 0,40 min.

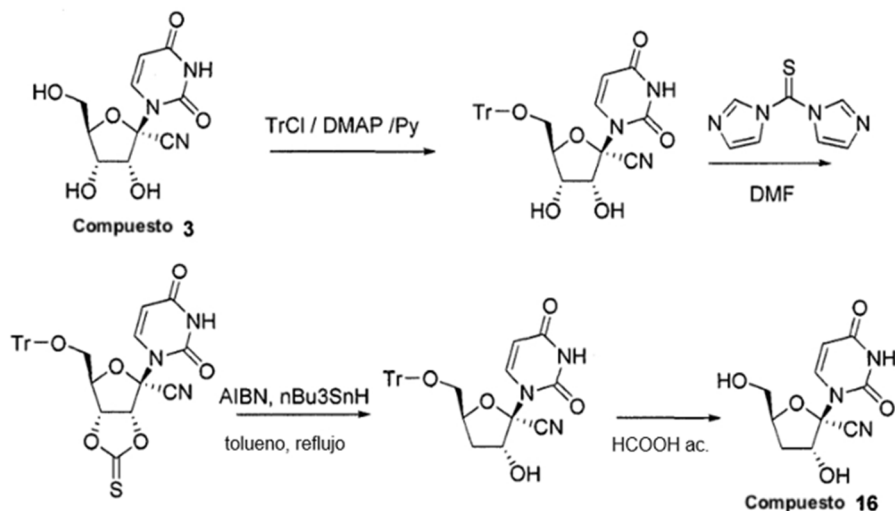
Compuesto 15



[0244] El **Compuesto 15** se preparó a partir del **Compuesto 14c** en condiciones similares a las descritas en la conversión del **Compuesto 14d** al **Compuesto 14**.

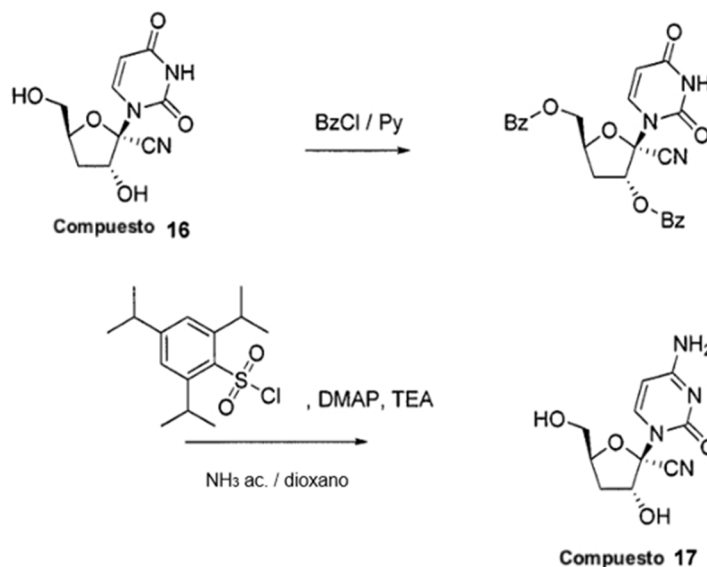
^1H -RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,83 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 5,78 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,24 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,84 (dd, 1H), 3,71 (dd, 1H), 3,07 (m, 1H), 0,76 (d, $J = 7,5$ Hz, 3H). MS = 268,1 ($M + \text{H}^+$). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,0 minutos (columna Polar RP) = 0,79 min.

Compuesto 16

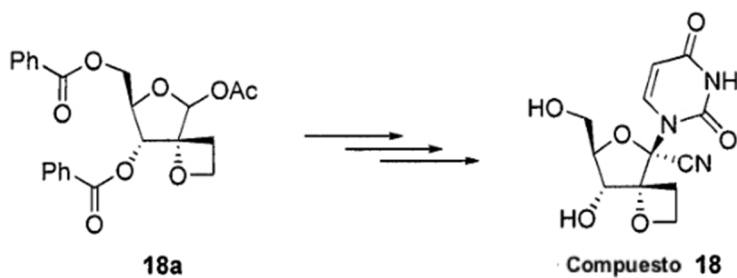


[0245] El **Compuesto 16** puede obtenerse del **Compuesto 3** siguiendo la secuencia sintética mostrada anteriormente, cuyos procedimientos se describen en Journal of Organic Chemistry, 1981, 46, 3603. Brevemente, una solución del **Compuesto 3** y cloruro de tritilo (~1,1 eq) en La piridina se agita a temperatura ambiente. Si es necesario, se agrega cloruro de tritilo adicional aproximadamente a las 24 h y aproximadamente 48 h. Una vez completada la reacción, se elimina el disolvente y el residuo se reparte entre diclorometano y agua. La capa orgánica se concentra y el residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice. El intermedio tritilado se trata luego con (tiocarbonil) diimidazol (~1,4 eq.) En DMF durante aproximadamente 1 h a 24 h para proporcionar, después del tratamiento habitual, el 2',3'-O-tiocarbonato. Una solución del tiocarbonato en tolueno se trata con una solución de hidruro de trin-butilestaño (3-4 eq.) y una cantidad catalítica de AIBN en tolueno a aproximadamente 80 a aproximadamente 120°C durante aproximadamente 30 minutos. a 5 h. El tratamiento y la purificación habituales proporcionan el producto 3'-desoxi, junto con el producto 2'-desoxi. El intermedio 3'-desoxi deseado se trata luego con ácido fórmico al 80-95% para proporcionar el **Compuesto 16**.

Compuesto 17



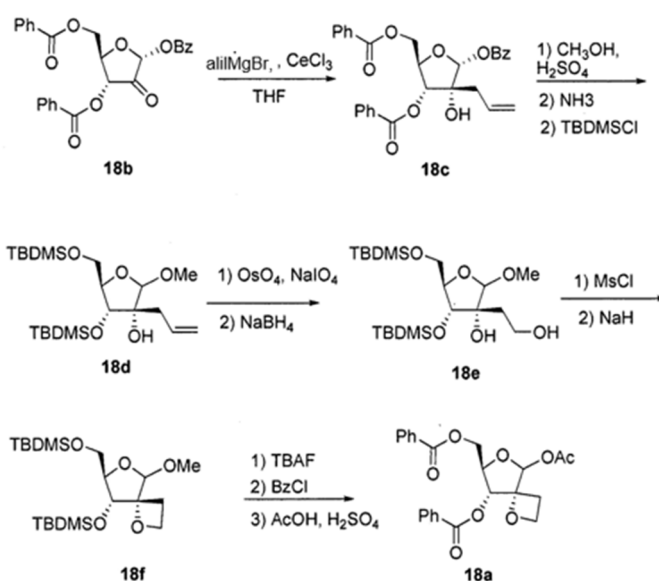
[0246] El **Compuesto 17** se obtiene del **Compuesto 16** siguiendo el procedimiento similar al de la preparación del **Compuesto 4**.
Compuesto 18



[0247] El **Compuesto 18** se prepara siguiendo una secuencia sintética similar a la del **Compuesto 8** sustituyendo el **Compuesto 18a** por el **Compuesto 8a**.

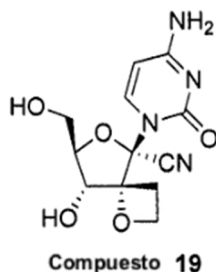
Preparación de 18a

[0248]



[0249] El **Compuesto 18a** puede obtenerse mediante una secuencia de reacción como se muestra anteriormente. Los procedimientos detallados para la construcción del anillo de oxetano se describen en Organic Biomolecular Chemistry, 2003, 1, 3513. La protección y la desprotección en esta preparación se logran mediante métodos generales bien establecidos en la práctica de la química de nucleósidos.

Compuesto 19

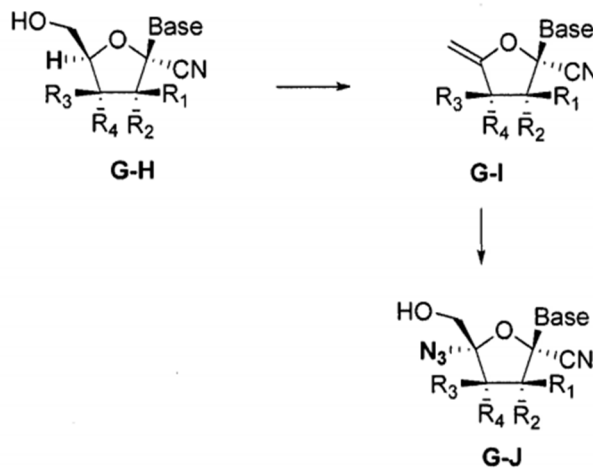


[0250] El **Compuesto 19** se obtiene del **Compuesto 18** siguiendo el procedimiento similar al de la preparación del **Compuesto 4**.

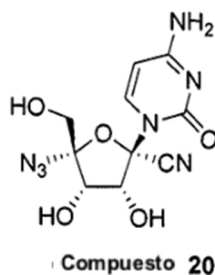
Método general para la preparación de nucleósidos sustituidos con 1'-CN-4'-azido

[0251] La incorporación del grupo azido en la posición 4' del nucleósido sustituido con 1'-CN consiste en la deshidratación a los **Compuestos GI** de los **Compuestos G-H** y la posterior azido-hidroxilación a **G-J** (Esquema 3). Los **Compuestos G-J** se preparan según métodos bien establecidos en la técnica. Las referencias relevantes incluyen Arch.Pharm.Res., 1995, 364; Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 2009, 99; Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2007, 2570; Journal of Medicinal Chemistry, 1992, 1440; Journal of Medicinal Chemistry, 2007, 5463; Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 2971; Synlett, 2011, 57; EP371366, 1990.

Esquema 3

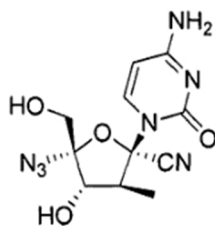


Compuesto 20



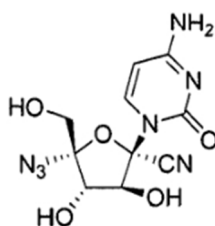
[0252] El **Compuesto 20** se prepara de acuerdo con el método general, a partir del **Compuesto 3**.

Compuesto 21



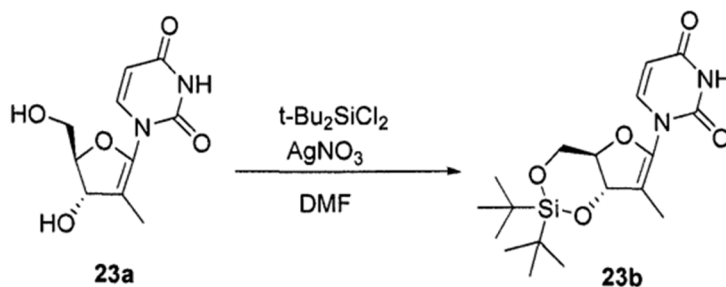
Compuesto 21

[0253] El **Compuesto 21** se prepara de acuerdo con el método general, a partir del **Compuesto 15**.
Compuesto 22

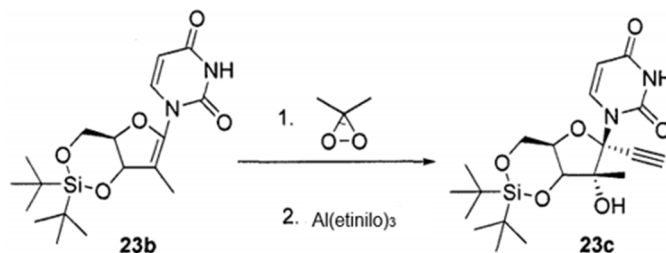


Compuesto 22

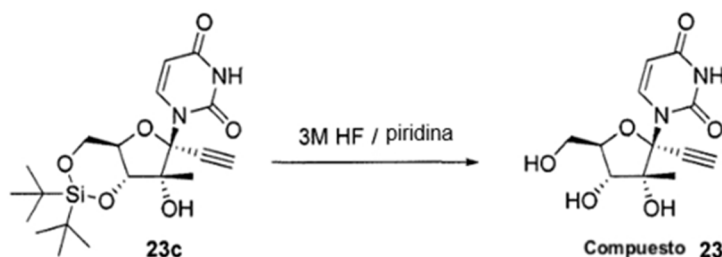
[0254] El **Compuesto 22** se prepara a partir del **Compuesto 20**. La estereoquímica de 2'-alfa-OH se cambia a 2'-beta-OH en una cuestión similar a la del **Compuesto 10**.
Compuesto 23



[0255] El **Compuesto 23b** se obtiene del **Compuesto 23a** (preparado según Tetrahedron, 2000, 5363) por un método similar al descrito en Tetrahedron Letters, 1995, 1683, usando di-t-butil-diclorosilano y nitrato de plata.

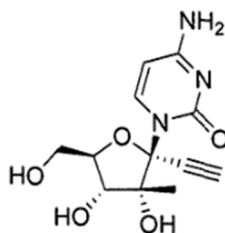


[0256] El **Compuesto 23c** se obtiene del **Compuesto 23b** por un método similar al descrito en Journal of Organic Chemistry, 2004, 1831, usando dimetildioxirano y trietilaluminio.



[0257] El **Compuesto 23** se obtiene del **Compuesto 23c** por un método similar al descrito en Tetrahedron Letters, 1995, 1683, usando poli (fluoruro de hidrógeno) de piridinio.

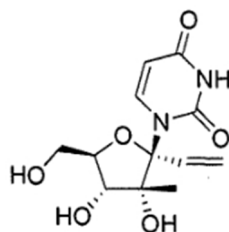
Compuesto 24



Compuesto 24

[0258] El **Compuesto 24** se obtiene del **Compuesto 23** siguiendo el procedimiento similar al de la preparación del **Compuesto 4**.

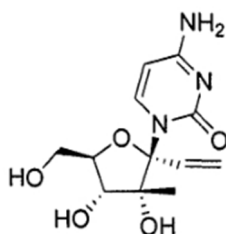
Compuesto 25



Compuesto 25

[0259] El **Compuesto 25** se obtiene de una manera similar a la preparación del **Compuesto 23**, excepto que se usa trivinilaluminio en lugar de trietilaluminio.

Compuesto 26



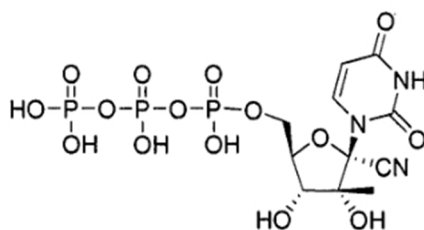
Compuesto 26

[0260] El **Compuesto 26** se obtiene del **Compuesto 25** siguiendo el procedimiento similar al de preparación de **Compuesto 4**.

Procedimiento general para la preparación de nucleótidos trifosfatos:

[0261] A un matraz con forma de pera (5-15 ml) se le carga un nucleósido (~20 mg). Se agrega fosfato de trimetilo (0,5-1,0 mL). La solución se enfría con baño de agua con hielo. Se agrega POCl₃ (40-45 mg) y se agita a 0°C hasta que se completa la reacción (1 a 4 h; el progreso de la reacción se controla por HPLC de intercambio iónico; las muestras analíticas se preparan tomando aproximadamente 3 µl de mezcla de reacción y diluirlo con 1,0 M Et₃NH₂CO₃ (30-50 µl)). Luego se agrega una solución de pirofosfato-Bu₃N (250 mg) y Bu₃N (90-105 mg) en acetonitrilo o DMF (1-1,5 mL). La mezcla se agita a 0°C durante 0,3 a 2,5 h, y luego la reacción se apaga con 1,0 M Et₃NH₂CO₃ (~5 ml). La mezcla resultante se agita durante 0,5-1 h adicionales mientras se calienta a temperatura ambiente. La mezcla se concentra a sequedad, se redisuelve en agua (4 ml) y se purifica por HPLC de intercambio iónico. Las fracciones que contienen el producto deseado se concentran a sequedad, se disuelven en agua (~5 ml), se concentran a sequedad y nuevamente se disuelven en agua (~5 ml). Se agrega NaHCO₃ (30-50 mg) y se concentra a sequedad. El residuo se disuelve en agua y se concentra a sequedad nuevamente. Este proceso se repite 2-5 veces. El residuo se somete luego a purificación por C-18 HPLC, proporcionando el producto deseado como una sal de sodio. Alternativamente, la mezcla de reacción cruda se somete primero a C-18 HPLC y luego a purificación por HPLC de intercambio iónico para proporcionar el producto deseado como una sal de trietilamonio.

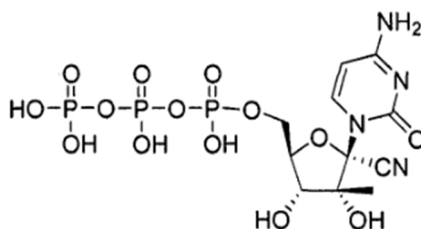
Compuesto 27



Compuesto 27

[0262] El **Compuesto 27** se preparó por el método general usando el **Compuesto 1** como material de partida. ^1H RMN (400 MHz, D_2O): δ 7,82 (d, 1H), 5,75 (d, 1H), 4,1-4,3 (m, 3H), 3,95 (d, 1H), 1,10 (s, 3H). ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O): δ -5,5 (d), -10,9(d), -21,3(t). MS = 522,0 (M - H^+).

Compuesto 28



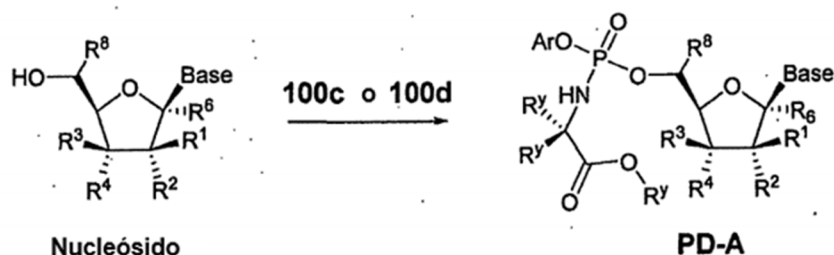
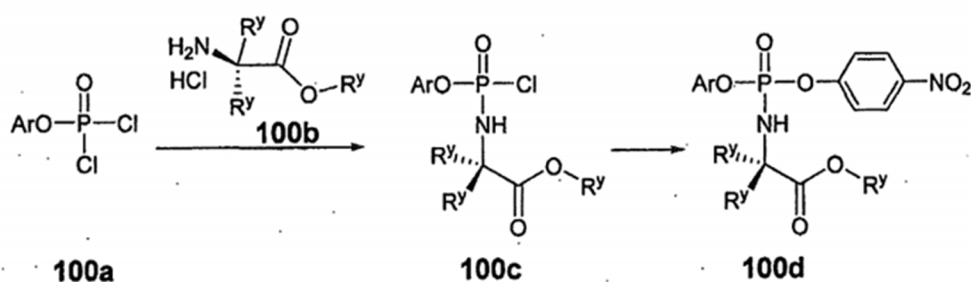
Compuesto 28

[0263] El **Compuesto 28** se preparó por el método general usando el **Compuesto 2** como material de partida. ^1H RMN (400 MHz, D_2O): δ 7,95 (d, 1H), 6,04 (d, 1H), 4,1-4,4 (m, 3H), 3,87 (d, 1H), 3,10 (NCH_2CH_3), 1,10 (s, 3H, solapado con NCH_2CH_3). ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O): δ 10,7 (d), -11,5(d), -23,2 (t). MS = 521,0 (M - H^+).

Procedimiento general para la preparación de un profármaco de nucleósidos Tipo PD-A:

[0264] Los ejemplos no limitantes de profármacos de mono-fosforamidata que comprenden la presente invención pueden prepararse de acuerdo con el Esquema general 4.

Esquema 4



[0265] El procedimiento general comprende la reacción de una sal de éster de aminoácido Compuesto 100b, por ejemplo, sal de HCl, con un Compuesto 100a de aril diclorofosfato en presencia de aproximadamente dos a diez equivalentes de una base adecuada para dar el Compuesto 100c de fosforamidato. Las bases adecuadas incluyen, pero no se limitan a, imidazoles, piridinas como lutidina y DMAP, aminas terciarias como trietilamina y DABCO, y amidinas sustituidas como DBN y DBU. Las aminas terciarias son particularmente preferidas.

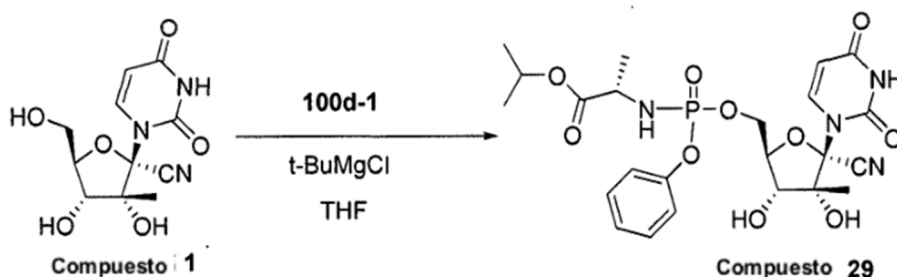
[0266] Preferiblemente, el producto de cada etapa se usa directamente en las etapas posteriores sin recristalización o cromatografía. En el documento WO 2006/121820 se pueden encontrar ejemplos específicos, pero no limitantes, del Compuesto 100a, el Compuesto 100b y el Compuesto 100c. Un nucleósido reacciona con el Compuesto 100c de quoridato de fósforo en presencia de una base adecuada. Las bases adecuadas incluyen, pero no se limitan a, imidazoles, piridinas como lutidina y DMAP, aminas terciarias como trietilamina y DABCO y amidinas sustituidas como

[0267] DBN y DBU. El producto **Compuesto PD-A** puede aislarse por recristalización y/o cromatografía.

Procedimiento general alternativo para PD-A

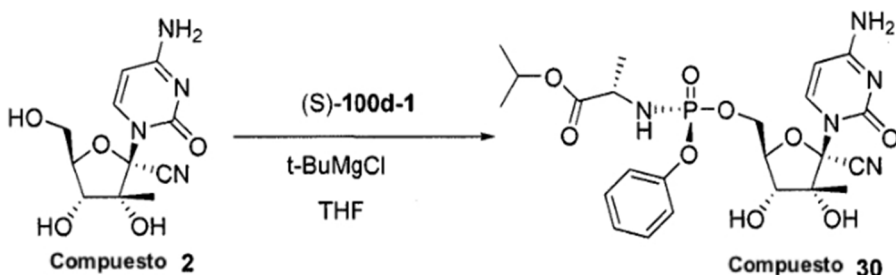
[0268] El fósforo clorurato **Compuesto 100c** reacciona con un fenol activado, tal como 4-nitrofenol, 2-nitrofenol, y 2,4-dinitrofenol, en presencia de una base adecuada para dar un fenolato fósforo **Compuesto 100d** que es estable durante purificación adicional. El **Compuesto 100d** se acopla luego con un **Nucleósido**; Una solución de un **Nucleósido** en NMP (~30 mL/mmol) se enfría a 0°C usando un baño de hielo. A esta mezcla, se agrega gota a gota una solución de t-BuMgCl en THF (1,0 M, 1,5 - 2,5 eq. Al nucleósido). Una solución de **Compuesto 100d** (~1,5 eq. al nucleósido) en THF (A continuación se añade ~15 ml/mmol) gota a gota a la mezcla de reacción. La mezcla resultante se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 16 h. La solución después se inactivó con H₂O (~30 ml/mmol) y se purificó por HPLC de fase inversa (30-60% CH₃CN en H₂O). Las fracciones del producto se combinaron, se concentraron a vacío, y después se purificaron adicionalmente usando cromatografía flash en gel de sílice (1-35% de MeOH en CH₂Cl₂) para dar un monofosfato profármaco **Compuesto PD-A**. La mezcla diastereomérica del **Compuesto 100d** se separa opcionalmente en dos estereoisómeros individuales **Compuesto (S)-100d** y **Compuesto (R)-100d** por cristalización o cromatografía antes del acoplamiento con el **Nucleósido** para proporcionar un estereoisómero único **Compuesto (S)-PD-A** o **Compuesto (R)-PD-A**.

Compuesto 29



[0269] Una solución del **Compuesto 1** (37 mg, 0,13 mmol) en NMP (4 ml) se enfrió a 0°C usando un baño de hielo. A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución de t-BuMgCl en THF (0,46 ml, 1,0 M). Luego se añadió gota a gota a la mezcla de reacción una solución del **Compuesto 100d-1** (82 mg, 0,20 mmol) en THF (2 ml). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después, la solución se inactivó con H₂O (4 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa (30-60% CH₃CN en H₂O). Las fracciones del producto se combinaron, se concentraron a vacío, y después se purificó adicionalmente usando cromatografía flash en gel de sílice (2-35% de MeOH en CH₂Cl₂) para dar el **Compuesto 29** (8 mg, 14%) como una mezcla diastereomérica. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,86 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 7,31 - 7,14 (m, 3H), 5,62 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,96 (dt, J = 12,5, 6,3 Hz, 1H), 4,55 (ddd, J = 12,2, 6,3, 1,9 Hz, 1H), 4,45 - 4,24 (m, 2H), 4,08 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 3,98 - 3,60 (m, 2H), 1,34 (dd, J = 7,1, 0,6 Hz, 3H), 1,27 - 1,17 (m, 9H). ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ -4,16, -4,02. MS = 551 (M - H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 1,89 min.

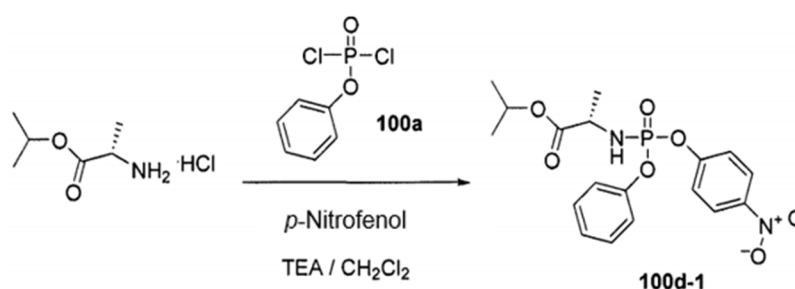
Compuesto 30



[0270] Una solución del **Compuesto 2** (40 mg, 0,14 mmol) en NMP (4 ml) se enfrió a 0°C usando un baño de hielo. A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución de t-BuMgCl en THF (0,49 ml, 1,0 M). Luego se añadió gota a gota a la mezcla de reacción una solución de **Compuesto (S)-100d-1** (86 mg, 0,21 mmol) en THF (2 ml). La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después, la solución se inactivó con H₂O (4 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa (30-60% CH₃CN en H₂O). Las fracciones del producto se combinaron, se concentraron a vacío, y después se purificó adicionalmente usando cromatografía flash en gel de sílice (2-40% de MeOH en CH₂Cl₂) para dar el **Compuesto (S)-30** (16 mg, 21%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,83 (t, *J* = 9,0 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,28 - 7,12 (m, 3H), 5,87 (dd, *J* = 12,8, 7,8 Hz, 1H), 4,96 (dt, *J* = 12,6, 6,3 Hz, 1H), 4,64 - 4,46 (m, 1H), 4,35 (ddd, *J* = 11,7, 6,4, 2,9 Hz, 2H), 3,91 (dq, *J* = 14,1, 7,1 Hz, 1H), 3,66 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 1,33 (t, *J* = 9,3 Hz, 3H), 1,21 (dd, *J* = 6,2, 2,0 Hz, 6H), 1,11 (s, 3H). ³¹P RMN (162 MHz, CD₃OD) δ -4,00. MS = 552 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 1,80 min.

Preparación del Compuesto (S)-100d-1

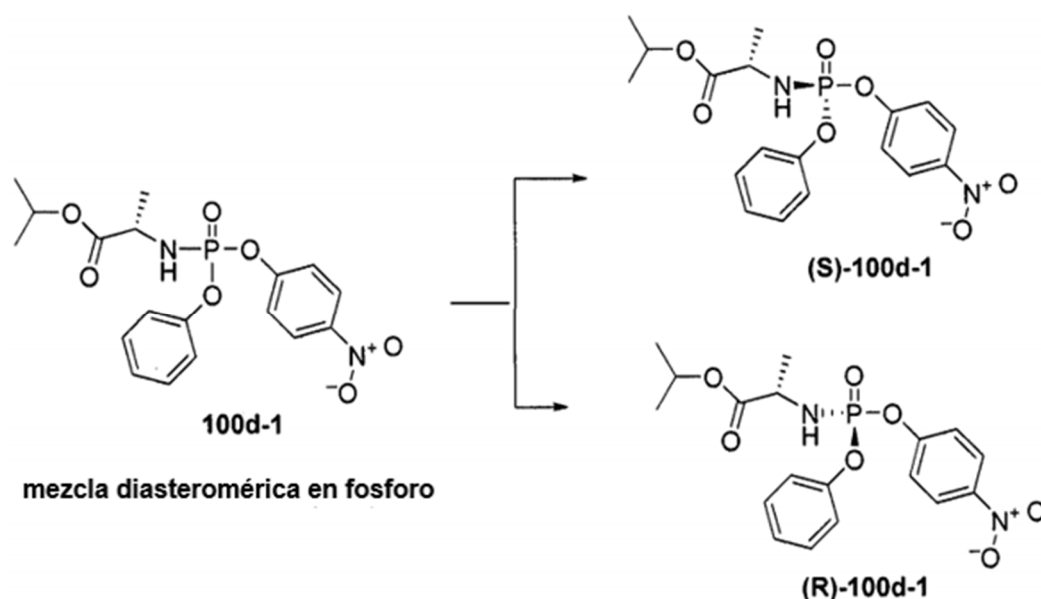
[0271]



[0272] El hidrocloreto de éster isopropílico de alanina (7,95 g, 47,4 mmol) se suspendió en diclorometano (100 ml). Se añadió el **Compuesto 100a** (10 g, 47,4 mmol). Luego se añadió gota a gota trietilamina (13,2 ml, 95 mmol) durante un período de 15 min. (temperatura de reacción interna; -10°C ~ -3°C). Cuando la reacción estuvo casi completa (por RMN de fósforo), se añadió p-nitrofenol (6,29 g, 45,0 mmol) como un sólido en una porción. A la suspensión resultante se le añadió trietilamina (6,28 ml, 45 mmol) durante un período de 15 min. La mezcla se calentó luego a temperatura ambiente. Cuando se completó la reacción, se añadió MTBE (100 ml). El precipitado blanco se eliminó por filtración. La torta del filtro se lavó con MTBE (3 x 50 ml). El filtrado y los lavados se combinaron y concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (0 a 50% acetato de etilo/hexanos), proporcionando el **Compuesto 100d-1** como una relación 1:1 de mezcla diastereomérica (14,1 g, 77%). ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ 8,22 (2d, 2H), 7,2-7,4 (m, 7H), 5,0 (m, 1H), 4,09 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 1,39 (2d, 3H), 1,22 (m, 6H). MS = 409,0 (M + H⁺), 407,2 (M - H⁺).

Separación de dos diastereómeros del Compuesto 100d-1

[0273]



[0274] Los dos diastereómeros se separaron por cromatografía en columna quiral en las siguientes condiciones;

Columna: Chiralpak IC, 2 x 25 cm

Sistema de disolvente: 70% de heptano y 30% de isopropanol (IPA)

Velocidad de flujo: 6 ml/min.

Volumen de carga por ejecución: 1,0 ml

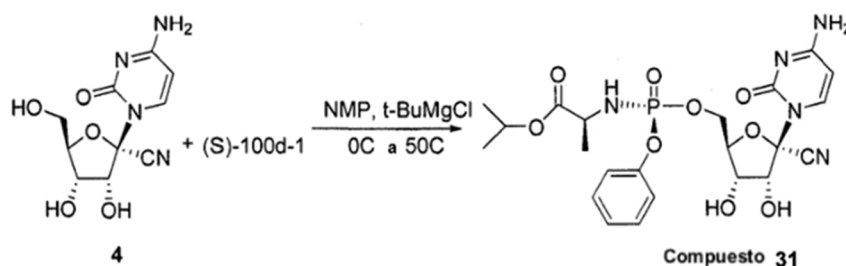
Concentración de muestra de carga: 150 mg/ml en 70% de heptano y 30% de IPA

Compuesto (S)-100d-1: tiempo de retención 43 min. ^{31}P RMN (162,1 MHz, CDCl_3): δ - 2,99(s). **Compuesto (R)-100d-1**: tiempo de retención 62 min. ^{31}P RMN (162,1 MHz, CDCl_3): δ -3,02 (s).

[0275] Alternativamente, los dos diastereómeros se separaron por cristalización bajo el siguiente procedimiento;

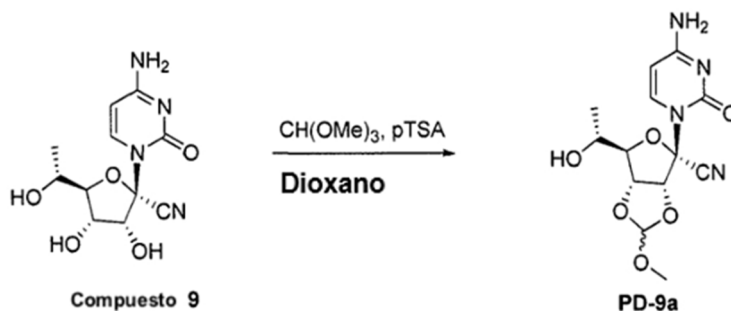
[0276] El **Compuesto 100d-1** se disolvió en éter dietílico (~10 ml/gramo). Mientras se agitaba, se agregaron hexanos hasta que la solución se volvió turbia. Se añadieron cristales de semillas (~10 mg/gramo de **Compuesto (S)-100d-1**) para promover la cristalización. La suspensión resultante se agitó suavemente durante 16 h, se enfrió a ~0°C, se agitó durante 2 h adicionales y se filtró para recoger el material cristalino (rendimiento de recuperación del material cristalino 35% - 35%). El material cristalino contiene ~95% del **Compuesto (S)-100d-1** y ~5% del **Compuesto (R)-100d-1**. La recrystalización produjo 99% de (S)-isómero diastereoisómeramente puro.

Compuesto 31

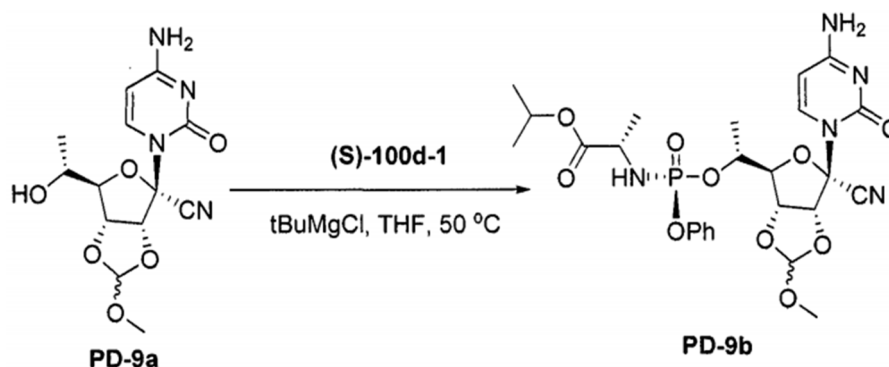


[0277] Una solución del **Compuesto 4** (50 mg, 0,188 mmol) en NMP (5 ml) se enfrió a 0°C bajo argón. A esto se agregó 3,5 eq. de t-BuMgCl gota a gota. A la suspensión resultante se añadió **Compuesto (S)-100d-1** (218 mg, 0,47 mmol) predisuelto en THF (3 ml) gota a gota. La reacción se calentó inmediatamente a 50°C y el progreso de la reacción se controló para su finalización por LCMS (45-60 minutos). Cuando se determinó que la reacción estaba completa, la reacción se enfrió, se añadieron 0,5 ml de cada agua y MeOH a la reacción, la reacción se filtró y se purificó por HPLC preparativa para proporcionar el **Compuesto (S)-31** (43 mg, 43% de rendimiento). MS $[M + H]^+ = 538,9$

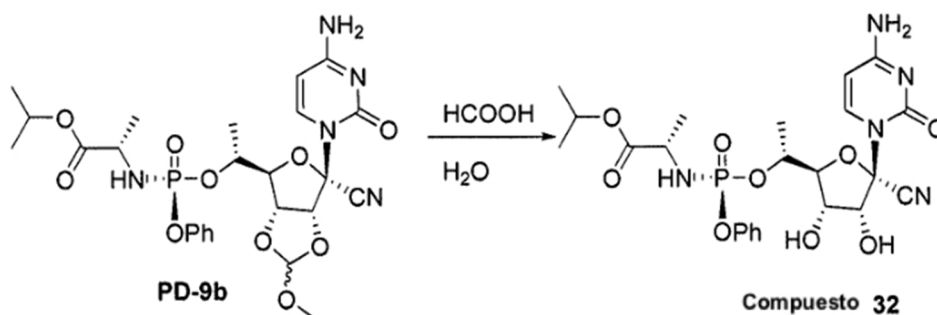
Compuesto 32



[0278] Una solución del **Compuesto 9** (148 mg, 0,52 mmol), monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (76 mg, 0,40 mmol) y formiato de trimetilorto (6 ml) en 1,4-dioxano (6 ml) se agitó a temperatura ambiente por 1,5 h. La reacción se neutralizó con trietilamina (0,06 ml) y el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se recogió en metanol (8 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice con un eluyente de metanol y trietilamina al 1% en diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó a presión para proporcionar el **Compuesto PD-9a** (143 mg, 84%).

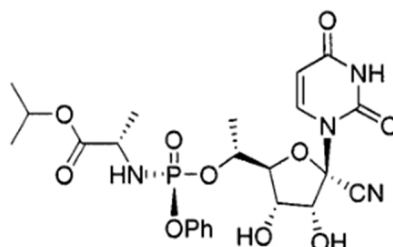


[0279] Una solución de cloruro de *tert*-butilmagnesio (0,23 ml, 0,23 mmol 1,0 M) en tetrahidrofurano se añadió a una solución de **Compuesto PD-9a** (50 mg, 0,15 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) en atmósfera de argón. Se formó un sólido blanco. Después de 30 minutos, se añadió una solución del **Compuesto (S)-100d-1** (126 mg, 0,31 mmol) en tetrahidrofurano (1 ml) y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 20 minutos, el sólido se había disuelto y la solución era amarilla. La reacción se enfrió a 0°C y se inactivó con metanol (1 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a cromatografía sobre gel de sílice con un eluyente de metanol en diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se combinaron y el disolvente se eliminó a presión para proporcionar el **Compuesto (S)-pD-9b** (76,8 mg, 83%).



[0280] Una solución del **Compuesto (S)-pD-9b** (76,8 mg, 0,13 mmol) en ácido fórmico (5 ml, 95%) y agua (1 ml) se agitó durante 20 minutos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se sometió a azeótropo con acetato de etilo. El residuo resultante se sometió a cromatografía de fase inversa con un eluyente de acetonitrilo y agua. Las fracciones que contenían el producto se combinaron. El disolvente se eliminó por liofilización para proporcionar el **Compuesto (S)-32** (8,3 mg, 31%). ¹H-RMN (400 MHz, DMSO): δ 7,92 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,35 (t, J = 8,0 Hz, 2H), 7,16 (m, 3H), 6,72 (d, J = 5,2 Hz, 1H), 6,04 (dd, J_1 = 10,0 Hz, J_2 = 13,2 Hz, 1H), 5,68 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,27 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,83 (m, 2H), 4,22 (m, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,75 (m, 1H), 1,38 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,18 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 1,11 (m, 6H). ³¹P-RMN (400 MHz, DMSO): δ 3,22 (s). MS = 552,0 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 2,52 min.

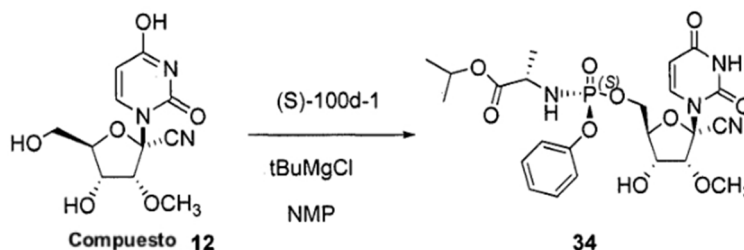
Compuesto 33



Compuesto 33

[0281] El **Compuesto (S)-33** se preparó siguiendo el procedimiento para el **Compuesto (S)-32** excepto que se usó el **Compuesto 8** como material de partida. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO): δ 11,53 (d, 18 Hz), 7,91 (m, 1 H), 7,30 (m, 2H), 7,12 (m, 3H), 6,74 (d, J = 6,0 Hz, 1H), 5,97 (m, 1H), 5,32 (m, 2H), 4,78 (m, 2H), 4,32 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 3,89 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 1,31 (m, 3H), 1,47 (m, 3H), 1,07 (m, 6H). ³¹P-RMN (400 MHz, DMSO): δ 3,52 (s). MS = 553,3 (M + H⁺). Tiempo de retención de LC/MS en un método de LC/MS de 6,0 minutos (columna Polar RP) = 2,76 min.

Compuesto 34

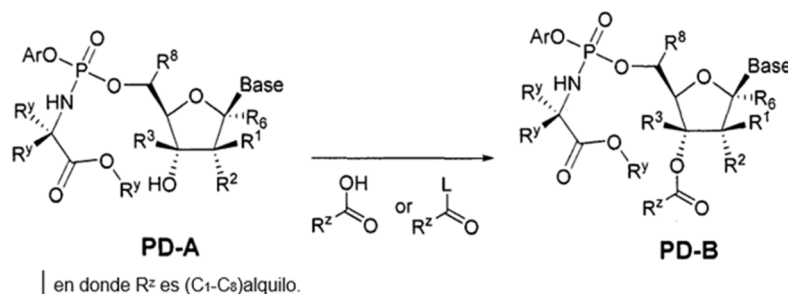


[0282] Una solución del **Compuesto 12** (10 mg, 0,035 mmol) en NMP (1 ml) se enfrió a 0°C usando un baño de hielo. A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución de t-BuMgCl en THF (0,12 ml, 1,0 M). Luego se añadió gota a gota a la mezcla de reacción una solución del **Compuesto (S)-100d-1** (22 mg, 0,053 mmol) en THF (1 ml). La mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Después, la solución se inactivó con H₂O (2 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa (30-60% CH₃CN en H₂O para dar el **Compuesto (S)-34** (1 mg, 10%). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ 7,86 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 7,9 Hz, 2H), 7,28 - 7,11 (m, 3H), 5,59 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 4,95 (dt, J = 12,5, 6,2 Hz, 1H), 4,52 (dd, J = 10,8, 5,9 Hz, 1H), 4,42 - 4,21 (m, 2H), 4,02 (dd, J = 9,7, 4,9 Hz, 1H), 3,89 (dt, J = 17,4, 7,3 Hz, 1H), 3,78 (s, 3H), 1,41 - 1,12 (m, 10H). MS = 553 (M + H⁺). ³¹P RMN (162,1 MHz, CDOD): δ 4,03(s). Tiempo de retención LC/MS en un método LC/MS de 3,5 minutos (columna Polar RP) = 2,04 min.

Procedimiento general para la preparación de un profármaco de nucleósidos Tipo PD-B:

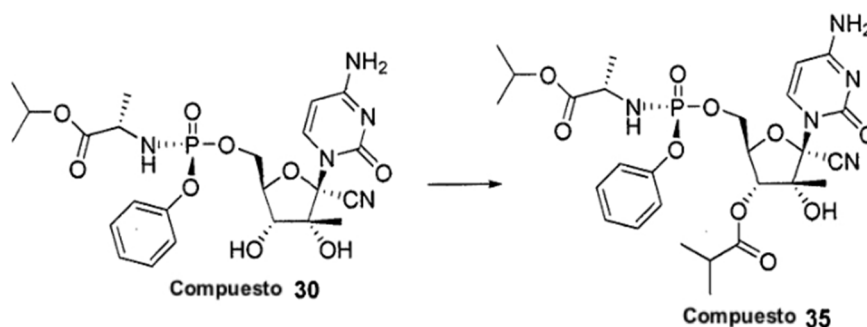
[0283] Los ejemplos no limitantes de profármacos de mono-fosforamidato 3'-O-acilado que comprenden la presente invención pueden prepararse de acuerdo con el esquema general 5.

Esquema 5



[0284] El procedimiento general comprende la reacción del **Compuesto PD-A** (R₄ = OH) con un ácido carboxílico o un carboxilato activado tal como un cloruro de acilo o un anhídrido de ácido, que generalmente conocen los expertos en la técnica (Journal of Medicinal Chemistry, 2006, 49, 6614 y Organic Letters, 2003, 6, 807). Cuando R⁸ = NH₂, puede ser necesaria la protección del grupo amino. Brevemente, a una solución del **Compuesto PD-A** en acetonitrilo (2 ml) se agrega N,N-dimetilformamida dimetil acetal (~1,1 eq.) y se agita a temperatura ambiente durante 1 h. Una vez completada la protección del grupo 6-amino, la mezcla se concentra hasta sequedad. Al residuo se le agrega un agente deshidratante tal como DCC (~4 eq.), acetonitrilo y un ácido carboxílico (~2 eq.). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24-48 h. Se añaden agua (0,2 ml) y ácido trifluoroacético (0,1 ml) a 0°C y se agitan a temperatura ambiente durante 64 h. Se añadió bicarbonato de sodio a 0°C. La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 0,5 h y se filtra. El filtrado se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el **Compuesto PD-B**. Si se utiliza un cloruro de acilo o un anhídrido ácido, se agrega una base adecuada, tal como trietilamina, en lugar de un agente deshidratante.

Compuesto 35

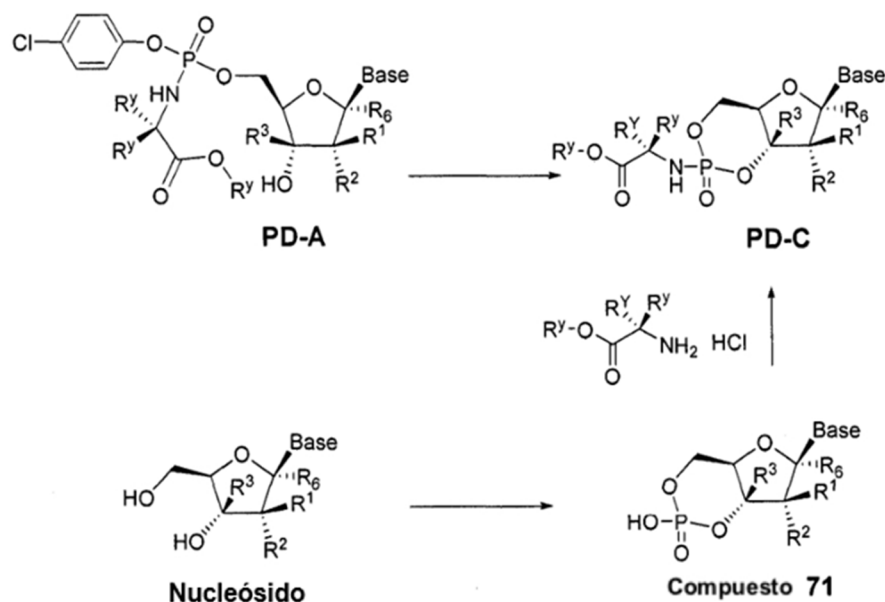


[0285] A una solución del **Compuesto (S)-30** (34 mg, 0,062 mmol) en THF (0,8 mL) bajo una atmósfera de argón a temperatura ambiente se le añadió *N,N*-dimetilformamida-dimetilacetil (8,2 µl, 0,062 mmol). Después de 8 h, se añadió una *N,N*-dimetilformamida-dimetilacetil adicional (10 ml) y se agitó durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró. La reacción se recogió en DCM y se concentró. Este proceso fue repetido dos veces. El residuo resultante se recogió en THF (0,8 ml) y se enfrió a 0°C bajo una atmósfera de argón. A la solución se le añadió trietilamina (11 µl, 0,075 mmol) y DMAP (0,4 mg, 0,003 mmol). Después de 5 minutos, se añadió cloruro de isobutirilo (7,4 µl, 0,07 mmol). Después de 30 minutos, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se enfrió a 0°C, se inactivó con una solución de TFA al 5% en agua y luego se dejó agitar a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla resultante se neutralizó con bicarbonato de sodio sólido, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por RP HPLC (acetonitrilo/agua), proporcionando el **Compuesto (S)-35** (32 mg, 83%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 7,96 (br s, 1H), 7,76 (d, 1H), 7,13-7,32 (m, 5H), 6,29 (br s, 1H), 5,94 (s, 1H), 5,87 (d, 1H), 5,00 (m, 2H), 4,48-4,58 (m, 2H), 4,29 (m, 1H), 3,88-4,05 (m, 2H), 2,67 (m, 1H), 1,39 (d, 3H), 1,22 (12H), 1,02 (s, 3H). ³¹P RMN (161 MHz, CDCl₃): δ 3,20 (s). LC/MS = 622 (M + H⁺).

Procedimiento general para la preparación de un profármaco de nucleósidos Tipo PD-C:

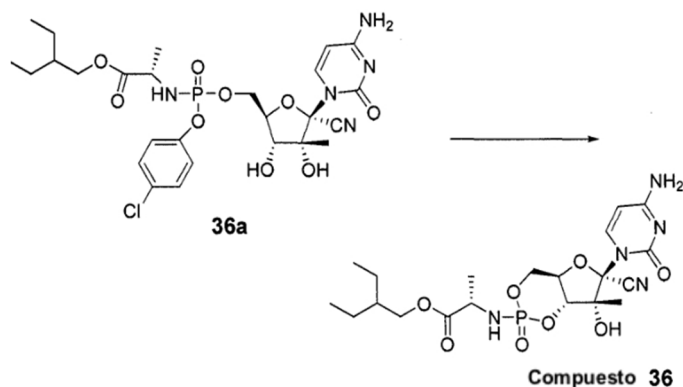
[0286] Ejemplos no limitantes de los profármacos de mono-fosoramidato 3',5-cíclicos que comprenden la presente invención pueden prepararse de acuerdo con el Esquema general 6.

Esquema 6



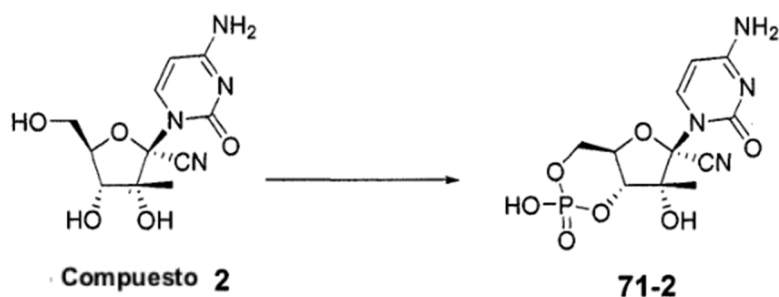
[0287] El Esquema 6 ilustra procesos químicos que pueden ser útiles para la preparación del **Compuesto PD-C**. En consecuencia, el **Compuesto PD-A** se convierte en el **Compuesto PD-C** en presencia de una base cuando Ar se sustituye con un grupo p-nitro o p-cloro que retira electrones (European Journal of Medicinal Chemistry, 2009, 44, 3769). Alternativamente, un **Nucleósido** se convierte en un **Compuesto 71** de fosfato cíclico de acuerdo con Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2007, 17, 2452, que luego se acopla con una sal de éster de aminoácido para formar el **Compuesto PD-C**.

Compuesto 36

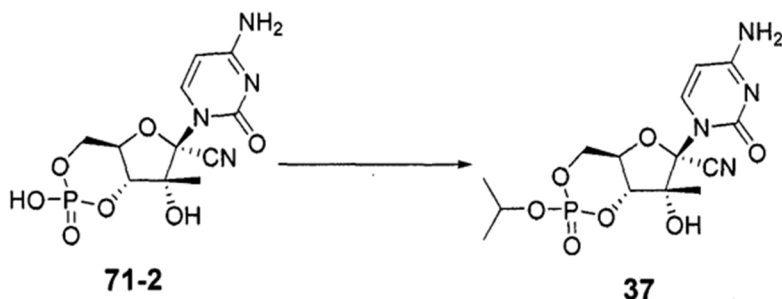


[0288] Una solución del **Compuesto 36a** en DMSO se trata a temperatura ambiente con *t*-butoxido de potasio (~1 eq.) y la mezcla resultante se agita durante aproximadamente 10 minutos. a aproximadamente 2 h. La mezcla se enfría luego a 0°C y se neutraliza con HCl 1N a ~ pH 6. La mezcla se purifica por HPLC para proporcionar el **Compuesto 36**. El **Compuesto 36a** intermedio se obtiene mediante el método genral para la preparación del **Compuesto PD-A** de tipo profármaco, comenzando con el **Compuesto 100a** (ArO = 4-clorofenol), el **Compuesto 100b** (éster 2'-etilbutilo de clorhidrato de alanina) y el **Compuesto 2**.

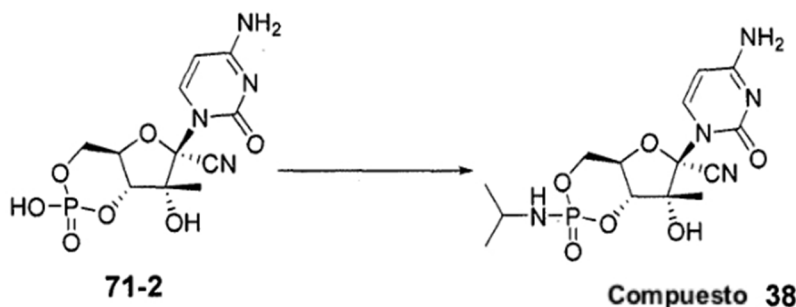
Compuesto 37



[0289] El **Compuesto 2** se disuelve en PO(OMe)₃ (solución 0,1 - 0,5 M) y se enfría a 0°C bajo argón. A esta solución de agitación se agrega POCl₃ (1,0 - 5,0 eq.) gota a gota, y la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente durante aproximadamente 2-16 h. La solución resultante se agrega gota a gota a una solución de acetonitrilo que se agita rápidamente y KOH acuoso 0,05 - 0,5 M. Cuando se completa la adición, los solventes se eliminan bajo presión reducida. El residuo resultante se disuelve en agua y se purifica por HPLC para dar **Compuesto 71-2**.

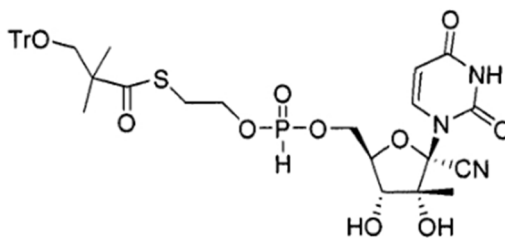


[0290] Una solución del **Compuesto 71-2** en DCM y PO(OMe)₃ se prepara y se enfría a 0°C. A esta solución se agrega cloruro de oxalilo (1,0 - 5,0 eq.) Seguido de una cantidad catalítica de DMF. La mezcla se deja agitar durante aproximadamente 10 minutos. a aproximadamente 1h. Cuando se completa la activación, se agrega un gran volumen de 2-propanol a la mezcla de reacción y se deja agitar y calentar a temperatura ambiente. Los disolventes se eliminan a presión reducida, y el material bruto resultante se purifica por HPLC preparativa para dar el **Compuesto 37**. **Compuesto 38**



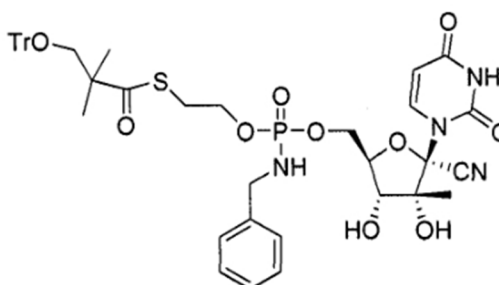
[0291] El **Compuesto 38** se prepara a partir del **Compuesto 71-2** en una materia similar a la del **Compuesto 37** sustituyendo 2-aminopropano por 2-propanol.

Compuesto 39

**Compuesto 39**

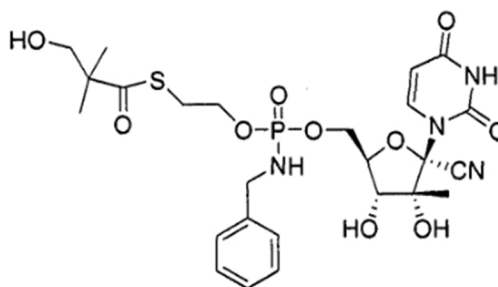
[0292] Una mezcla de alrededor de 1,25 mmol de **Compuesto 1** y alrededor de 1,9 mmol de trietilamonio 2-(2,2-dimetil-3-(tritoloxi)propanoiltio) fosfinato de etilo (WO2008082601) se disuelve en piridina anhidra (aproximadamente 19 ml). Se agrega cloruro de pivaloilo (aproximadamente 2,5 mmol) gota a gota a aproximadamente -30 a aproximadamente 0°C y la solución se agita durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 24 horas. La reacción se diluye con cloruro de metileno y se neutraliza con cloruro de amonio acuoso (aproximadamente 0,5 M). La fase de diclorometano se evapora y el residuo se seca y se purifica por cromatografía para dar el **Compuesto 39**.

Compuesto 40

**Compuesto 40**

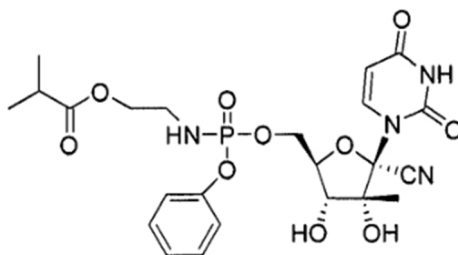
[0293] A una solución de aproximadamente 0,49 mmol del **Compuesto 39** en tetracloruro de carbono anhidro (aproximadamente 5 ml) se agrega gota a gota bencilamina (aproximadamente 2,45 mmol). La mezcla de reacción se agita durante aproximadamente una a aproximadamente 24 horas. El disolvente se evapora y el residuo se purifica por cromatografía para dar el **Compuesto 40**.

Compuesto 41

**Compuesto 41**

[0294] Una solución de aproximadamente 2 mmol del **Compuesto 40** en diclorometano (aproximadamente 10 ml) se trata con una solución acuosa de ácido trifluoroacético (90%, aproximadamente 10 ml). La mezcla de reacción se agita a aproximadamente 25 a aproximadamente 60°C durante aproximadamente una a aproximadamente 24 horas. La mezcla de reacción se diluye con etanol, los volátiles se evaporan y el residuo se purifica por cromatografía para dar el **Compuesto 41**.

Compuesto 42



Compuesto 42

[0295] Sobre 90 mM **Compuesto 1** en THF se enfría a aproximadamente -78°C y aproximadamente 2,2 a aproximadamente 5 equivalentes de *t*-butil-magnesium cloruro (aproximadamente 1 M en THF) se añade. La mezcla se calienta a aproximadamente 0°C durante aproximadamente 30 minutos y se enfría nuevamente a aproximadamente -78°C . Se agrega gota a gota una solución de 2-[[clor(1-fenoxi)fosforil]amino]etil isobutirato (WO2008085508) (1 M en THF, aproximadamente 2 equivalentes). El enfriamiento se elimina y la reacción se agita durante aproximadamente una a aproximadamente 24 horas. La reacción se apaga con agua y la mezcla se extrae con acetato de etilo. Los extractos se secan y se evaporan y el residuo se purifica por cromatografía para dar el **Compuesto 42**.

Actividad antiviral

[0296] Otro aspecto de la invención se refiere a compuestos para uso en métodos de inhibición de las infecciones virales, que comprende la etapa de tratar una muestra o sujeto sospechoso de tener dicha inhibición con una composición de la invención.

[0297] Dentro del contexto de la invención, las muestras sospechosas de contener un virus incluyen materiales naturales o artificiales tales como organismos vivos; cultivos de tejidos o células; muestras biológicas tales como muestras de material biológico (sangre, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, esputo, saliva, muestras de tejido y similares); muestras de laboratorio; muestras de comida, agua o aire; muestras de bioproductos tales como extractos de células, particularmente células recombinantes que sintetizan una glicoproteína deseada; y similares. Típicamente, se sospechará que la muestra contiene un organismo que induce una infección viral, con frecuencia un organismo patógeno como un virus tumoral. Las muestras pueden estar contenidas en cualquier medio incluyendo agua y mezclas de solvente orgánico/agua. Las muestras incluyen organismos vivos como los humanos y materiales hechos por el hombre como los cultivos celulares.

[0298] Si se desea, la actividad antiviral de un compuesto de la invención después de la aplicación de la composición se puede observar mediante cualquier método que incluya métodos directos e indirectos para detectar dicha actividad. Se contemplan métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para determinar dicha actividad. Normalmente, se aplica uno de los métodos de detección descritos anteriormente, sin embargo, cualquier otro método, como la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo, también es aplicable. La actividad antiviral de un compuesto de la invención se puede medir usando protocolos de detección estándar que se conocen. Por ejemplo, la actividad antiviral de un compuesto se puede medir usando los siguientes protocolos generales.

Ensayo de inmunodetección de flavivirus basado en células

[0299] Las células BHK21 o A549 se trataron con tripsina, se contaron y se diluyeron a 2×10^5 células/ml en medios Hams F-12 (células A549) o medio RPMI-1640 (células BHK21) suplementado con 2% de suero bovino fetal (FBS) y 1 % penicilina/estreptomicina. 2×10^4 células se dispensan en placas claras de cultivo de tejidos de 96 pocillos por pocillo y se colocaron a 37°C , 5% de CO_2 durante la noche. Al día siguiente, las células se infectan con virus con una multiplicidad de infección (MOI) de 0,3 en presencia de concentraciones variadas de compuestos de prueba durante 1 hora a 37°C y 5% de CO_2 durante otras 48 horas. Las células se lavan una vez con PBS y se fijan con metanol frío durante 10 minutos. Después de lavar dos veces con PBS, las células fijas se bloquean con PBS que contiene FBS al 1% y Tween-20 al 0,05% durante 1 hora a temperatura ambiente. La solución de anticuerpo primario (4G2) se agrega luego a una concentración de 1:20 a 1:100 en PBS que contiene 1% de FBS y 0,05% de Tween-20 durante 3 horas. Luego se lavan las células tres veces con PBS seguido de una incubación de una hora con IgG anti-ratón conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Sigma, dilución 1:2000). Después de lavar tres veces con PBS, se añaden 50 microlitros de solución de sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) (Sigma) a cada pocillo durante dos minutos. La reacción se detiene mediante la adición de ácido sulfúrico 0,5 M. Las placas se leen a una absorbancia de 450 nm para la cuantificación de la carga viral. Después de la medición, las células se lavan tres veces con PBS seguido de incubación con yoduro de propidio durante 5 minutos. La placa se lee en un lector Tecan Safire™ (excitación 537 nm, emisión 617 nm) para la cuantificación del número de células. Las curvas de respuesta a la dosis se trazan a partir de la absorbancia media frente al logaritmo de la concentración de los compuestos de prueba. La CE_{50} se calcula mediante análisis de regresión no lineal. Se puede usar un control positivo tal como N-nonil-desooxinojirimicina.

Ensayo de efecto citopático del flavivirus basado en células

[0300] Para la prueba contra el virus del Nilo Occidental o el virus de la encefalitis japonesa, las células BHK21 se tripsinizan y se diluyen a una concentración de 4×10^5 células/ml en medio RPMI-1640 suplementado con FBS al 2% y penicilina/estreptomicina al 1%. Para la prueba contra el virus del dengue, las células Huh7 se tripsinizan y se diluyen a una concentración de 4×10^5 células/ml en medio DMEM suplementado con 5% de FBS y 1% de penicilina/estreptomicina. Se dispensan 50 microlitros de suspensión celular (2×10^4 células) por pocillo en placas con base de polímero PIT de fondo óptico de 96 pocillos (Nunc). Las células se cultivan durante la noche en medio de cultivo a 37°C, 5% de CO₂, y luego se infectan con el virus del Nilo Occidental (por ejemplo, la cepa B956) o el virus de la encefalitis japonesa (por ejemplo, la cepa de Nakayama) a MOI = 0,3, o con el virus del dengue (p. ej., cepa DEN-2 NGC) a MOI = 1, en presencia de diferentes concentraciones de compuestos de prueba. Las placas que contienen el virus y los compuestos se incuban adicionalmente a 37°C, 5% de CO₂ durante 72 horas. Al final de la incubación, se añaden 100 microlitros de reactivo CellTiter-Glo™ a cada pocillo. El contenido se mezcla durante 2 minutos en un agitador orbital para inducir la lisis celular. Las placas se incuban a temperatura ambiente durante 10 minutos para estabilizar la señal luminiscente. La lectura de luminiscencia se registra utilizando un lector de placas. Se puede usar un control positivo tal como N-nonil-desoxojirimicina.

Actividad antiviral en un modelo de ratón de infección por dengue

[0301] Los compuestos se ensayan *in vivo* en un modelo de ratón de infección por el virus del dengue (Schul et al J. Infectious Dis 2007; 195: 665-74). Se alojan ratones AG129 de seis a diez semanas (B&K Universal Ltd, HIL, Reino Unido) en jaulas ventiladas individualmente. Los ratones se inyectan intraperitonealmente con 0,4 ml de suspensión de virus dengue TSV01 2. Se toman muestras de sangre mediante punción orbital retro bajo anestesia con isoflurano. Las muestras de sangre se recogen en tubos que contienen citrato de sodio a una concentración final del 0,4%, y se centrifugan inmediatamente durante 3 minutos a 6000 g para obtener plasma. El plasma (20 microlitros) se diluye en medio RPMI-1640 de 780 microlitros y se congela rápidamente en nitrógeno líquido para el análisis del ensayo en placa. El plasma restante se reserva para la determinación del nivel de citocinas y proteínas NS1. Los ratones desarrollan viremia por dengue que se eleva durante varios días, alcanzando su punto máximo el día 3 después de la infección.

[0302] Para ensayar la actividad antiviral, un compuesto de la invención se disuelve en fluido de vehículo, por ejemplo, etanol al 10%, PEG 300 al 30% y D5W al 60% (dextrosa al 5% en agua; o HCl 6N (1,5 eq): 1N NaOH (pH ajustado a 3,5): tampón de citrato 100 mM pH 3,5 (0,9% v/v: 2,5% v/v: 96,6% v/v) Treinta y seis ratones AG129 de 6-10 semanas de edad se dividen en seis grupos de seis ratones cada uno. Todos los ratones están infectados con el virus del dengue como se describió anteriormente (día 0). El grupo 1 se dosifica por sonda oral de 200 ml/ratón con 0,2 mg/kg de un compuesto de la invención dos veces al día (una vez temprano en la mañana y una vez al final de la tarde) durante tres días consecutivos a partir del día 0 (primera dosis justo antes de la infección por dengue). Los grupos 2, 3 y 4 se dosifican de la misma manera con 1 mg/kg, 5 mg/kg y 25 mg/kg del compuesto, respectivamente. Puede usarse un control positivo, tal como (2R, 3R, 4R, 5R)-2-(2-amino-6-hidroxi-purin-9-il)-5-hidroxi-metil-3-metil-tetrahydrofurano-3,4-diol, dosificado por sonda oral de 200 microlitros/ratón de la misma manera que los grupos anteriores. Un grupo adicional se trata solo con líquido vehicular.

[0303] En el día 3 después de la infección, se toman aproximadamente 100 microlitros de muestras de sangre (anticoaguladas con citrato de sodio) de los ratones mediante punción retroorbital bajo anestesia con isoflurano. El plasma se obtiene de cada muestra de sangre por centrifugación y se congela en nitrógeno líquido para el análisis de plagas. Las muestras de plasma recolectadas se analizan mediante un ensayo de peste como se describe en Schul et al. Las citocinas también se analizan según lo descrito por Schul. Los niveles de proteína NS1 se analizan usando un kit Platelia™ (BioRad Laboratories). Un efecto antiviral está indicado por una reducción en los niveles de citoquinas y/o niveles de proteína NS1.

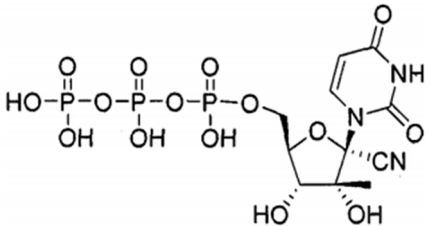
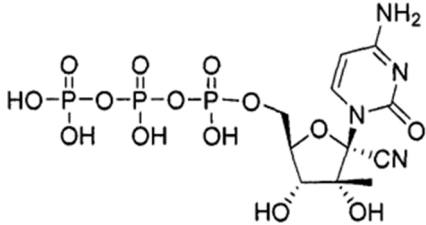
[0304] Típicamente, se obtienen reducciones en la viremia de aproximadamente 5-100 veces, más típicamente 10-60 veces, más típicamente 20-30 veces, con dosis de 5-50 mg/kg dos veces al día de los compuestos de la invención.

Determinación de HCV CI₅₀

[0305] Protocolo de ensayo: Ninguno de tipo salvaje o S282T (Migliaccio, et al, J. Biol. Chem. 2003, 49164 a 49170; Klumpp, et al, J. Biol Chem 2006, 3,793 a 3799) polimerasa mutante enzima se utilizó en este ensayo. Ensayo de la polimerasa NS5b (40 µl) se ensambló mediante la adición de 28 µl de mezcla de polimerasa (concentración final: 50 mM Tris-HCl a pH 7,5, KCl 10, 5 mM MgCl₂, DTT 1 mM, EDTA 10 mM, 4 ng/ml de plantilla de ARN y 75 nM VHC Δ21 NS5b polimerasa) a las placas de ensayo seguido de 4 µl de dilución del compuesto. La polimerasa y el compuesto se pre-incubaron a 35°C durante 10 minutos antes de la adición de 8 µl de mezcla de sustrato de nucleótidos (33P-γ-marcado con nucleótidos que compiten en K_M y 0,5 mM de los tres nucleótidos restantes). Las placas de ensayo se cubrieron y se incubaron a 35°C durante 90 min. Las reacciones se filtraron luego a través de placas de filtro DEAE-81 de 96 pocillos mediante vacío. A continuación, las placas de filtro se lavaron bajo vacío con múltiples volúmenes

de 0,125 M NaHPO₄, agua, y etanol para eliminar el marcador no incorporado. Luego se contaron las placas en TopCount para evaluar el nivel de síntesis del producto sobre los controles de fondo. El valor CI₅₀ se determina utilizando el programa de ajuste Prism.

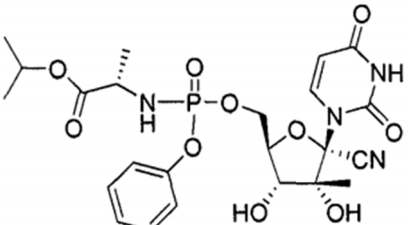
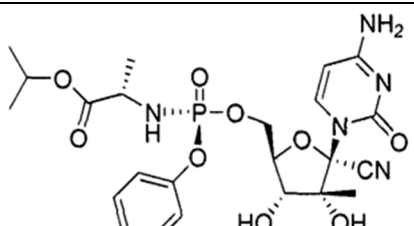
- 5 **[0306]** Preferiblemente, los compuestos descritos en este documento inhibieron la polimerasa NS5b con CI₅₀ por debajo de 1000 µM, más preferiblemente por debajo de 100 µM, y lo más preferiblemente por debajo de 10 µM. Los datos para los compuestos representativos se encuentran en la siguiente Tabla.

Compuesto nº	Estructura	CI ₅₀ , µM
27		27
28		18

Determinación de HCV CE₅₀

[0307] Las células de replicón se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 8 x 10³ células por pocillo en 100 µL de medio de cultivo, con exclusión de Geneticina. El compuesto se diluyó en serie en DMSO al 100% y luego se agregó a las células a una dilución 1:200, logrando una concentración final de DMSO al 0,5% y un volumen total de 200 µL. Las placas se incubaron a 37°C durante 3 días, después de qué medio de cultivo se eliminó y las células se lisaron en tampón de lisis proporcionado por el sistema de ensayo de luciferasa de Promega. Siguiendo las instrucciones del fabricante, se añadieron 100 ml de sustrato de luciferasa a las células lisadas y se midió la actividad de luciferasa en un luminómetro TopCount. Preferiblemente, los compuestos descritos aquí tienen CE₅₀ por debajo de 1000 µM, más preferiblemente por debajo de 100 µM, y lo más preferiblemente por debajo de 10 µM.

[0308] Los datos para compuestos representativos se muestran en la tabla a continuación.

Compuesto nº	Estructura	CE ₅₀ , µM
29		8,2
30		2,6

Ensayo de biogénesis mitocondrial después del tratamiento de 5 días en células PC-3

[0309] Diluciones en serie de tres veces de compuestos se prepararon por duplicado en placas de 96 pocillos a partir de una concentración cerca del valor CC_{50} del compuesto después de tratamiento de 5 días. Para los compuestos con $CC_{50} \geq 100 \mu M$, la concentración inicial fue de $100 \mu M$. Las células PC-3 se sembraron a una densidad de $2,5 \times 10^3$ células por pocillo en un volumen de ensayo final de $100 \mu L$ por pocillo con una cantidad constante de DMSO igual al 0,5%. Después de 5 días de incubación, las células se analizaron con kit de MitoBiogenesis™ In-Cell ELISA (catálogo n° MS642) de MitoSciences, que utiliza inmunocitoquímica cuantitativa para medir los niveles de proteína de los complejos II y IV en células cultivadas. Las células se fijaron en una placa de 96 pocillos y las proteínas diana se detectaron con anticuerpos monoclonales altamente específicos y bien caracterizados. Los niveles de proteína se cuantificaron con anticuerpos secundarios marcados con IRDye®. La imagen y cuantificación IR se realizó utilizando un instrumento Odyssey LI-COR®. Todas las relaciones se expresaron como un porcentaje del control de DMSO al 0,5%. En los casos en que la viabilidad celular se vio gravemente afectada, los datos para la biogénesis mitocondrial no se incluyeron para el análisis debido a errores significativos asociados con señales bajas. Se usó cloranfenicol como control positivo para el ensayo.

[0310] La citotoxicidad de un compuesto de la invención se puede determinar usando el siguiente protocolo general.

Ensayo de cultivo celular de citotoxicidad (determinación de CC_{50})

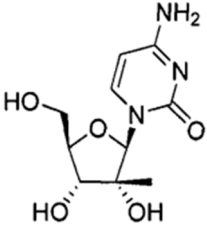
[0311] El ensayo se basa en la evaluación del efecto citotóxico de los compuestos ensayados utilizando un sustrato metabólico.

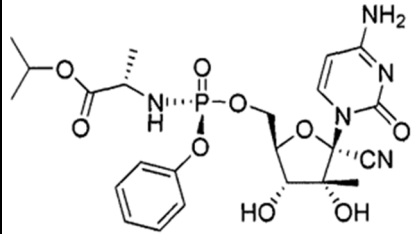
Protocolo de ensayo para la determinación de CC_{50} :

[0312]

1. Mantener las células MT-2 en medio RPMI-1640 suplementado con suero bovino fetal al 5% y antibióticos.
2. Distribuir las células en una placa de 96 pocillos (20.000 células en $100 \mu L$ de medio por pocillo) y agregar varias concentraciones del compuesto probado por triplicado ($100 \mu L$ /pocillo). Incluir control no tratado.
3. Incubar las células durante 5 días a $37^\circ C$.
4. Preparar la solución XTT (6 ml por placa de ensayo) en oscuridad a una concentración de 2 mg/ml en una solución salina tamponada con fosfato pH 7,4. Calentar la solución en un baño de agua a $55^\circ C$ durante 5 min. Añadir $50 \mu L$ de metasulfato N-metilfenazonio ($5 \mu g/mL$) por 6 ml de solución de XTT.
5. Retirar $100 \mu L$ de medio de cada pocillo en la placa de ensayo y agregar $100 \mu L$ de la solución de sustrato XTT por pocillo. Incubar a $37^\circ C$ durante 45 a 60 min en una incubadora de CO_2 .
6. Agregar $20 \mu L$ de Triton X-100 al 2% por pocillo para detener la conversión metabólica de XTT.
7. Leer la absorbancia a 450 nm restando el fondo a 650 nm.
8. Trazar el porcentaje de absorbancia en relación con el control no tratado y calcule el valor de CC_{50} como la concentración del fármaco que resulta en una inhibición del 50% del crecimiento celular. Considerar que la absorbancia es directamente proporcional al crecimiento celular.

[0313] Se ha observado que los análogos de nucleósidos con R^6 como se reivindica actualmente pueden tener una selectividad celular mejorada sobre sus contrapartes con $R^6 = H$. Como se muestra en la tabla a continuación, los compuestos estructuralmente estrechamente relacionados con el **Compuesto A** ($R^6 = H$) y el **Compuesto 30** ($R^6 = CN$) tenía el mismo nivel de actividad antiviral, donde el **Compuesto A** mostró CE_{50} de $2,5 \mu M$ y el **Compuesto 30** hizo CE_{50} de $2,6 \mu M$. Sin embargo, la toxicidad mitocondrial de estos dos compuestos fue sorprendentemente diferente uno de uno. El **Compuesto A** mostró una inhibición del 50% de los niveles de proteína mitocondrial a $43 \mu M$, mientras que el **Compuesto 30** no mostró ningún efecto inhibitor incluso a $100 \mu M$, que era una concentración máxima ensayada en el ensayo de Biogénesis Mitocondrial.

Compuesto n°	Estructura	HCV CE_{50} (μM)	CC_{50} (μM)
Cloranfenicol	-	-	2,5
A		2,5	43

Compuesto nº	Estructura	HCV CE50 (uM)	CC50 (µM)
30		2,6	Efecto no tóxico hasta 100 µM

Ensayos antigripales

[0314] Las células MDCK (Instituto Friedrich-Loeffler, Riems, Alemania) se cultivan en medio esencial mínimo Eagle (EMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10%, penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 U/ml. El medio aplicado en los ensayos de reducción de placa se formula con aproximadamente 2 µg/ml de tripsina y aproximadamente 1,2 mM de bicarbonato y no contiene suero.

[0315] A/Horneburg/IDT7489/08 y Brest/IDT490/08 se aíslan en huevos de gallina embrionados y en hisopos nasales obtenidos de cerdos con síntomas clínicos.

[0316] Existencias del virus de la gripe H1N1 A/PR/8/34 (Instituto de Virología, Universidad de Philipps, Marburg), el aislado humano H1N1 resistente al oseltamivir A/342/09 (Instituto Robert Koch, Berlín, Alemania) y los aislados porcinos H1N1 A/Belzig/2/01, A/Potsdam/15/81 (Dr. Schrader, Bundesinstitut für Risikoforschung, Berlín, Alemania), A/Horneburg/IDT7489/08 y Brest/IDT490/08 se propagan en células MDCK, alícuotadas y almacenadas a -80°C hasta su uso.

[0317] Inmediatamente antes de su uso, las reservas de compuestos se preparan en agua y se almacenan a 4°C. Las soluciones de reserva de compuestos se preparan en DMSO.

La citotoxicidad, así como la actividad antiviral de los compuestos de prueba, se determinan en monocapas de células MDCK de 3 días de edad como se describió previamente por Schmidtke (Antivir. Res. 2002, 55, 117-127). Brevemente, para determinar la CC₅₀, las monocapas de células confluentes cultivadas en placas de 96 pocillos se incuban con diluciones en serie de 2 veces (cada una por triplicado) del compuesto, un compuesto de prueba o estándar como el oseltamivir, durante 72 h (37°C, 5% de CO₂), luego las células se fijan y se tiñen con una solución cristalina de formalina violeta. Después de la extracción del colorante, la densidad óptica de los pocillos individuales se cuantifica espectrofotométricamente a 550/630 nm con un lector de microplacas. La viabilidad celular de los pocillos individuales tratados con compuestos se evalúa como el porcentaje del valor medio de la densidad óptica resultante de seis controles celulares simulados que se estableció al 100%. El CC₅₀ se define como la concentración del compuesto que reduce la viabilidad de los cultivos celulares no tratados en un 50%. Se calcula a partir de la curva dosis-respuesta media de dos ensayos independientes.

[0318] Se usa un ensayo de reducción de placa para pruebas antivirales con el virus de la gripe A/Puerto Rico/8/34 en células MDCK. Las monocapas celulares se inoculan con aproximadamente 70 unidades formadoras de placa (pfu) del virus y se superponen con agar al 0,4% suplementado con concentraciones de compuesto de 2 veces en serie; cada uno probado por duplicado. Un control celular no infectado, no tratado, así como tres controles de virus infectados no tratados se incluyen en todos los ensayos. Después de 48 h de incubación a 37°C, las placas se fijan y se tiñen con una solución cristalina de formalina violeta, se cuenta el número de placas inducidas por virus y se calcula la reducción de la placa inducida por el compuesto. La concentración requerida para reducir el número de placa en un 50% se calcula a partir de las curvas de dosis-respuesta media de al menos 2 ensayos independientes.

Ensayos anti-enterovirus

[0319] Los aislados de virus clínicos se pasan una vez en la línea celular utilizada para su aislamiento original para establecer reservas de virus funcionales y luego se almacenan como alícuotas en ampollas de vidrio a -80°C. Los enterovirus (EV) se propagan en células de rhabdomyosarcoma embrionario humano (RD) cultivadas en medio esencial mínimo (MEM) suplementado con 10% de suero bovino fetal inactivado por calor (FBS). Los aislamientos CVA9 y CVB se pasan en células LLC-MK_{2D} cultivadas en MEM más 5% de FBS. Los virus se analizan para determinar la sensibilidad a los medicamentos en la línea celular utilizada para su aislamiento original, con la excepción de los aislamientos de CVA9, que se analizan en células HeLa.

Ensayo del efecto citopático del virus

[0320] Las sensibilidades de los enterovirus a los compuestos de Fórmula I pueden determinarse en un ensayo de

cultivo celular que mide la protección por el fármaco de una monocapa celular infectada de los efectos citopáticos de los virus. Ejemplos de las cepas prototípicas de los 15 enterovirus aislados más comúnmente (Strikas, et al., J. Infect. Dis. 1986, 153, 346-351) se muestran en la Tabla II Sembraron placas de cultivo de tejidos de noventa y seis pocillos (Costar 3598) a una densidad de $2,8 \times 10^4$ células/pocillo para células HeLa (en MEM más 5% de FBS), $3,6 \times 10^4$ células/pocillo para células LLC-MK_{2D} (en MEM más 5% de FBS), o 6×10^4 células/pocillo para células RD (en MEM más 10% de FBS). Las células se incuban durante 24 h a 37°C en una atmósfera humidificada al 5% de CO₂ antes de su uso en el ensayo.

[0321] Para determinar el inóculo del virus en el ensayo, se colocan en placa diluciones en serie 0,5 log₁₀ de virus individuales en sus respectivas líneas celulares en medio 199 (M199) más FBS al 5% suplementado con MgCl₂ 30 mM y 15 µg de DEAE dextrano por ml (medio completo M199). Las placas se incuban durante 3 días y luego se fijan con glutaraldehído al 5% y se tiñen con cristal violeta al 0,1%. Después de enjuagarse y secarse, la densidad óptica de los pocillos a una longitud de onda de 570 nm (OD₅₇₀) se lee en un lector de placas Bio-Tek 300. La mayor dilución de virus que produce una lectura OD₅₇₀ de ≤15% del valor de control del cultivo celular se usa para las pruebas de sensibilidad a los medicamentos.

[0322] Para evaluar la sensibilidad al fármaco, las células en placas de 96 pocillos se infectan con la dilución de virus apropiada a 37°C en 150 µl de medio M199 completo. Durante el período de unión del virus de 1 h, los compuestos de Fórmula I se solubilizan en dimetilsulfóxido (DMSO) a 400 veces la concentración más alta que se analizará en el ensayo y luego se diluyen en serie dos veces en DMSO en polipropileno de 96 pocillos con fondo en placas U (Costar 3790) para producir 10 diluciones de compuestos. Luego se diluyen dos microlitros de las diluciones del compuesto DMSO en 198 µl de medio M199 completo para efectuar una dilución de compuesto de 100 veces. Después de la unión del virus, se añaden 50 µl de esta dilución de fármaco al inóculo de virus de 150 µl, dando como resultado una dilución final de 400 veces del compuesto en DMSO al 0,25%. Cada concentración compuesta se ejecuta por cuadruplicado. Las células no infectadas y las células que reciben virus en ausencia de compuesto se incluyen en cada placa. Las placas se incuban a continuación durante 3 días a 37°C en una atmósfera humidificada al 2,5% de CO₂ antes de la fijación y tinción. La concentración inhibitoria del 50% (CI₅₀) se define como la concentración de compuesto que protege al 50% de la monocapa celular del efecto citopático inducido por el virus.

Tabla 4: Enterovirus comúnmente aislados.

EV3 Morrissey
EV4 Pesacek
EV5 Noyce
EV6 D'Amori
EV7 Wallace
EV9 Hill
EV11 (Gregory)
EV24 (DeCamp)
EV30 (Bastianni)
CVA9 Bozek
CVB1 Conn-5
CVB2 Ohio-1
CVB3 Nancy
CVB3 M
CVB4 JVB
CVB5 Faulkner

Actividad antiviral del virus sincitial respiratorio (VSR) y ensayos de citotoxicidad actividad anti-VSR

[0323] La actividad antiviral contra RSV se determina usando un ensayo de citoprotección in vitro en células Hep2. En este ensayo, los compuestos que inhiben la replicación del virus exhiben un efecto citoprotector contra la muerte celular inducida por el virus que puede cuantificarse usando un reactivo de viabilidad celular. El método utilizado es similar a los métodos descritos previamente en la literatura publicada (Chapman et al., Antimicrob Agents Chemother. 2007, 51(9):3346-53.)

[0324] Las células Hep2 se obtienen de la ATCC (Manassas, VI) y se mantienen en medio MEM suplementado con suero bovino fetal al 10% y penicilina/estreptomicina. Las células se pasan dos veces por semana y se mantienen en una etapa subconfluente. Las existencias comerciales de RSV cepa A2 (Advanced Biotechnologies, Columbia, MD) se titulan antes de las pruebas de compuestos para determinar la dilución apropiada de existencias de virus que

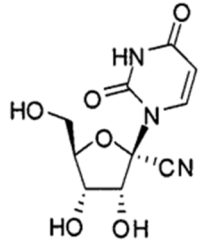
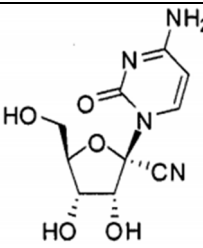
generan un efecto citopático deseable en las células Hep2.

[0325] Para las pruebas antivirales, las células Hep2 se siembran en placas de 96 pocillos 24 horas antes del ensayo a una densidad de 3.000 células/pocillo. En una placa separada de 96 pocillos, los compuestos a ensayar se diluyen en serie en medios de cultivo celular. Se preparan ocho concentraciones en incrementos de dilución en serie de 3 veces para cada compuesto probado y 100 µl/pocillo de cada dilución se transfieren por duplicado a placas con células Hep2 sembradas. Posteriormente, la dilución apropiada de existencias de virus previamente determinado por valoración se prepara en medios de cultivo celular y se añaden 100 µl/pocillo a las placas de prueba que contienen células y compuestos diluidos en serie. Cada placa incluye tres pocillos de células infectadas no tratadas y tres pocillos de células no infectadas que sirvieron como control de inhibición del virus al 0% y al 100%, respectivamente. Después de la infección con RSV, las placas de prueba se incuban durante 4 días en una incubadora de cultivo de tejidos. Después de la incubación, se determina el efecto citopático inducido por RSV usando un reactivo Cell TiterGlo (Promega, Madison, WI) seguido de una lectura de luminiscencia. El porcentaje de inhibición se calcula para cada concentración probada en relación con los controles de inhibición de 0% y 100% y el valor de CE50 para cada compuesto se determina por regresión no lineal como una concentración que inhibe el efecto citopático inducido por el RSV en un 50%. La ribavirina (comprada en Sigma, St. Louis, MO) se usa como control positivo para la actividad antiviral.

[0326] Los compuestos también se ensayaron para determinar la actividad antiviral contra RSV en células Hep2 usando un formato de 384 pocillos. Los compuestos se diluyeron en DMSO usando una dilución en serie de 10 pasos en incrementos de 3 veces mediante automatización en 4 réplicas adyacentes cada uno. Se ensayaron ocho compuestos por placa de dilución. Luego se estamparon 0,4 µL de compuestos diluidos a través de Biomek en placas de 384 pocillos (Nunc 142761 o 164730 con tapa 264616) que contenían 20 µl de medio (Mediatech Inc. MEM suplementado con Glutamina, FBS al 10% y Pen/Strep). Se usó DMSO y un compuesto de control positivo adecuado, tal como GS-329467 80 µM o 427346 10 µM para los controles de destrucción celular al 100% y 0%, respectivamente.

[0327] Las células Hep2 ($1,0 \times 10^5$ células/ml) se prepararon como anteriormente en lotes hasta un exceso de al menos 40 ml del número de placas de muestra (8 ml de mezcla de células por placa) y se infectaron con la cepa A2 de RSV suministrada por el proveedor (ABI) para llegar a un MOI de 1:1000 (virus: número de célula) o 1:3000 (vol. virus: vol. celular). Inmediatamente después de la adición del virus, se añadió la suspensión de células Hep2 infectadas con RSV a cada placa estampada de 384 pozos a 20 µl por pozo usando un dispensador uFlow, dando un volumen final de 40 µl/pozo, cada uno con 2000 células infectadas. Las placas fueron incubadas durante 5 días a 37°C y 5% de CO₂. Después de la incubación, las placas se equilibraron a temperatura ambiente en una campana de gabinete de bioseguridad durante 1,5 horas y se agregaron a cada pocillo 40 µl de reactivo de viabilidad CellTiter Glo (Promega) a través de uFlow. Después de una incubación de 10-20 minutos, las placas se leyeron usando un lector de placas EnVision o Victor Luminescence (Perkin-Elmer). Luego, los datos se cargaron y analizaron en el portal de Bioinformática bajo los protocolos RSV Cell Infectivity y 8-plate EC50-Hep2-384 u 8-plate EC50-Hep2-Envision.

[0328] La actividad representativa para los compuestos de la invención contra los efectos citopáticos inducidos por RSV usando el método de 384 pocillos se muestra en la Tabla a continuación.

Compuesto nº	Estructura	CE ₅₀ , µM
3		10,865
4		11,302

(continúa)

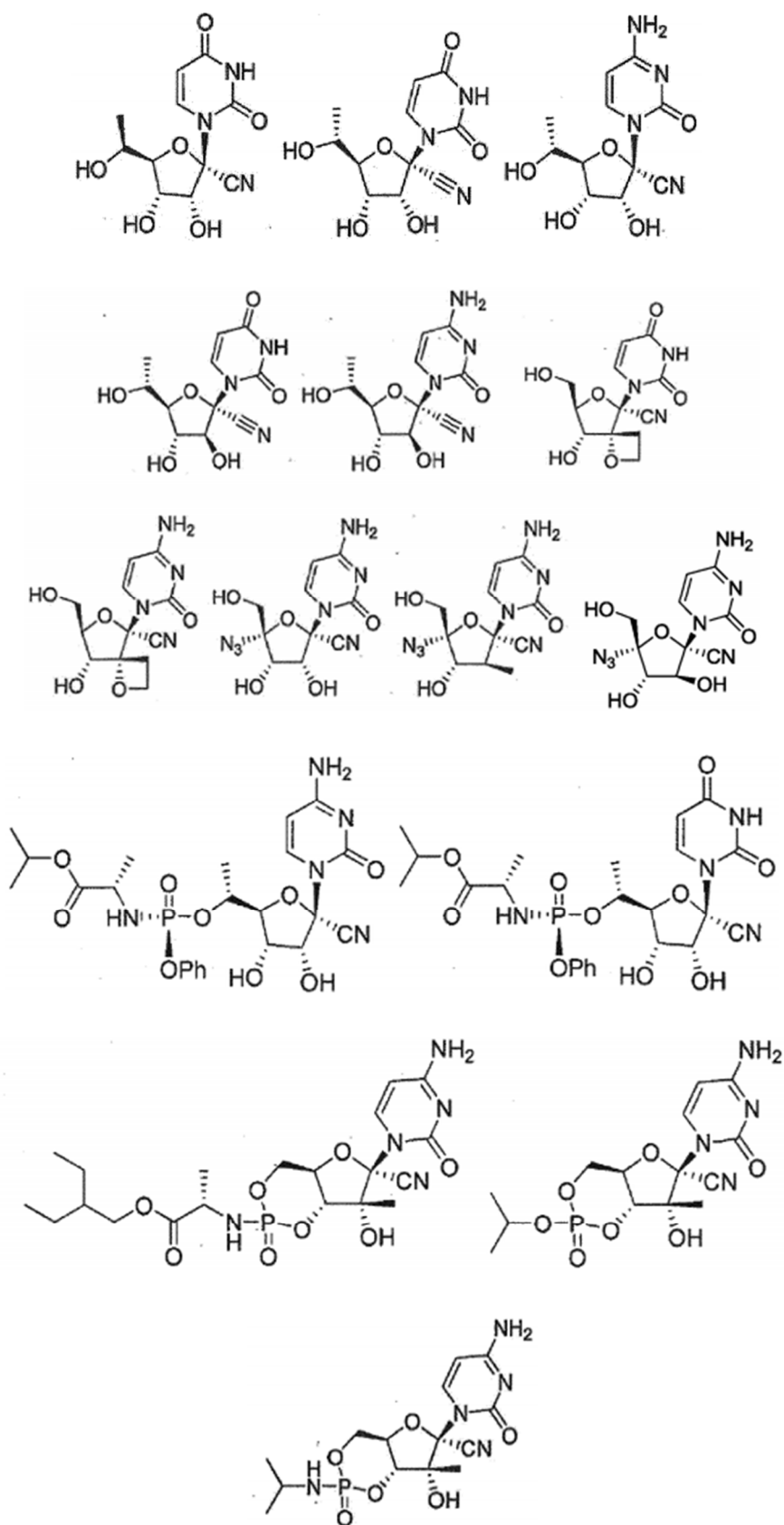
Compuesto nº	Estructura	CE ₅₀ , µM
10		200
11		200
12		200
13		200
15		200
30		200
35		200

Citotoxicidad

[0329] La citotoxicidad de los compuestos ensayados se determina en células Hep2 no infectadas en paralelo con la actividad antiviral usando el reactivo de viabilidad celular de una manera similar a la descrita anteriormente para otros tipos de células (Cihlar et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2008,52 (2): 655-65.). El mismo protocolo que para la determinación de la actividad antiviral se usa para la medición de la citotoxicidad del compuesto, excepto que las células no están infectadas con RSV. En cambio, los medios de cultivo celular frescos (100 pL/pocillo) sin el virus se agregan a las placas analizadas con células y compuestos prediluidos. A continuación, las células se incuban durante 4 días seguido de una prueba de viabilidad celular usando el reactivo CellTiter Glo y una lectura de luminiscencia. Las células no tratadas y las células tratadas con 50 µg/ml de puromicina (Sigma, St. Louis, MO) se usan como control de viabilidad celular al 100% y al 0%, respectivamente. El porcentaje de viabilidad celular se calcula para cada concentración de compuesto ensayada en relación con los controles de 0% y 100% y el valor CC50 se determina por regresión no lineal como una concentración de compuesto que reduce la viabilidad celular en un 50%.

REIVINDICACIONES

1. Un Compuesto seleccionado de:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

2. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 que comprende además al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de proteasa NS3, inhibidores de NS5a, inhibidores de polimerasa NS5b, inhibidores de alfa-glucosidasa 1, inhibidores de ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores de nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otras drogas para tratar el VHC; opcionalmente, que comprende además al menos un inhibidor viral de neuramidasa o un inhibidor viral del canal M2; opcionalmente, en donde el inhibidor viral de neuramidasa o el inhibidor viral del canal M2 se selecciona del grupo que consiste en oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amanadina y rimantadina; opcionalmente, que comprende además pleconaril, BTA-798, o tanto pleconaril como BTA-798.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para uso en terapia.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para usar en la inhibición de la polimerasa del VHC, comprendiendo el uso la administración a un mamífero que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto o composición.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para uso en el tratamiento de una infección viral causada por un virus *Flaviviridae*, comprendiendo el uso la administración a un mamífero que lo necesite de una cantidad terapéuticamente efectiva de compuesto o composición; opcionalmente, en donde el virus se selecciona del grupo que consiste en el virus del dengue, el virus de la fiebre amarilla, el virus del Nilo Occidental, el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, el virus Kunjin, el virus de la encefalitis del valle de Murray, el virus de la encefalitis de San Luis, el virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, el virus de la diarrea viral bovina, el virus del Zika y virus de la hepatitis C; opcional y preferiblemente, en donde la infección viral es causada por el virus de la hepatitis C.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3, para uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el uso comprende además administrar al menos un agente terapéutico adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de la proteasa NS3, inhibidores de la polimerasa NS5b, inhibidores de la NS5a, inhibidores de la alfa-glucosidasa 1, inhibidores de la ciclofilina, hepatoprotectores, otros inhibidores nucleósidos del VHC, inhibidores no nucleósidos del VHC y otros medicamentos para tratar el VHC.