

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 962 269**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

C07H 19/04 (2006.01)

A61K 31/7064 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.03.2017 PCT/IB2017/051638**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.09.2017 WO17163186**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.03.2017 E 17714300 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2023 EP 3433257**

54 Título: **Análogos de nucleósidos alquinil como inhibidores del rinovirus humano**

30 Prioridad:

24.03.2016 SG 10201602360R

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

18.03.2024

73 Titular/es:

**NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**FENAUX, MARTIJN;
SAUNDERS, OLIVER;
YOKOKAWA, FUMIAKI y
ZHONG, WEIDONG**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 962 269 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 nucleósidos alquinil como inhibidores del rinovirus humano

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos que inhiben la replicación del rinovirus humano (HRV) y son útiles para tratar a sujetos infectados con HRV.

Antecedentes

10 Los rinovirus humanos (HRV) son virus ARN del género Enterovirus de la familia Picornavirus, y se dividen en tres grupos, HRV-A, HRV-B y HRV-C, basado en el análisis de secuencias. Estos virus provocan diversas infecciones de las vías respiratorias altas y bajas (RTI). Típicamente, las RTI de vías altas no son especialmente graves en sujetos sanos, manifestándose como un resfriado común, pero pueden dar lugar a afecciones más graves como otitis media aguda y rinosinusitis. Las RTI de vías bajas causadas por HRV pueden ser más graves, sobre todo en poblaciones susceptibles; por ejemplo, pueden causar exacerbaciones graves en sujetos con EPOC, asma o fibrosis quística, y neumonías graves, a veces mortales, en niños pequeños, ancianos y sujetos inmunodeprimidos.

15 A pesar de la necesidad de agentes terapéuticos antivirales para tratar las enfermedades causadas por el HRV, no existen antivirales contra el HRV aprobados en EE.UU. Mello, et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(3), 1546-55 (2014). Se han aprobado algunos agentes antivirales con diferentes modos de acción contra el HRV, por ej., inhibidores de la unión a la cápside (pleconaril, pirodavidir), inhibidores de 3C proteasa (rupintrivir), y análogos de nucleósidos (MK-0608, un inhibidor de 3D polimerasa), e inhibidores de PI4K-IIIβ (PIK93), pero ninguno ha pasado los ensayos clínicos. Id.

20 Los compuestos nucleósidos con actividad antiviral son bien conocidos en la técnica; por ejemplo, el AZT se utiliza para tratar las infecciones por VIH. Actúa como inhibidor de la transcriptasa inversa, inhibiendo una enzima que el VIH necesita para sintetizar ADN, inhibiendo así la replicación del VIH. Se ha demostrado que varios análogos de nucleósidos tienen actividad sobre el virus de la hepatitis C (VHC); véase, por ej., Smith, et al., *J. Med. Chem.* 52(1), 219-23 (2009); WO2012/040124; WO2011/100131; y US2012/0070415. Sin embargo, no se ha desarrollado ninguno para tratar las infecciones por rinovirus humano.

25 Una de las complicaciones del tratamiento del HRV es el gran número de cepas diferentes: se conocen más de 160 cepas de HRV, y si una terapia para tratar el HRV no es eficaz en la mayoría de las cepas comunes, sería necesario determinar qué cepa tiene un paciente antes del tratamiento. En la actualidad, esto no es práctico en la mayoría de las situaciones, por lo que un antiviral con actividad de amplio espectro sobre diversas cepas del HRV sería especialmente valioso.

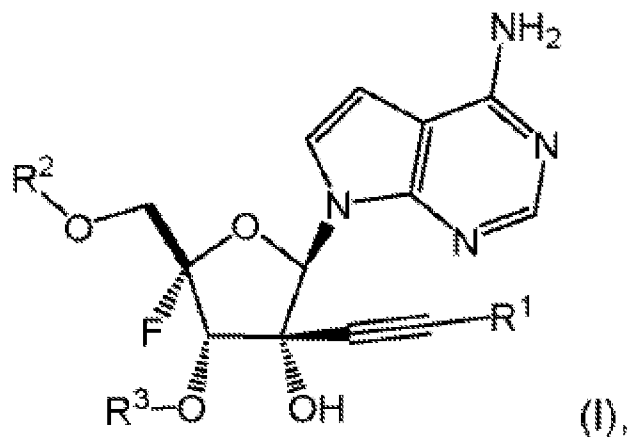
30 Por consiguiente, sigue existiendo la necesidad de agentes antivirales útiles para tratar las infecciones por HRV, especialmente en poblaciones susceptibles a los efectos más graves de la infección por HRV. La presente invención proporciona dichos compuestos antivirales y composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, así como métodos de uso de los compuestos y composiciones para el tratamiento de sujetos que tienen o corren el riesgo de sufrir infecciones por HRV.

Resumen de la invención

La presente invención se describe en las reivindicaciones. Cualquier ejemplo mencionado en la presente descripción que no se reivindique se proporciona como ejemplo ilustrativo.

40 La invención proporciona compuestos que inhiben la replicación del rinovirus humano (HRV). Los compuestos reducen o impiden la propagación del HRV a células no infectadas y, por tanto, son útiles para reducir la duración o gravedad de las infecciones por HRV. Al reducir el alcance, la gravedad o la duración de las infecciones por HRV, estos compuestos protegen contra la exacerbación de otras afecciones en poblaciones susceptibles, como niños pequeños y ancianos o sujetos inmunodeprimidos, y sujetos con asma, EPOC o fibrosis quística. Los compuestos también son útiles para inhibir la replicación del HRV en una célula aislada o en un cultivo celular.

45 En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



donde:

R¹ es H, Me, Et, iPr o ciclopropil;

R² es -P(=X)(OR⁴)₂;

5 R³ es H;

X es O;

R⁴ se selecciona de -CH₂-O-C(O)-R y -CH₂-O-C(O)-OR, donde cada R es alquilo C₁-C₄ independientemente; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 como se describe con detalle en este documento, junto con combinaciones y composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y primer y segundo uso médico de los compuestos, combinaciones y composiciones para el uso en el tratamiento de ciertas infecciones víricas.

15 Los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de la replicación del HRV, como demuestran los datos aquí proporcionados, y son útiles para tratar afecciones causadas por el HRV. Además, como demuestran los datos aquí expuestos, los compuestos de Fórmula (I) tienen actividad contra una amplia gama de serotipos de HRV y muestran poca actividad en ensayos de los modelos toxicológicos habituales.

En otro aspecto, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I) mezclado con al menos un vector o excipiente farmacéuticamente aceptable, opcionalmente mezclado con dos o más vectores o excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 En otro aspecto, la invención proporciona el segundo uso médico de los compuestos divulgados en el tratamiento de una afección causada por un rinovirus humano, que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o cualquier subgénero o especie del mismo como se describe aquí, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto. El sujeto puede ser un mamífero, y preferiblemente es un ser humano. Típicamente, al sujeto se le ha diagnosticado una infección por HRV. Las afecciones tratables mediante los compuestos y procesos aquí descritos incluyen el resfriado común y las complicaciones o exacerbaciones desencadenadas por infecciones rinovirales.

25 La invención incluye compuestos de Fórmula (I) y los subgéneros de Fórmula (I) aquí descritos, y todas las versiones isotópicamente enriquecidas de los mismos (incluyendo sustituciones de deuterio), así como sales farmacéuticamente aceptables de estos compuestos. Los compuestos de la presente invención también comprenden polimorfos de compuestos de fórmula (I) (o subfórmulas de los mismos) y sales y solvatos de compuestos de Fórmula (I).

Descripción detallada

Se aplican las siguientes definiciones salvo que se indique expresamente lo contrario o por el contexto.

35 Tal como se usa aquí, el término "halógeno" (o halo) se refiere al flúor, bromo, cloro o yodo, en particular flúor o cloro. Los grupos y fracciones sustituidos por halógeno, como el alquilo sustituido por halógeno (haloalquilo), pueden ser mono, poli o per-halogenados.

Como se usa aquí, el término "heteroátomos" se refiere a átomos de nitrógeno (N), oxígeno (O) o azufre (S), en particular nitrógeno u oxígeno, salvo que se indique lo contrario.

40 Tal como se usa aquí, el término "alquilo" se refiere a una fracción de hidrocarburo ramificada o no ramificada completamente saturada con 1 a 6 átomos de carbono, o 1 a 4 átomos de carbono. Típicamente, los grupos alquilo tienen de 1 a 6 átomos de carbono si no se especifica lo contrario. Ejemplos representativos de alquilo

incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, tert-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, y similares. Un alquilo sustituido es un grupo alquilo que contiene uno o más sustituyentes en lugar de hidrógeno, como uno, dos o tres sustituyentes, hasta el número de hidrógenos presentes en el grupo alquilo no sustituido. Los sustituyentes adecuados para los grupos alquilo, si no se especifica lo contrario, se seleccionan entre halógeno, CN, oxo (=O), hidroxi, C₁₋₄alcoxi, cicloalquilo C₃₋₆ sustituido o no sustituido, amino, (C₁₋₄ alquilo)amino, di(C₁₋₄ alquilo)amino, C₁₋₄ alquilitio, C₁₋₄alquilsulfonilo, -C(=O)-C₁₋₄ alquilo, COOH, COO(C₁₋₄ alquilo), -O(C=O)-C₁₋₄ alquilo, -NHC(=O)C₁₋₄ alquilo y grupos alquilo -NHC(=O)OC₁₋₄.

5

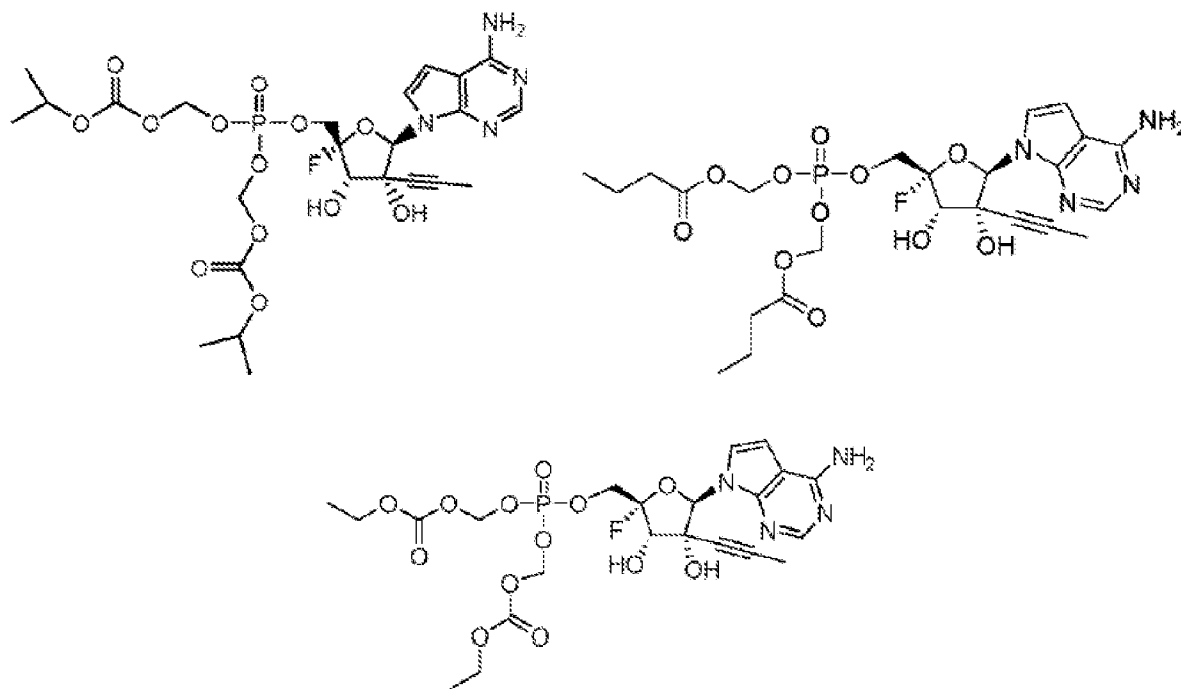
10

Tal como se usa aquí, el término "alcoxi" se refiere a alquilo-O-, donde el alquilo es como se ha definido antes. Ejemplos representativos de alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi, tert-butoxi, pentiloxi, hexiloxi, y similares. Típicamente, los grupos alcoxi tienen de 1 a 6 carbonos, más comúnmente de 1 a 4 átomos de carbono.

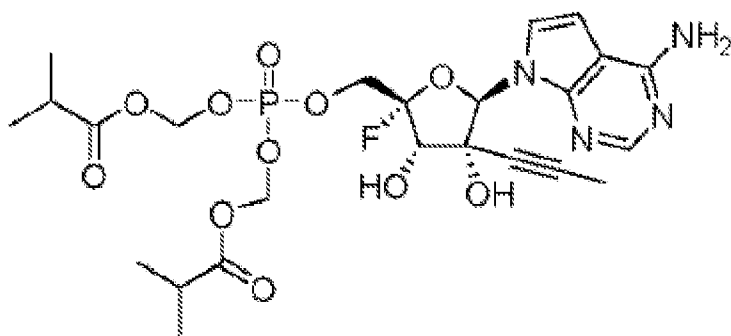
15

Un "alcoxi sustituido" es un grupo alcoxi que contiene uno o más, por ejemplo, uno, dos o tres sustituyentes en la porción alquílica del alcoxi. Salvo que se especifique lo contrario, los sustituyentes adecuados se seleccionan de entre los sustituyentes enumerados antes para los grupos alquilo, excepto que el hidroxilo y el amino no suelen estar presentes en el carbono que está directamente unido al oxígeno del grupo "alquilo-O" sustituido.

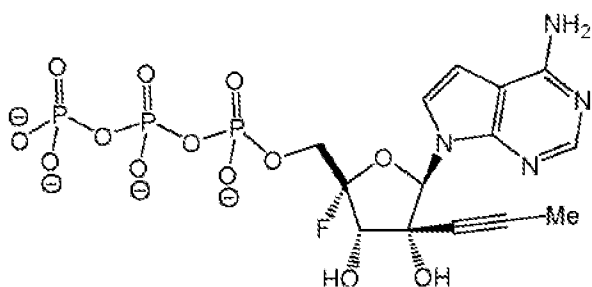
Los compuestos ejemplares de Fórmula (I) incluyen los siguientes:



20 y



Sin estar limitado por la teoría, se cree que los compuestos de Fórmula (I) proporcionan su actividad biológica *in vivo* tras la conversión a un trifosfato C-5, por ej.:



Tal como se usa aquí, el término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención e incluye isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente puede estar unido en un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a las moléculas que tienen la propiedad de no superponerse en su imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a las moléculas que son superponibles a su imagen especular. "Enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica".

Los "diastereoisómeros" son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta de los compuestos de la invención se especifica de acuerdo con el sistema "R-S" de Cahn-Ingold-Prelog en los nombres de compuestos; cuando se trazan estructuras, normalmente se muestra un solo isómero, utilizando convenciones de trazado aceptadas para mostrar la estereoquímica absoluta. Salvo que se especifique lo contrario, un compuesto trazado como un enantiómero específico representa ese enantiómero, y describe un compuesto que es al menos un 90% y preferiblemente al menos un 95% enantiómicamente puro. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede especificarse mediante R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce pueden designarse (+) o (-) en función de la dirección (dextrógira o levógira) en la que giran en la luz polarizada plana a la longitud de onda de la línea D del sodio. Ciertos compuestos descritos aquí contienen uno o más centros o ejes asimétricos y, por tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-.

Los isómeros (R)- y (S)- ópticamente activos pueden prepararse utilizando sintrones quirales o reactivos quirales, o resolverse utilizando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede tener una configuración E o Z, salvo que se especifique lo contrario. Si el compuesto contiene un cicloalquilo di-sustituido, el sustituyente cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans, salvo que se especifique lo contrario. También deben incluirse todas las formas tautoméricas.

En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos. Tal como se usan aquí, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición ácida o de adición básica de un compuesto de la invención. "Sales" incluye en particular "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de esta invención y, que típicamente no son biológicamente o de otra manera indeseables.

Pueden formarse sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ej., acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/hidrobromuro, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/hidrocloreto, cloretofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hippurato, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/fosfato de hidrógeno/fosfato de dihidrógeno, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y sales de trifluoroacetato. Se pueden encontrar listas de otras sales adecuadas, por ej., en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" de Stahl y Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Los ácidos inorgánicos de los que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.

Los ácidos orgánicos de los que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico y similares.

Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables pueden formarse con bases inorgánicas u orgánicas y pueden tener contraiones inorgánicos u orgánicos.

Los contraiones inorgánicos para dichas sales de base incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, el contraión se selecciona entre sodio, potasio, amonio, alquilamonio con uno a cuatro grupos alquilo C1-C4, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; las sales particularmente adecuadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.

5 Las bases orgánicas de las que pueden derivarse sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico y similares. Las aminas orgánicas adecuadas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.

10 Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir de una fracción básica o ácida, mediante procesos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar formas ácidas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (como hidróxido de Na, Ca, Mg o K, carbonato, bicarbonato o similares), o haciendo reaccionar formas básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Estas reacciones suelen llevarse a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos.

15 Generalmente, el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, tetrahidrofurano, tolueno, cloroformo, diclorometano, metanol, etanol, isopropanol o acetonitrilo es deseable, si es factible.

Cualquier fórmula facilitada aquí pretende representar formas no marcadas (es decir, compuestos en los que todos los átomos están presentes en abundancias isotópicas naturales, y no enriquecidos isotópicamente), así como formas enriquecidas isotópicamente o marcadas de los compuestos. Los compuestos isotópicamente enriquecidos o marcados tienen estructuras representadas por las fórmulas facilitadas aquí excepto que al menos un átomo del compuesto es sustituido por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o la distribución de masa atómica que ocurre naturalmente. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a compuestos enriquecidos o marcados de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente según se definen en este documento, por ejemplo, aquellos en los que los isótopos radiactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquellos en los que isótopos no radiactivos, como ^2H y ^{13}C , están presentes en niveles significativamente superiores a la abundancia natural de estos isótopos. Estos compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C), estudios cinéticos de reacciones (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), técnicas de detección o captación de imágenes, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión monofotónica (SPECT), incluyendo ensayos de distribución tisular de fármacos o sustratos, o en el tratamiento radiactivo de pacientes. En particular, un compuesto ^{18}F o marcado puede ser particularmente deseable para los estudios de PET o SPECT. Los compuestos de fórmula (I) marcados isotópicamente pueden prepararse generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a los descritos en los Ejemplos y Preparaciones adjuntos, utilizando un reactivo adecuado marcado isotópicamente en lugar del reactivo no marcado empleado anteriormente.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, en particular el deuterio (es decir, ^2H o D), puede ofrecer ciertas ventajas terapéuticas derivadas de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor semivida in vivo o menores requisitos de dosificación o una mejora del índice terapéutico. Se entiende que, en este contexto, el deuterio se considera un sustituyente de un compuesto de la fórmula (I). La concentración de dicho isótopo más pesado, concretamente deuterio, puede definirse mediante el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico", tal como se utiliza aquí, significa la relación entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se denota deuterio, dicho compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (52,5% de incorporación de deuterio en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67,5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82,5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333,3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466,7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633,3 (99,5% de incorporación de deuterio).

Los solvatos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la invención incluyen aquellos en los que el disolvente de cristalización puede ser isotópicamente sustituido, por ej., D_2O , d^6 -acetona, d^6 -DMSO, así como solvatos con disolventes no enriquecidos.

55 Los compuestos de la invención, es decir, los compuestos de fórmula (I) que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar co-cristales con formadores de co-cristales adecuados. Estos co-cristales pueden prepararse a partir de compuestos de fórmula (I) mediante procedimientos conocidos de formación de co-cristales. Tales procedimientos incluyen molido, calentamiento, co-sublimación, co-fusión o contacto en solución de compuestos de fórmula (I) con el formador de co-cristales en condiciones de cristalización y aislamiento de los co-cristales así formados. Entre los formadores de co-cristales adecuados se incluyen los descritos en WO 2004/078163. Por tanto, la invención proporciona además co-cristales que comprenden un compuesto de fórmula (I).

60

- 5 Tal como se usa aquí, el término "vector farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, tensioactivos, antioxidantes, conservantes (por ej., agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes retardadores de la absorción, sales, conservantes, estabilizadores de medicamentos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, edulcorantes, aromatizantes, colorantes y similares, así como combinaciones de los mismos, como sería conocido por los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329). Salvo en la medida en que cualquier vector convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla el uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.
- 10 El término "una cantidad terapéuticamente efectiva" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica deseada en un sujeto, por ejemplo, la reducción o inhibición de una enzima o de la actividad de una proteína, o que mejorará los síntomas, aliviará las condiciones, ralentizará o retrasará la progresión de una enfermedad, o prevendrá una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto (cuya administración no forma parte de la invención reivindicada), es efectiva para aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar al menos parcialmente una afección, trastorno o enfermedad causada por HRV, o reducir o inhibir la actividad de las proteínas del HRV, o reducir o inhibir la replicación del HRV.
- 15 En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad de un compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o a un tejido, o a un material biológico no celular, o a un medio (cuya administración no forma parte de la invención reivindicada si la administración es *in vivo*), es efectiva para reducir o inhibir, al menos parcialmente, la replicación del HRV.
- 20 Tal y como se usa aquí, el término "sujeto" se refiere a un animal. Típicamente, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ej., humanos, machos o hembras), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, pájaros y similares. En determinadas realizaciones, el sujeto es un primate. En realizaciones específicas, el sujeto es un humano.
- 25 Tal como se usa aquí, el término "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma o trastorno o enfermedad dados, o una disminución significativa en la actividad basal de una actividad o proceso biológico.
- 30 Tal y como se usa aquí, el término "tratar", "que trata" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere, en una realización, a mejorar la enfermedad o trastorno (es decir, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico, incluyendo aquellos que pueden no ser perceptibles por el paciente. En otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a la modulación de la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente (por ej., estabilización de un síntoma perceptible), fisiológicamente (por ej., estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar el desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno.
- 35 Tal como se usa aquí, un sujeto "necesita" un tratamiento si dicho sujeto se beneficiaría biológica, médica o cualitativamente de dicho tratamiento.
- 40 Tal como se usa aquí, el término "uno", "una", "el/la" y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) deben interpretarse como que abarcan tanto el singular como el plural salvo que aquí se indique lo contrario o el contexto lo contradiga claramente.
- 45 Todos los métodos descritos en esta especificación pueden realizarse en cualquier orden adecuado, salvo que se indique lo contrario o el contexto lo contradiga claramente. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ej., "tal como") proporcionado en este documento pretende simplemente esclarecer mejor la invención y no supone una limitación del alcance de la invención reivindicada de otro modo.
- 50 Cualquier átomo asimétrico (por ej., carbono o similar) del compuesto o compuestos de la presente invención puede estar presente en cantidad racémica o enantioméricamente enriquecida, por ejemplo la configuración (R)-, (S)- o (R,S)-, salvo que el nombre o la representación especifique una configuración. En ciertas realizaciones, cada átomo asimétrico tiene al menos un 50% de exceso enantiomérico, al menos un 60% de exceso enantiomérico, al menos un 70% de exceso enantiomérico, al menos un 80% de exceso enantiomérico, al menos un 90% de exceso enantiomérico, al menos un 95% de exceso enantiomérico, o al menos un 99% de exceso enantiomérico de la configuración (R)- o (S)-; es decir, para los compuestos ópticamente activos, a menudo se prefiere utilizar un enantiómero a la exclusión sustancial del otro enantiómero; así, un compuesto representado, denominado o descrito como un único enantiómero consiste predominantemente en ese enantiómero, acompañado de un 10% o menos y preferiblemente un 5% o menos del enantiómero opuesto. Los sustituyentes en átomos con dobles enlaces insaturados pueden, si es posible, estar presentes en forma cis- (Z)- o trans- (E)-.
- 55

"Sustancialmente puro" o "sustancialmente libre de otros isómeros", tal como se utiliza aquí, significa que el producto contiene menos del 10%, típicamente menos del 5%, y preferiblemente menos del 2%, de otros isómeros en relación con la cantidad del isómero preferido, en peso.

5 Las mezclas de isómeros pueden separarse en base a las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en isómeros ópticos geométricos puros o sustancialmente puros, diastereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada. Los métodos para tal separación están bien establecidos en la técnica.

10 Cuando sea necesario, los racematos de productos finales o intermedios pueden resolverse en las antípodas ópticas mediante procesos conocidos, por ej., por separación de las sales diastereoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activos, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, puede emplearse una fracción básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodas ópticas, por ej., mediante cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ej., ácido tartárico, ácido tartárico dibenzoil, ácido tartárico diacetil, ácido tartárico di-O,O'-p-toluidina, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los productos racémicos
15 también pueden resolverse mediante cromatografía quiral, por ej., cromatografía líquida de alta presión (HPLC) utilizando un adsorbente quiral.

20 Además, los compuestos de la presente invención, incluyendo sus sales, también pueden obtenerse en forma de sus hidratos, o incluir otros disolventes utilizados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden inherentemente o por diseño formar solvatos con disolventes farmacéuticamente aceptables (incluyendo agua); por tanto, se pretende que la invención abarque tanto las formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (incluyendo sus sales farmacéuticamente aceptables) con una o más moléculas disolventes. Dichas moléculas disolventes son las utilizadas habitualmente en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, por ej., agua, etanol y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo en el que la molécula
25 disolvente es agua.

Los compuestos de la presente invención, incluyendo sales, hidratos y solvatos de los mismos, pueden formar polimorfos inherentemente o por diseño.

30 En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un vector farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende dos vectores farmacéuticamente aceptables, o más de dos vectores farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica puede formularse para vías de administración particulares, como administración oral, administración parenteral y administración rectal, y similares. En realizaciones preferidas, la composición farmacéutica está diseñada para la administración oral o la inhalación. Además, las composiciones
35 farmacéuticas de la presente invención pueden presentarse en forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluyendo, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales como la esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes o agentes tamponadores, así como adyuvantes, como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y tampones, etc.
40

En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan para la administración oral. Típicamente, estas composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el principio activo junto con uno o más excipientes seleccionados entre estos:

- a) diluyentes, por ej., lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
- 45 b) lubricantes, por ej., sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también
- c) aglutinantes, por ej., silicato de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona; si se desea
- d) desintegrantes, por ej., almidones, agar, ácido algínico o su sal sódica, o mezclas efervescentes; y/o
- 50 e) absorbentes, colorantes, aromas y edulcorantes. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse con película o con recubrimiento entérico mediante los procesos conocidos en la técnica.

Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos dispersables o gránulos, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral
55 se preparan conforme a cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente agradables y apetecibles. Los comprimidos pueden contener el principio activo mezclado con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que sean

5 adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos están sin recubrir o recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción sostenida durante más tiempo. Por ejemplo, puede emplearse un material retardante como el monoestearato de glicerilo o el diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral pueden presentarse como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato cálcico o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

10 En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas de los compuestos de Fórmula (I) son adecuadas para la administración parenteral, como por inyección o infusión (la inyección o infusión no forma parte de la invención reivindicada). Algunas de estas composiciones incluyen soluciones o suspensiones isotónicas acuosas. Dichas composiciones pueden estar esterilizadas y/o contener adyuvantes, como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de la solución, sales para regular la presión osmótica y/o tampones. Además, también pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan conforme a métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente un 0,1-75%, o contienen aproximadamente un 1-50%, del principio activo.

15 Las composiciones adecuadas para aplicación transdérmica incluyen una cantidad efectiva de un compuesto de la invención con un vector adecuado. Los vectores adecuados para la administración transdérmica incluyen disolventes absorbibles farmacológicamente aceptables para facilitar el paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos tienen la forma de un vendaje que comprende un miembro de soporte, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con vectores, opcionalmente una barrera de control de velocidad para administrar el compuesto de la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un periodo de tiempo prolongado, y medios para fijar el dispositivo a la piel.

20 Las composiciones adecuadas para la aplicación tópica, por ej., en la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, pomadas, cremas, geles o formulaciones pulverizables, por ej., para la administración mediante aerosol o similares. Tales sistemas de administración tópica serán especialmente apropiados para aplicaciones oculares. Pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes tonificantes, tampones y conservantes.

25 Tal como se usa aquí, una aplicación tópica también puede referirse a una inhalación o a una aplicación intranasal. Los compuestos de la invención son efectivos para tratar infecciones que con frecuencia se localizan en el tracto respiratorio superior y, por tanto, se prestan bien a la administración mediante métodos inhalatorios o intranasales. Los compuestos y composiciones de la invención pueden administrarse convenientemente en forma de polvo seco a partir de un inhalador de polvo seco o una presentación en aerosol a partir de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propulsor adecuado. Pueden administrarse solos, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula de componente mixto, por ejemplo con fosfolípidos. Los métodos para preparar y administrar compuestos vía inhalación son conocidos en la técnica.

30 Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención pueden prepararse utilizando ingredientes anhidros o con bajo contenido de humedad o condiciones de baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra puede prepararse y almacenarse de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. En consecuencia, las composiciones anhidras se envasan utilizando materiales conocidos para evitar la exposición al agua, de modo que puedan incluirse en kits de fórmulas adecuados. Los ejemplos de envases adecuados incluyen, sin limitación, láminas herméticamente selladas, plásticos, envases de dosis unitarias (por ej., viales), blísteres y en tiras.

35 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad de descomposición del compuesto de la presente invención como principio activo. Dichos agentes, a los que se hace referencia aquí como "estabilizadores", incluyen, sin limitación, antioxidantes como el ácido ascórbico, tampones de pH o tampones salinos, etc.

40 Los compuestos de la fórmula I, en forma libre o en forma de sal, presentan valiosas propiedades farmacológicas, por ej., inhiben la replicación del HRV, como demuestran los datos de pruebas proporcionados en las secciones siguientes, y por consiguiente, están indicados para la terapia descrita en esta especificación, y también para el uso como productos químicos de investigación, por ej., como compuestos instrumentales para analizar los efectos de las infecciones rinovirales. Por consiguiente, los compuestos y las composiciones que los contienen pueden utilizarse para tratar infecciones causadas por HRV en pacientes que necesiten dicho tratamiento, incluyendo el resfriado común, y para la prevención o supresión de complicaciones del asma, EPOC, fibrosis quística y otras afecciones que a menudo se ven exacerbadas por infecciones por rinovirus.

Los compuestos, composiciones y métodos aquí descritos son especialmente útiles en pacientes que pueden sufrir complicaciones graves por infecciones por HRV. Por ejemplo, un sujeto afectado de asma, EPOC o fibrosis quística puede correr el riesgo de sufrir complicaciones graves cuando se infecta por HRV. Las infecciones rinovirales son un desencadenante común de exacerbaciones del asma, y a menudo están implicadas en otras enfermedades respiratorias como la otitis media, la sinusitis, la neumonía y exacerbaciones de la EPOC y la fibrosis quística. Q. J. Med. 94:1-3 (2001). Así, mientras que un resfriado puede ser un inconveniente para una persona sana y no justificar necesariamente una intervención farmacéutica, un sujeto con una enfermedad como asma, EPOC o fibrosis quística, o un sujeto inmunodeprimido o inmunocomprometido, o un sujeto especialmente susceptible a infecciones secundarias de las vías respiratorias como la neumonía, es particularmente adecuado para el tratamiento con los compuestos y métodos aquí descritos; dicho tratamiento reduce la probabilidad y/o la gravedad de una exacerbación.

Así, como una realización adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones dentro del alcance de la Fórmula (I) como se describe aquí, en terapia. En una realización particular, la terapia es para una enfermedad causada por una cepa de HRV. En otra realización, los compuestos de la invención son útiles en la terapia para tratar infecciones rinovirales en sujetos con afecciones como asma, EPOC o fibrosis quística, sujetos inmunocomprometidos o inmunodeprimidos y sujetos especialmente susceptibles a infecciones secundarias graves de las vías respiratorias como la neumonía, o para reducir el riesgo de aparición de infección por HRV en estos sujetos sensibles.

En otro aspecto, la divulgación proporciona un método de tratamiento de una enfermedad (cuyo método no forma parte de la invención reivindicada) que se trata por inhibición de la replicación de HRV, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones dentro del alcance de la Fórmula (I) como se describe en este documento. En otro aspecto, la enfermedad se selecciona entre las afecciones mencionadas anteriormente. El método (que no forma parte de la invención reivindicada) comprende típicamente la administración de una cantidad efectiva de un compuesto como el descrito aquí o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto que necesita dicho tratamiento. El compuesto puede administrarse por cualquier método adecuado, como los descritos aquí, y la administración puede repetirse a intervalos seleccionados por el médico tratante. En algunos aspectos, el compuesto o composición farmacéutica de la invención se administra por vía oral. En otros aspectos, el compuesto o composición farmacéutica de la invención se administra por vía nasal o por inhalación.

Otra realización más de la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o cualquiera de las realizaciones de dichos compuestos descritos aquí para la fabricación de un medicamento. En una realización particular, el medicamento es para el tratamiento de una enfermedad o afección causada o exacerbada por el HRV. En determinadas realizaciones, la enfermedad es una infección rinoviral, en particular en un sujeto con una afección como asma, EPOC o fibrosis quística, un sujeto inmunodeprimido o inmunocomprometido, o un sujeto especialmente susceptible a infecciones secundarias del tracto respiratorio como la neumonía.

La composición farmacéutica o combinación de la presente invención puede ser en dosis unitaria de aproximadamente 1-5000 mg de principio(s) activo(s) para un sujeto de aproximadamente 50-70 kg, o de aproximadamente 1-2000 mg o de aproximadamente 1-500 mg o de aproximadamente 1-250 mg o de aproximadamente 0,5-100 mg, o de aproximadamente 1-50 mg de principios activos. Las dosis más bajas, como 1-250 mg o 1-50 mg, pueden utilizarse para métodos de administración tópica, incluyendo administraciones intranasales o por inhalación, y para inyección o infusión, mientras que las dosis más altas, por ej., 25-2500 mg, o 50-5000 mg, pueden utilizarse para administración oral. La dosis terapéuticamente efectiva de un compuesto, la composición farmacéutica, o las combinaciones de los mismos, también depende de la especie del sujeto, el peso corporal, la edad y la condición individual, y el trastorno o enfermedad a tratar o la gravedad de los mismos. Un médico, clínico o veterinario con conocimientos ordinarios puede determinar fácilmente la cantidad efectiva de cada uno de los principios activos necesaria para tratar o inhibir la progresión del trastorno o enfermedad.

Las propiedades de dosificación antes citadas son demostrables mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* utilizando ventajosamente mamíferos, por ej., ratones, ratas, perros, monos u órganos aislados, tejidos y preparaciones de los mismos. Los ensayos *in vivo* no forman parte de la invención reivindicada. Los compuestos de la presente invención pueden aplicarse *in vitro* en forma de soluciones, por ej., soluciones acuosas, e *in vivo* por vía enteral, parenteral, ventajosamente intravenosa, por ej., como suspensión o en solución acuosa. La dosificación *in vitro* puede oscilar entre concentraciones de aproximadamente 10^{-3} molar y 10^{-9} molar.

El compuesto de la presente invención puede administrarse simultáneamente con, o antes o después de, uno o más coagente(s) terapéutico(s). El compuesto de la presente invención puede administrarse por separado, por la misma o diferente vía de administración, o juntos en la misma composición farmacéutica que el coagente(s).

En una realización, la invención proporciona un producto que comprende un compuesto de fórmula (I) y al menos otro coagente terapéutico como preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia. En una realización, la terapia es el tratamiento de una enfermedad o afección causada o exacerbada

por HRV. Los productos proporcionados como preparación combinada incluyen una composición que comprende el compuesto de fórmula (I) y el otro u otros coagentes terapéuticos juntos en la misma composición farmacéutica, o el compuesto de fórmula (I) y el otro u otros coagentes terapéuticos en forma separada, por ej., en forma de kit.

- 5 En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) y otro(s) coagente(s) terapéutico(s). Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender un vector farmacéuticamente aceptable, como se ha descrito anteriormente.

Los compuestos y composiciones aquí descritos pueden usarse o administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos que actúan como inmunomoduladores, por ej., un activador de una molécula coestimuladora, o un inhibidor de una molécula inmunoinhibidora, o una vacuna. La proteína Muerte Programada 1 (PD-1) es un miembro inhibidor de la familia ampliada CD28/CTLA4 de reguladores de células T (Okazaki et al. (2002) *Curr Opin Immunol* 14: 391779-82; Bennett et al. (2003) *J. Immunol.* 170:711-8). PD-1 se expresa en las células B activadas, células T y monocitos. PD-1 es una proteína inmunoinhibidora que regula negativamente las señales de TCR (Ishida, Y. et al. (1992) *EMBO J.* 11:3887-3895; Blank, C. et al. (Epub 2006 Dec. 29) *Immunol. Immunother.* 56(5):739-745), y se regula al alza en las infecciones crónicas. La interacción entre PD-1 y PD-L1 puede actuar como punto de control inmunitario, lo que puede provocar, por ej., una disminución de los linfocitos infiltrantes, una disminución de la proliferación mediada por receptores de células T y/o la evasión inmunitaria por parte de células cancerosas o infectadas (Dong et al. (2003) *J. Mol. Med.* 81:281-7; Blank et al. (2005) *Cancer Immunol. Immunother.* 54:307-314; Konishi et al. (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:5094-100). La inmunosupresión puede revertirse inhibiendo la interacción local de PD-1 con PD-L1 o PD-L2; el efecto es aditivo cuando también se bloquea la interacción de PD-1 con PD-L2 (Iwai et al. (2002) *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 99:12293-7; Brown et al. (2003) *J. Immunol.* 170:1257-66). La inmunomodulación puede lograrse mediante la unión a la proteína inmuno-inhibidora (por ej., PD-1) o a proteínas de unión que modulan la proteína inhibidora (por ej., PD-L1, PD-L2).

- 25 En una realización, las terapias combinadas de la invención incluyen un inmunomodulador que es un inhibidor o antagonista de una molécula inhibidora de una molécula de punto de control inmunitario. En otra realización, el inmunomodulador se une a una proteína que inhibe de forma natural la molécula punto de control inmunitario. Cuando se utilizan en combinación con compuestos antibacterianos, estos inmunomoduladores pueden mejorar la respuesta antimicrobiana y, por tanto, aumentar la eficacia en relación con el tratamiento con el compuesto antibacteriano solo.

El término "punto de control inmunitario" hace referencia a un grupo de moléculas de la superficie celular de las células T CD4 y CD8. Estas moléculas pueden actuar como "frenos" para modular a la baja o inhibir una respuesta inmunitaria adaptativa. Las moléculas de punto de control inmunitario incluyen, sin limitación, la Muerte Programada 1 (PD-1), el antígeno linfocitario T citotóxico 4 (CTLA-4), B7H1, B7H4, OX-40, CD137, CD40 y LAG3, que inhiben directamente las células inmunitarias. Los agentes inmunoterapéuticos que pueden actuar como inhibidores de puntos de control inmunitarios útiles en los procesos de la presente invención incluyen, sin limitación, inhibidores de PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y/o TGFR beta. La inhibición de una molécula inhibidora puede realizarse por inhibición a nivel de ADN, ARN o proteína. En algunas realizaciones, puede utilizarse un ácido nucleico inhibidor (por ej., un dsARN, siARN o shARN) para inhibir la expresión de una molécula inhibidora. En otras realizaciones, el inhibidor de una señal inhibidora es un polipéptido, por ej., un ligando soluble, o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula inhibidora.

La expresión "en combinación con" no pretende implicar que la terapia o los agentes terapéuticos deban administrarse al mismo tiempo y/o formularse para su administración conjunta, aunque estos métodos de administración están dentro del alcance descrito en esta especificación. El inmunomodulador puede administrarse simultáneamente con, antes de, o después de, uno o más compuestos de la invención, y opcionalmente una o más terapias o agentes terapéuticos adicionales. Los agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse en cualquier orden. En general, cada agente se administrará a una dosis y/o en una pauta de tiempo determinada para ese agente. Se apreciará además que los agentes terapéuticos utilizados en esta combinación pueden administrarse juntos en una sola composición o administrarse por separado en diferentes composiciones. En general, se espera que cada uno de los agentes terapéuticos utilizados en combinación se use a niveles que no superen los niveles a los que se utilizan individualmente. En algunos aspectos, los niveles utilizados en combinación serán inferiores a los utilizados individualmente.

- 55 En ciertos aspectos, los compuestos antibacterianos aquí descritos se administran en combinación con uno o más inmunomoduladores que son inhibidores de PD-1, PD-L1 y/o PD-L2. Cada uno de dichos inhibidores puede ser un anticuerpo, un fragmento de unión a antígeno del mismo, una inmunoadhesina, una proteína de fusión o un oligopéptido. Ejemplos de tales inmunomoduladores son conocidos en la técnica.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 escogido de entre MDX-1106, Merck 3475 o CT011.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es una inmuno adhesina (por ej., una inmuno adhesina que comprende una porción extracelular o de unión a PD-1 de PD-L1 o PD-L2 fusionada en una región constante (por ej., una región Fc de una secuencia de inmunoglobulina).

En algunos aspectos, el inmunomodulador es un inhibidor de PD-1 como AMP-224.

5 En algunos aspectos, el inmunomodulador es un inhibidor de PD- L1 como anticuerpo-PD-L1.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es un antagonista de unión anti-PD-L1 elegido entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C, o MDX-1105. MDX-1105, también conocido como BMS-936559, es un anticuerpo anti-PD-L1 descrito en WO2007/005874. El anticuerpo YW243.55.S70 es un anti-PD-L1 descrito en WO 2010/077634.

10 En algunos aspectos, el inmunomodulador es nivolumab (Número de Registro CAS: 946414-94-4). Los nombres alternativos de nivolumab son MDX-1106, MDX-1106-04, ONO-4538 o BMS-936558. El nivolumab es un anticuerpo monoclonal IgG4 totalmente humano que bloquea específicamente PD-1. Nivolumab (clon 5C4) y otros anticuerpos monoclonales humanos que se unen específicamente a PD-1 se divulgan en US 8,008,449, EP2161336 y WO2006/121168.

15 En algunos aspectos, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 Pembrolizumab. Pembrolizumab (también denominado Lambrolizumab, MK-3475, MK03475, SCH-900475 o KEYTRUDA®; Merck) es un anticuerpo monoclonal de IgG4 humanizado que se une a PD-1. Pembrolizumab y otros anticuerpos anti-PD-1 humanizados se describen en Hamid, O. et al. (2013) New England Journal of Medicine 369 (2): 134-44, US 8,354,509, WO2009/114335, y WO2013/079174.

20 En algunos aspectos, el inmunomodulador es Pidilizumab (CT-11; Cure Tech), un anticuerpo monoclonal IgG1k humanizado que se une a PD1. Pidilizumab y otros anticuerpos monoclonales humanizados anti-PD-1 se divulgan en WO2009/101611. Otros anticuerpos anti-PD1 útiles como inmunomoduladores para el uso en los procesos aquí descritos incluyen AMP 514 (Amplimmune), y anticuerpos anti-PD1 descritos en US 8,609,089, US 2010028330, y/o US 20120114649. En algunos aspectos, el anticuerpo anti-PD-L1 es MSB0010718C.
25 MSB0010718C (también denominado A09-246-2; Merck Serono) es un anticuerpo monoclonal que se une a PD-L1.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es MDPL3280A (Genentech / Roche), un anticuerpo monoclonal IgG1 humano optimizado Fc que se une a PD-L1. MDPL3280A y otros anticuerpos monoclonales humanos en PD-L1 se divulgan en la patente estadounidense N.º: 7,943,743 y la Publicación estadounidense N.º: 30 20120039906. Otros agentes de unión anti-PD-L1 útiles como inmunomoduladores para los métodos de la invención incluyen YW243.55.S70 (véase WO2010/077634), MDX-1105 (también denominado BMS-936559) y agentes de unión anti-PD-L1 divulgados en WO2007/005874.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es AMP-224 (B7-DCIg; Amplimmune; por ej., divulgado en WO2010/027827 y WO2011/066342), es un receptor soluble de fusión Fc de PD-L2 que bloquea la interacción
35 entre PD1 y B7-H1.

En algunos aspectos, el inmunomodulador es un anticuerpo anti-LAG-3 como BMS-986016. BMS-986016 (también denominado BMS986016) es un anticuerpo monoclonal que se une a LAG-3. BMS-986016 y otros anticuerpos humanizados anti-LAG3 se divulgan en US 2011/0150892, WO2010/019570 y WO2014/008218.

40 En ciertos aspectos, las terapias combinadas aquí divulgadas incluyen un modulador de una molécula coestimuladora o una molécula inhibidora, por ej., un ligando o receptor coinhibidor.

En un aspecto, el modulador coestimulador, por ej., agonista, de una molécula coestimuladora se elige entre un agonista (por ej., un anticuerpo agonista o fragmento de unión a antígeno del mismo, o fusión soluble) de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, NKp80, CD160, B7-H3 o ligando CD83.

45 En otros aspectos, las terapias combinadas aquí divulgadas incluyen un inmunomodulador que es una molécula coestimuladora, por ej., un agonista asociado con una señal positiva que incluye un dominio coestimulador de CD28, CD27, ICOS y/o GITR.

Los agonistas GITR ejemplares incluyen, por ej., proteínas de fusión GITR y anticuerpos anti-GITR (por ej., anticuerpos bivalentes anti-GITR), tales como, una proteína de fusión GITR descrita en la Patente estadounidense N.º: 6,111,090, Patente europea N.º: 090505B1, Patente estadounidense N.º: 8,586,023, Publicación PCT N.º: WO 2010/003118 y 2011/090754, o un anticuerpo anti-GITR descrito, por ej., en la Patente estadounidense N.º: 7,025,962, Patente europea N.º: 1947183B1, Patente estadounidense N.º: 7,812,135, Patente estadounidense N.º: 8,388,967, Patente estadounidense N.º: 8,591,886, Patente europea N.º: EP 1866339, Publicación PCT N.º: WO 2011/028683, Publicación PCT N.º: WO 2013/039954, Publicación PCT
50 N.º: WO2005/007190, Publicación PCT N.º: WO 2007/ 133822, Publicación PCT N.º: WO2005/055808, Publicación PCT N.º: WO 99/ 40196, Publicación PCT N.º: WO 2001/ 03720, Publicación PCT N.º: WO99/20758, Publicación PCT N.º: WO2006/083289, Publicación PCT N.º: WO 2005/115451, Patente estadounidense N.º: 7,618,632, y Publicación PCT N.º: WO 2011/051726.

En un aspecto, el inmunomodulador utilizado es un ligando soluble (por ej., un CTLA-4-Ig), o un anticuerpo o fragmento de anticuerpo que se une a PD-L1, PD-L2 o CTLA4. Por ejemplo, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 puede administrarse en combinación con un anticuerpo anti-CTLA-4, por ej., ipilimumab. Los anticuerpos anti-CTLA4 ejemplares incluyen Tremelimumab (anticuerpo monoclonal IgG2 disponible en Pfizer, antes conocido como ticilimumab, CP-675,206); e Ipilimumab (anticuerpo CTLA-4, también conocido como MDX-010, CAS N.º. 477202-00-9).

En un aspecto, se administra una molécula de anticuerpo anti-PD-1 después del tratamiento con un compuesto de la invención como se describe aquí.

En otro aspecto, una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En otro aspecto, la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-TIM-3 o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Otro aspecto más es que la molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 se administra en combinación con un anticuerpo anti-LAG-3 y un anticuerpo anti-TIM-3, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. La combinación de anticuerpos aquí mencionada puede administrarse por separado, por ej., como anticuerpos separados, o unidos, por ej., como una molécula de anticuerpo biespecífica o triespecífica. En un aspecto, se administra un anticuerpo biespecífico que incluye una molécula de anticuerpo anti-PD-1 o PD-L1 y un anticuerpo anti-TIM-3 o anti-LAG-3, o un fragmento de unión a antígeno del mismo. En ciertos aspectos, la combinación de anticuerpos aquí descrita se utiliza para tratar un cáncer, por ej., un cáncer como el descrito aquí (por ej., un tumor sólido). La eficacia de dichas combinaciones puede probarse en modelos animales conocidos en la técnica. Por ejemplo, los modelos animales para probar el efecto sinérgico de antiPD-1 y anti-LAG-3 se describen, por ej., en Woo et al. (2012) Cancer Res. 72(4):917-27).

Los inmunomoduladores ejemplares que pueden utilizarse en las terapias combinadas incluyen, pero sin limitación, por ej., afutuzumab (de Roche®); pegfilgrastim (Neulasta®); lenalidomida (CC-5013, Revlimid®); talidomida (Thalomid®), actimid (CC4047); y citoquinas, por ej., IL-21 o IRX-2 (mezcla de citocinas humanas incluyendo interleucina 1, interleucina 2 e interferón γ , CAS 951209-71-5, de IRX Therapeutics). Las dosis ejemplares de tales inmunomoduladores que pueden usarse en combinación con los compuestos antibacterianos de la invención incluyen una dosis de molécula de anticuerpo anti-PD-1 de aproximadamente 1 a 10 mg/kg, por ej., 3 mg/kg, y una dosis de un anticuerpo CTLA-4, por ej., ipilimumab, de aproximadamente 3 mg/kg.

Ejemplos de métodos (que no forman parte de la invención reivindicada) de uso de los compuestos antibacterianos de la invención en combinación con un inmunomodulador incluyen los siguientes:

- i. Un método para tratar una infección bacteriana en un sujeto, que comprende administrar al sujeto un compuesto de Fórmula (I) como se describe en esta especificación, y un inmunomodulador.
- ii. El método de la realización i, en el que el inmunomodulador es un activador de una molécula coestimuladora o un inhibidor de una molécula de punto de control inmunitario.
- iii. El método de cualquiera de las realizaciones i y ii, donde el activador de la molécula costimuladora es un agonista de uno o más de OX40, CD2, CD27, CDS, ICAM-1, LFA-1 (CD11a/CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD30, CD40, BAFFR, HVEM, CD7, LIGHT, NKG2C, SLAMF7, Nkp80, CD160, B7-H3 y ligando CD83.
- iv. El método de cualquiera de las realizaciones i-iii anteriores, donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario se elige entre PD-1, PD-L1, PD-L2, CTLA4, TIM3, LAG3, VISTA, BTLA, TIGIT, LAIR1, CD160, 2B4 y TGFR beta.
- v. El método de cualquiera de las realizaciones i-iii, donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario se elige entre un inhibidor de PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3 o CTLA4, o cualquier combinación de los mismos.
- vi. El método de cualquiera de las realizaciones i-v, donde el inhibidor de la molécula de punto de control inmunitario es un ligando soluble o un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo, que se une a la molécula de punto de control inmunitario.
- vii. El método de cualquiera de las realizaciones i-vi, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo es de una IgG1 o IgG4 (por ej., IgG1 o IgG4 humana).
- viii. El método de cualquiera de las realizaciones i-vii, donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo se altera, por ej., muta, para aumentar o disminuir uno o más de: la unión al receptor Fc, la glicosilación del anticuerpo, el número de residuos de cisteína, la función de las células efectoras o la función del complemento.
- ix. El método de cualquiera de las realizaciones i-viii, donde la molécula de anticuerpo es una molécula de anticuerpo biespecífica o multispecífica que tiene una primera especificidad de unión a PD-1 o PD-L1 y una segunda especificidad de unión a TIM-3, LAG-3 o PD-L2.
- x. El método de cualquiera de las realizaciones i-ix, donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-1 elegido entre Nivolumab, Pembrolizumab o Pidilizumab.
- xi. El método de cualquiera de las realizaciones i-x, donde el inmunomodulador es un anticuerpo anti-PD-L1 elegido entre YW243.55.S70, MPDL3280A, MEDI-4736, MSB-0010718C o MDX-1105.

- xii. El método de cualquiera de las realizaciones i-x, donde el inmunomodulador es una molécula de anticuerpo anti-LAG-3.
- xiii. El método de la realización xii, donde la molécula de anticuerpo anti-LAG-3 es BMS-986016.
- 5 xiv. El método de cualquiera de las realizaciones i-x, donde el inmunomodulador es una molécula de anticuerpo anti-PD-1 administrada por inyección (por ej., subcutánea o intravenosa) a una dosis de aproximadamente 1 a 30 mg/kg, por ej., aproximadamente 5 a 25 mg/kg, aproximadamente 10 a 20 mg/kg, aproximadamente 1 a 5 mg/kg, o aproximadamente 3 mg/kg, por ej., de una vez a la semana a una vez cada 2, 3 o 4 semanas.
- 10 xv. El método de la realización xiv, donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1 se administra a una dosis de aproximadamente 10 a 20 mg/kg cada quince días.
- xvi. El método de la realización xv, donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1, por ej., nivolumab, se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 1 mg/kg a 3 mg/kg, por ej., aproximadamente 1 mg/kg, 2 mg/kg o 3 mg/kg, cada dos semanas.
- 15 xvii. El método de la realización xv, donde la molécula de anticuerpo anti-PD-1, por ej., nivolumab, se administra por vía intravenosa a una dosis de aproximadamente 2 mg/kg a intervalos de 3 semanas.

En las terapias combinadas de la presente divulgación, el compuesto de la invención y el otro coagente terapéutico pueden ser fabricados y/o formulados por el mismo fabricante o por fabricantes diferentes. Más aun, el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico pueden reunirse en una terapia combinada: (i) antes de la puesta a disposición de los médicos del producto combinado (por ej., en el caso de un kit que comprenda el compuesto de la invención y el otro agente terapéutico); (ii) por el propio médico (o bajo la dirección del médico) poco antes de la administración; (iii) en el propio paciente, por ej., durante la administración secuencial del compuesto de la invención y el otro agente terapéutico.

En consecuencia, la invención proporciona el compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección causada o exacerbada por el HRV, donde el medicamento se prepara para la administración con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro coagente terapéutico para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección, donde el medicamento se administra con un compuesto de fórmula (I). Los coagentes adecuados para el uso en combinación con compuestos de la invención incluyen inhibidores 3A, inhibidores de la proteasa 3C y aglutinantes de la cápside que afectan al HRV, incluyendo enviroxima, pleconaril y rupintrivir.

La invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección causada o exacerbada por el HRV, donde el paciente ha sido tratado previamente (por ej., 24 horas antes) con otro agente terapéutico. La invención también proporciona otro agente terapéutico para el uso en el tratamiento de una enfermedad o afección causada por o exacerbada por el HRV, donde el paciente ha sido tratado previamente (por ej., 24 horas antes) con un compuesto de fórmula (I).

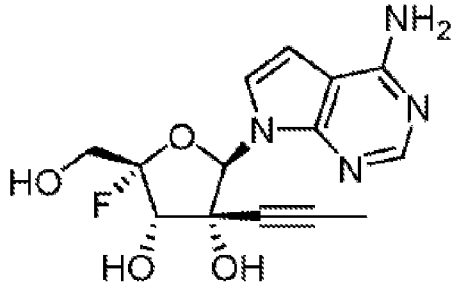
En un aspecto de la presente divulgación, el otro agente terapéutico se selecciona de entre inhibidores 3A, inhibidores de la proteasa 3C, y aglutinantes de la cápside que afectan al HRV, incluyendo enviroxima, pleconaril, y rupintrivir.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no deben interpretarse como limitativos del alcance de la invención. Las temperaturas se indican en grados Celsius. Si no se indica lo contrario, todas las evaporaciones se realizan a presión reducida, típicamente entre unos 15 mm Hg y 100 mm Hg (20-133 mbar). La estructura de los productos finales, intermedios y materiales de partida se confirma mediante métodos analíticos estándar, por ej., microanálisis y características espectroscópicas, por ej., MS, IR, NMR. Las abreviaturas utilizadas son las convencionales en la técnica.

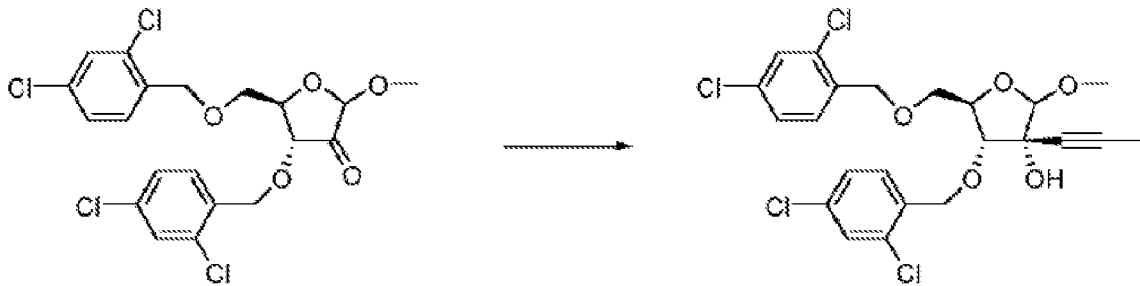
Todos los materiales de partida, componentes básicos, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, disolventes y catalizadores utilizados para sintetizar los compuestos de la presente invención están disponibles en el mercado o pueden producirse mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por los expertos en la materia (véase, por ej., Houben-Weyl 4ª Ed. 1952, Methods of Organic Synthesis, Thieme, Volumen 21). Además, los compuestos de la presente invención pueden producirse por métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en la materia, a la vista de los siguientes ejemplos.

Ejemplo ilustrativo 1.



5 El Ejemplo Ilustrativo 1 se realizó mediante la siguiente secuencia de reacciones.

Síntesis de (3R,4R,5R)-4-((2,4-diclorobencilo)oxi)-5-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-2-metoxi-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3-ol.

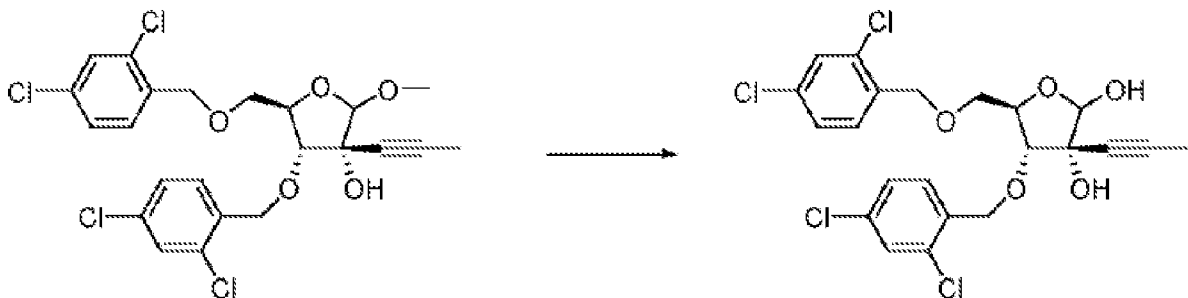


10 Se añadió bromuro de prop-1-inilmagnesio 0,5 M (144 mL, 0,072 mol) a una solución de (4R,5R)-4-(2,4-diclorobencilo)oxi)-5-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-2-metoxi-dihidrofurano-3(2H)-ona (CAS 636581-82-3, 11,5 g, 0,023 mol) en THF (150 mL) a - 78 °C durante 30 min La mezcla de reacción se dejó que alcanzara lentamente la temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. Una vez completada la reacción, se enfrió hasta 0 °C y se templó con solución acuosa sat. de NH₄Cl. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua seguido de solución de salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar (3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobencilo)oxi)-5-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-2-metoxi-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3-ol (6,12 g, 0,012 mmol, producción del 48%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 1,83 (s, 3H), 3,40 (s, 1H), 3,49 (s, 3H), 3,70 (dd, J = 4,8, 2,0 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 4,21 (q, J = 4,8 Hz, 1H), 4,61 (ABq, J = 13,2 Hz, 2H), 4,70 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 4,88 (s, 1H), 4,89 (d, J = 12,0 Hz, 1H), 7,18-7,24 (m, 2H), 7,35 (dd, J = 6,8, 2,0 Hz, 2H), 7,40 (dd, J = 8,0, 2,8 Hz, 2H).

15

20

Síntesis de (3R,4R,5R)-4-((2,4-diclorobencilo)oxi)-5-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2,3-diol.

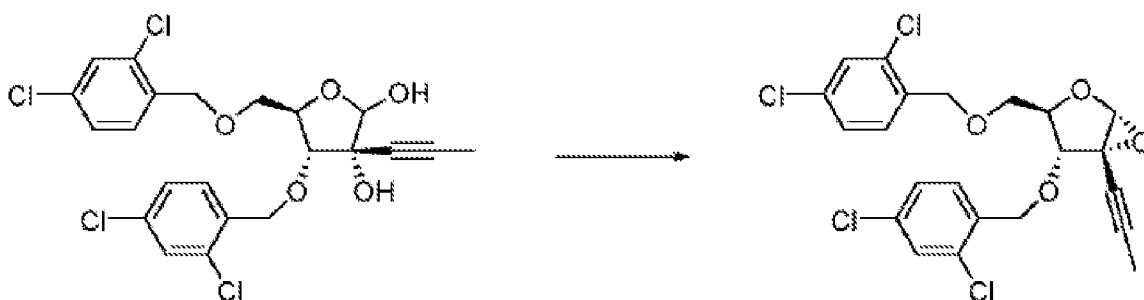


25

Se añadió ácido trifluoroacético (164,25 mL) en agua (11,6 mL) a (3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-2-metoxi-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3-ol (50,0 g, 0,096 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a 55 °C durante 4 h. La mezcla se concentró a presión reducida seguido de co-distilación con tolueno dos veces. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar

5 (3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-2,3-diol (40,10 g, 0,079 mol, producción del 82%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 1,86, 1,92 (s x 2, 3H), 3,44, 3,90 (brs x 2, 1H), 3,58-3,65 (m, 1H), 3,69-3,74 (m, 1H), 4,10-4,15 (m, 2H), 4,59 (ABq, J = 13,2 Hz, 2H), 4,75 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 4,95 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 5,10, 5,31 (s x 2, 1H), 7,22-7,25 (m, 2H), 7,33-7,40 (m, 4H).

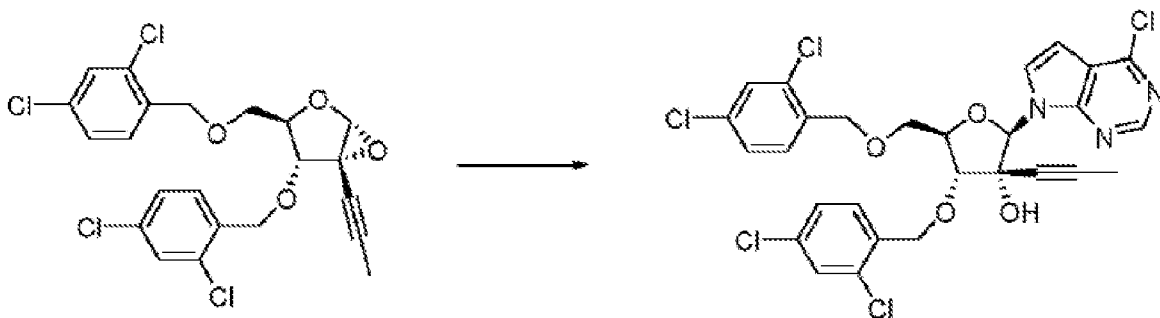
10 Síntesis de (1R,3R,4R,5R)-4-((2,4-diclorobencilo)oxi)-3-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-5-(prop-1-in-1-il)-2,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexano.



15 A una solución de (3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-2,3-diol (1,0 g, 1,9 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL), se añadió Et₃N (0,9 mL, 0,0059 mol) seguido de DMAP (cat) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y después se añadió *p*-TsCl (0,615 g, 2,9 mol) en un lote. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂ y la capa orgánica se lavó con

20 agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío para dar (1R,3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-3-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-5-(prop-1-in-1-il)-2,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexano (1,2 g). Este compuesto crudo se utilizó directamente para el siguiente paso.

Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-yl)-4-((2,4-diclorobencilo)oxi)-5-(((2,4-diclorobencilo)oxi)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3-ol.



25 A una solución de 4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina (0,374 g, 2,4 mol) en CH₃CN (10 mL) se añadió NaH (suspensión al 60%, 0,176 g, 4,0 mol) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió

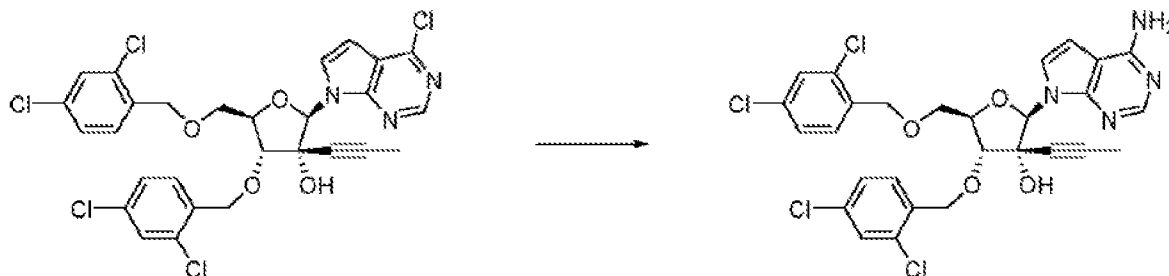
30 (1R,3R,4R,5R)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-3-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-5-(prop-1-in-1-il)-2,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexano (1,20 g, 2,4 mol) en CH₃CN (10 mL) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción resultante se calentó a 50 °C durante 16 h. Una vez completada la reacción, la mezcla se concentró a presión reducida y se vertió en agua helada. La mezcla se extrajo con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar

35 (2S,3R,4R,5R)-2-(4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-yl)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3-ol (0,72 g, 1,12 mmol, producción del 57% en dos pasos). ¹H NMR (DMSO-*d*₆, 400 MHz) δ 1,35 (s, 3H), 3,78 (dd, J = 11,2, 3,6 Hz, 1H), 3,92 (dd, J = 11,2, 2,4 Hz, 1H), 4,20 (dt, J = 8,4, 3,6 Hz, 1H), 4,37 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,60 (ABq, J = 12,8 Hz, 2H), 4,75 (d, J = 13,2 Hz, 1H), 4,94 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 6,65 (d,

$J = 4,0$ Hz, 1H), 7,42-7,48 (m, 3H), 7,54 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,63 (dd, $J = 12,8, 1,6$ Hz, 2H), 7,87 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 8,68 (s, 1H); LC-MS: m/z 640,05 (M+H)⁺.

Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-4-((2,4-diclorobencil)oxi)-5-(((2,4-diclorobencil)oxi)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3-ol.

5



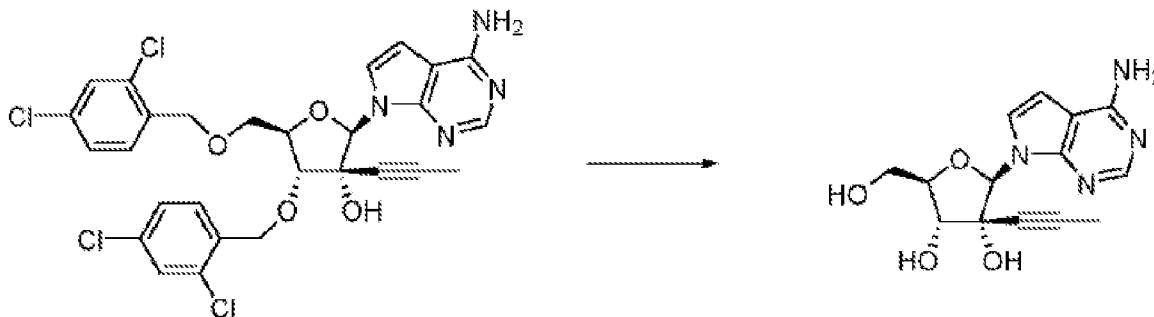
A una solución agitada de (2S,3R,4R,5R)-2-(4-cloro-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3-ol (18,0 g, 0,028 mol) en NH₃ líquido (200 mL) en una bomba de acero, la mezcla de reacción resultante se agitó a 60 °C durante 48 h. Tras la reacción, el NH₃ líq. se retiró bajo presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía de columna sobre alúmina neutra, eluído con un gradiente del 5% de MeOH en CH₂Cl₂ para obtener (2S,3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3-ol (12,1 g, 0,019 mol), producción del 69%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,40 (s, 3H), 3,75 (dd, $J = 11,2, 4,0$ Hz, 1H), 3,87 (dd, $J = 13,2, 2,4$ Hz, 1H), 4,11-4,13 (m, 1H), 4,35 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 4,57 (ABq, $J = 12,8$ Hz, 2H), 4,77 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 4,96 (d, $J = 13,2$ Hz, 1H), 6,25 (s, 1H), 6,36 (s, 1H), 6,50 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 6,96 (s, 2H), 7,27 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 7,39-7,47 (m, 3H), 7,56 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H), 7,61 (dd, $J = 5,6, 2,0$ Hz, 2H), 8,06 (s, 1H); LC-MS: m/z 621,13 (M+H)⁺.

10

15

Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diol.

20



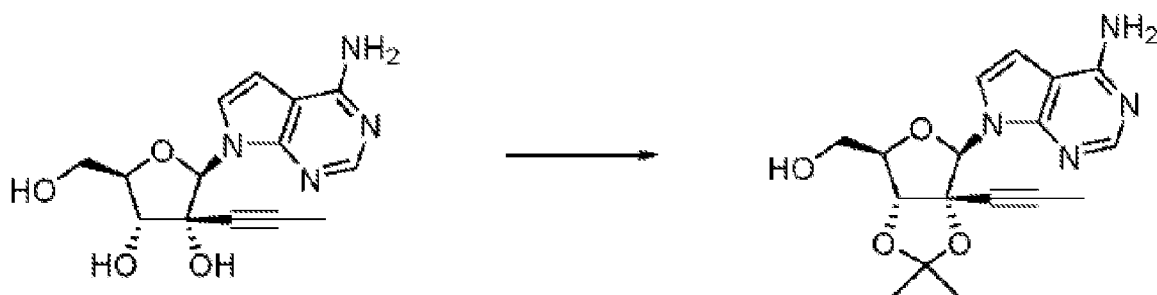
A una solución agitada de (2S,3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-4-(2,4-diclorobenciloxi)-5-((2,4-diclorobenciloxi)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3-ol (12,0 g, 19 mmol) en CH₂Cl₂ (1200 mL) a -78 °C se añadió 1,0 M de solución de BCl₃ en CH₂Cl₂ (193 mL, 19 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 2 h, y después a -20 °C durante 6 h. Una vez completada la reacción, ésta se interrumpió con MeOH (200 mL) en CH₂Cl₂ (300 mL) a -30 °C y la mezcla se agitó durante 30 min. La mezcla de reacción se neutralizó con NH₃ metanólico a -20 °C, los precipitados resultantes se filtraron y el filtrado se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para obtener (3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3,4-diol (4,0 g, 13,1 mmol), producción del 60%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,40 (s, 3H), 3,60-3,62 (m, 1H), 3,75-3,82 (m, 2H), 4,23 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,07 (br, 1H), 5,44 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H), 5,90 (s, 1H), 6,19 (s, 1H), 6,55 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H), 6,95 (s, 2H), 7,39 (d, $J = 4,0$ Hz, 1H), 8,05 (s, 1H); LC-MS: m/z 305,28 (M+H)⁺.

25

30

Síntesis de ((3aR,4R,6R,6aR)-6-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2,2-dimetil-6a-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-yl)metanol

35

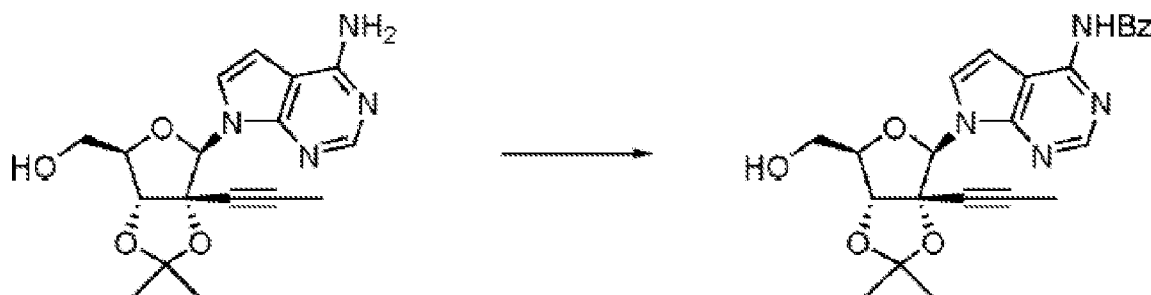


5 A una solución agitada de ((3R,4R,5R)-2-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-3,4-diol (0,95 g, 3,1 mmol) en acetona se añadió p-TsOH.H₂O (0,71 g, 3,7 mmol) seguido de 2,2-dimetoxi propano (7,6 mL, 62,5 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua y solución acuosa sat. de NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar

10 ((3aR,4R,6aR)-6-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2,2-dimetil6a-(prop-1-inil)tetrahidrofurano[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)metanol (0,79 g, 3,0 mmol, producción del 73%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,45 (s, 3H), 1,56 (s, 3H), 1,58 (s, 3H), 3,64-3,69 (m, 2H), 4,05 (dd, J = 8,8, 4,4 Hz, 1H), 4,84 (d, J = 4,4 Hz, 1H), 5,21 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,40 (s, 1H), 6,59 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,01 (s, 2H), 7,33 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 8,06 (s, 1H); LC-MS: m/z 345,29 (M+H)⁺.

Síntesis de N-(7-(((3aR,4R,6R,6aR)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetil-3a-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida

15

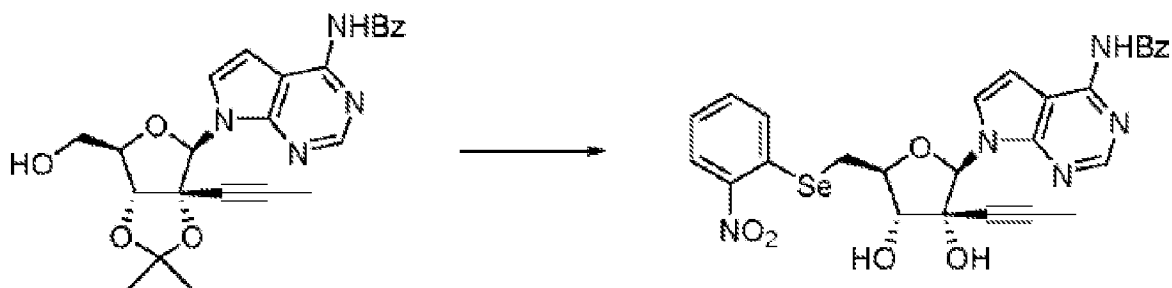


20 A una solución agitada de ((3aR,4R,6aR)-6-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2,2-dimetil-6a-(prop-1-inil)tetrahidrofurano[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)metanol (0,20 g, 0,58 mmol) en piridina (2,0 mL) se añadió TMSCl (0,23 mL, 1,8 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Tras enfriar la mezcla de reacción a 10 °C, se añadió cloruro de benzoilo (0,08 mL, 0,69 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con solución acuosa sat. de KHSO₄, agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. Este material bruto se trató con solución de amoníaco acuosa y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar N-(7-(((3aR,6R,6aR)-6-(hidroximetil)-2,2-

25 dimetil-3a-(prop-1-inil)tetrahidrofurano[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (0,11 g, 0,25 mmol, producción del 42%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,46 (s, 3H), 1,57 (s, 3H), 1,59 (s, 3H), 3,68-3,73 (m, 2H), 4,13 (dd, J = 9,6, 5,2 Hz, 1H), 4,89 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 5,21 (t, J = 6,0 Hz, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,70 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 7,65 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 8,63 (s, 1H), 11,13 (s, 1H); LC-MS: m/z 449,52 (M+H)⁺.

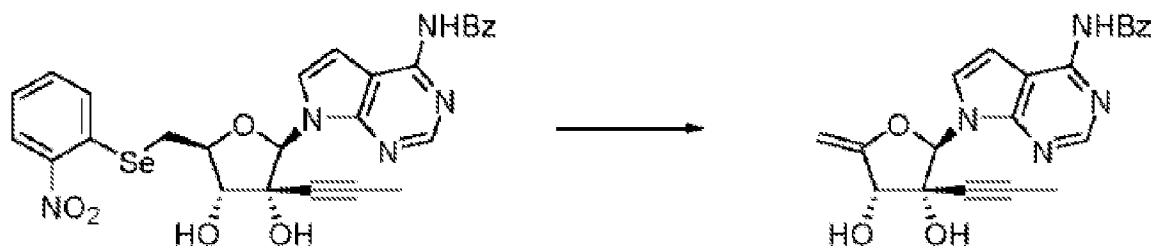
30

Síntesis de N-(7-((2R,3R,4R,5S)-3,4-dihidroxi-5-(((2-nitrofenil)selanil)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il-4-il)benzamida



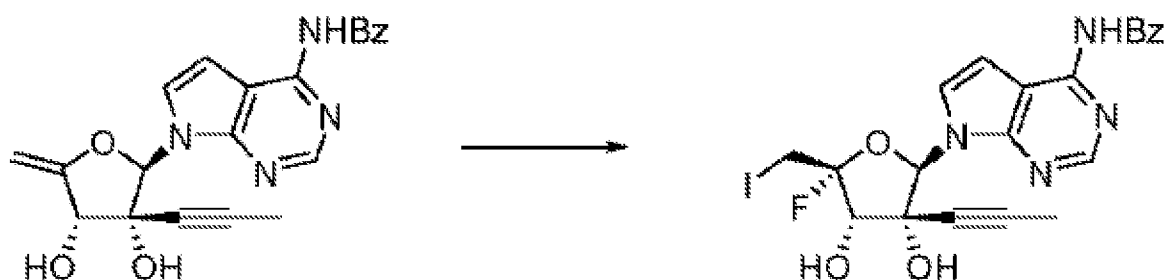
A una solución agitada de N-(7-((3aR,6R,6aR)-6-(hidroximetil)-2,2-dimetil-3a-(prop-1-inil)tetrahidrofurano[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (1,60 g, 3,5 mmol) en THF (25 mL) se añadió 1-nitro-2-selenocianatobenceno (1,62 g, 7,1 mol) seguido de n-Bu₃P (2,80 mL, 14 mol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. Tras la reacción, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y la capa orgánica se lavó con solución acuosa sat. de NaHCO₃, agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El producto obtenido se disolvió en ácido trifluoroacético (18 mL) y agua (2 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Una vez completada la reacción, el disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar N-(7-((3R,4R,5S)-3,4-dihidroxi-5-((2-nitrofenil)selanil)metil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (2,0 g, 3,38 mmol, producción del 95%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,45 (s, 3H), 3,44-3,55 (m, 2H), 4,13-4,17 (m, 1H), 4,26-4,29 (m, 1H), 5,81 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 6,70 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,42 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,53-7,59 (m, 2H), 7,60-7,66 (m, 3H), 7,81 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 8,24 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,61 (s, 1H), 11,3 (s, 1H); LC-MS: m/z 594,45 (M+H)⁺.

Síntesis de N-(7-((3R,4S)-3,4-dihidroxi-5-metileno-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida.



A una solución de N-(7-((3R,4R,5S)-3,4-dihidroxi-5-((2-nitrofenil)selanil)metil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (1,31 g, 2,21 mmol) en THF (15 mL) se añadió un 30% de solución acuosa de H₂O₂ (1,4 mL, 13,9 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. A la mezcla de reacción se añadieron Et₃N (1,9 mL, 13,9 mmol) y piridina (5 mL). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 35 h. Después de concentrar la mayor parte del disolvente, el residuo se diluyó con EtOAc. La mezcla se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar N-(7-((3R,4S)-3,4-dihidroxi-5-metileno-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (340 mg, 0,871 mmol, producción del 39%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,75 (s, 3H), 4,25 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 4,92 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,91 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,31 (s, 1H), 6,59 (s, 1H), 6,74 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,54-7,57 (m, 3H), 7,65 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 8,65 (s, 1H), 11,16 (s, 1H); LC-MS: m/z 391,1 (M+H)⁺.

Síntesis de N-(7-((3R,4S,5R)-5-fluoro-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida.

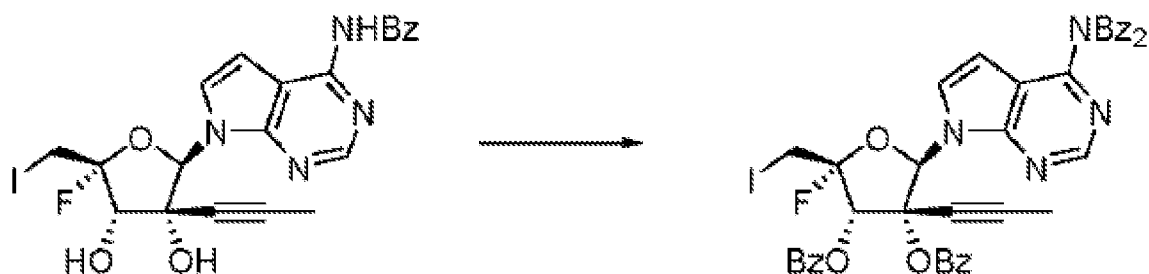


5 A una solución de N-(7-((3R,4S)-3,4-dihidroxi-5-metileno-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (359 mg, 0,92 mmol) en CH₃CN (4 mL) a 0 °C se añadió trihidrofluoruro de trietilamina (0,15 mL, 0,92 mmol) seguido de una solución de N-yodosuccinimida (259 mg, 1,15 mmol) en CH₃CN (4 mL) lentamente. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 45 min y a temperatura ambiente durante 40 min. Se añadió trihidrofluoruro de trietilamina (0,05 mL, 0,31 mmol) y una solución de N-yodosuccinimida (100 mg, 0,39 mmol) en CH₃CN (1 mL) a 0 °C, y la mezcla se agitó a 0 °C durante 20 min y a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en una solución acuosa de NaHCO₃ y Na₂S₂O₃. El precipitado resultante se recogió por filtración y se lavó con EtOAc y agua, y se secó para obtener

10 el producto deseado. El filtrado se extrajo con EtOAc. El extracto orgánico se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se trituró con EtOAc-ciclohexano y el sólido se recogió por filtración para dar el producto adicional. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para el producto adicional. Los productos obtenidos se combinaron para dar

15 N-(7-((3R,4S,5R)-5-fluoro-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)-3-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (434 mg, 0,809 mmol, producción del 88%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,43 (s, 3H), 3,63 (dd, J = 11,6, 4,0 Hz, 1H), 3,79 (dd, J = 26,8, 11,6 Hz, 1H), 4,72 (dd, J = 18,4, 9,2 Hz, 1H), 6,01 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 6,25 (s, 1H), 6,61 (s, 1H), 6,73 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 7,55 (t, J = 7,2 Hz, 1H), 7,62-7,67 (m, 2H), 8,07 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 8,65 (s, 1H), 11,16 (s, 1H); LC-MS: m/z 537,1 (M+H)⁺.

20 Síntesis de (2R,3S,4R)-5-(4-(N-benzoilbenzamido)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(yodometil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato.

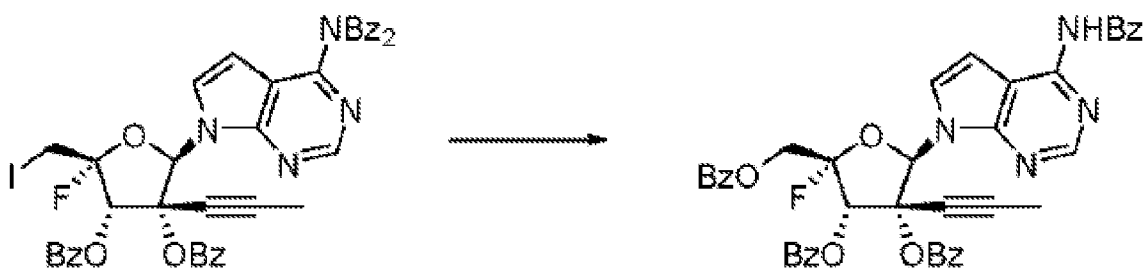


25 A una solución de N-(7-((3R,4S,5R)-5-fluoro-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)-3-prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-4-il)benzamida (434 mg, 0,809 mmol) en piridina (4 mL) a 0 °C se añadió cloruro de benzoilo (0,94 mL, 8,09 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 5 min y a temperatura ambiente durante 10 h. Tras diluir con EtOAc, la mezcla se lavó con solución acuosa de KHSO₄ (x2), solución acuosa sat. de NaHCO₃ (x2), agua y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar

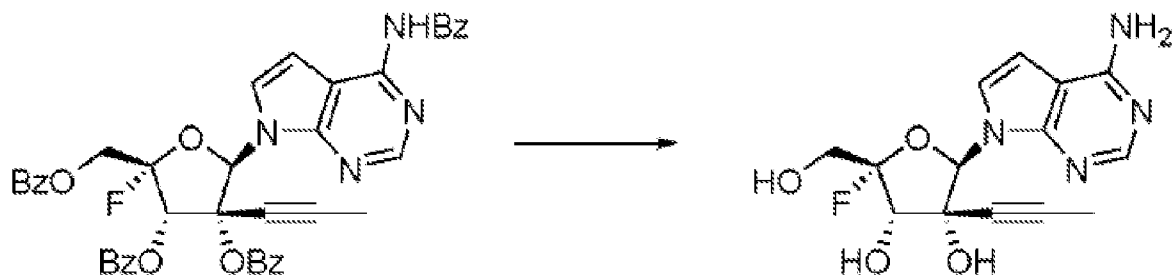
30 (2R,3S,4R)-5-(4-(N-benzoilbenzamido)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(yodometil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato (725 mg, 0,854 mmol, producción 100%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,38 (s, 3H), 3,89-3,94 (m, 2H), 6,62 (d, J = 4,0 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,46-7,64 (m, 9H), 7,70-7,75 (m, 2H), 7,82-7,86 (m, 4H), 7,92-7,95 (m, 2H), 8,00-8,04 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 8,69 (s, 1H); LC-MS: m/z 849,5 (M+H)⁺.

Síntesis de (2S,3S,4R,5R)-5-(4-benzamido-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-((benzoiloxi)metil)-2-fluoro-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato.

35



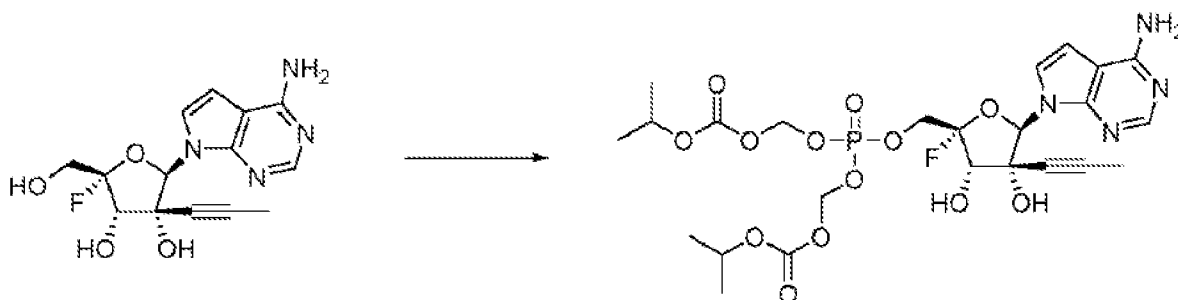
- 5 A una solución de (2R,3S,4R,5R)-5-(4-(N-benzoilbenzamido)-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(yodometil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato (725 mg, 0,854 mmol) en DMSO (8 mL) se añadió benzoato sódico (1,23 g, 8,54 mmol) y 15-crown-5 (1,7 mL, 8,54 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 100 °C durante 22 h. Se añadió benzoato sódico adicional (0,6 g, 4,16 mmol) y 15-crown-5 (0,7 mL, 3,53 mmol). Tras agitar a 100 °C durante 22 h, se añadió más benzoato sódico (0,6 g, 4,16 mmol) y 15-crown-5 (0,7 mL, 3,53 mmol). Tras agitar a 100 °C durante 7 h, la mezcla se diluyó con EtOAc y se filtró a través de un filtro de celite. El filtrado se lavó con solución acuosa sat. de NaHCO₃ (x2) y agua, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar
- 10 (2S,3S,4R)-5-(4-benzamido-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-((benzoiloxi)metil)-2-fluoro-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato (541 mg, 0,498 mmol, producción del 58%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,46 (s, 3H), 4,90 (t, J = 11,6 Hz, 1H), 5,02 (dd, J = 18,0, 12,0 Hz, 1H), 5,75 (s, 1H), 6,79 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 7,32-7,37 (m, 3H), 7,52-7,78 (m, 10H), 7,89 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 8,00 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,05 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 8,10 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 8,68 (s, 1H), 11,25 (s, 1H); LCMS: m/z 739,4 (M+H)⁺.
- 15 Síntesis de (2S,3S,4R,5R)-5-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(hidroximetil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diol (Ejemplo ilustrativo1).



- 20 Se disolvió (2S,3S,4R,5R)-5-(4-benzamido-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-((benzoiloxi)metil)-2-fluoro-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diil dibenzoato (541 mg, 0,732 mmol) en una solución de metilamina al 33 % en etanol. Tras agitar la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 16 h, la mayor parte del disolvente se concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de gel de sílice para dar
- 25 (2S,3S,4R)-5-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(hidroximetil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diol (183 mg, 0,568 mmol, producción del 78%). ¹H NMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,39 (s, 3H), 3,56-3,62 (m, 2H), 4,51 (dd, J = 19,3, 6,8 Hz, 1H), 5,62 (t, J = 5,6 Hz, 1H), 5,69 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 6,60 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 7,02 (s, 2H), 7,26 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 8,09 (s, 1H); ¹⁹F NMR (DMSO-d₆, 376 MHz) δ -119,96; LC-MS: m/z 323,3 (M+H)⁺.

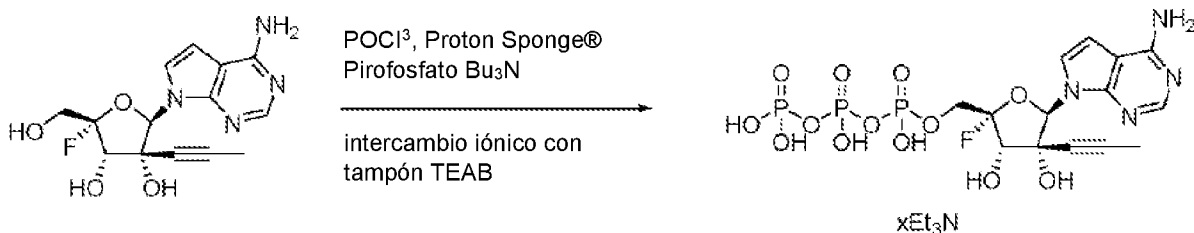
Ejemplo 2.

- 30 Síntesis de ((2S,3S,4R,5R)-5-(4-amino-7H-pirrolo[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-3,4-dihidroxi-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-2-il)metilbis(((1-isopropoxycarbonil)oxi)metil) fosfato (Ejemplo 2).



En un vial de centelleo, el ácido fosfónico de partida (200 mg, 0,61 mmol, ((hidroxifosforil)bis(oxi))bis(metileno) diisopropil dicarbonato) y el nucleósido del Ejemplo Ilustrativo 1 (64 mg, 0,20 mmol, (2S,3S,4R,5R)-5-(4-amino-7H-pirrol[2,3-d]pirimidina-7-il)-2-fluoro-2-(hidroximetil)-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofurano-3,4-diol) se suspendieron en piridina (2 mL). Se añadió 1-metil imidazol (247 mg, 3,0 mmol) y la mezcla se sonicó durante 30 segundos. A continuación, la mezcla se evaporó hasta obtener un residuo mediante evaporación rotatoria durante 20 minutos. El residuo se resuspendió en CH₃CN (2 mL) y se sonicó durante 30 segundos. La reacción se montó con una barra agitadora y se inició la agitación. A continuación se añadió BOP-Cl (280 mg, 1,1 mmol, cloruro bis(2-oxooxazolidina-3-il)fosfínico) como sólido y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. La reacción se monitorizó por LC/MS. Cuando la reacción se consideró completa, se añadió agua (1 mL) para interrumpirla. La reacción se agitó durante 10 minutos y después se congeló y liofilizó hasta la sequedad. El residuo se purificó por prep-HPLC para dar el producto deseado (60 mg, 0,076 mmol, y 38%). ¹H NMR (CD₃OD, 400 MHz) δ 1,28 (d, J = 12 Hz, 12H), 1,47 (s, 3H), 4,34-4,42 (m, 2H), 4,66 (d, J = 16 Hz, 1H), 4,86-4,93 (m, 2H), 5,62-5,69 (m, 4H), 6,63 (s, 1H), 6,95 (d, J = 4 Hz, 1H), 7,47 (d, J = 4 Hz, 1H), 8,31 (s, 1H); ³¹P NMR (CD₃OD, 162 MHz) δ -5,22; LC-MS: m/z 635,2 (M+H)⁺.

Ejemplo ilustrativo 3.



Al compuesto del Ejemplo Ilustrativo 1 (9 mg, 0,028 mmol), en P(=O)(OMe)₃ (0,3 mL) en r.t. se añadió POCl₃ (0,031 mL, 0,335 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 min. Se añadió Proton Sponge® (1,8-bis(dimetilamino)naftaleno: 20,95 mg, 0,098 mmol) y la reacción se agitó en r.t. durante 30 min (primer lote) o 2 h (segundo lote), después se interrumpió añadiendo una mezcla de pirofosfato (250 mg, 0,456 mmol) en 1 ml de DMF y Bu₃N (0,106 mL, 0,447 mmol). La reacción se agitó durante 15 min. Una vez completada la conversión del trifosfato, la mezcla de reacción en bruto se añadió al tampón de bicarbonato de trietilamonio (TEAB) 0,2N (20 ml) y se agitó durante 10 min., después se liofilizó hasta obtener un semisólido y se purificó como se describe abajo. La reacción se repitió con la misma escala, y los dos lotes se combinaron para la purificación.

Purificación: El trifosfato crudo combinado se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico PREP usando un gradiente de purificación de trifosfato (cromatografía de intercambio iónico PREP, flujo a 8 ml/min): partiendo de 100% de agua, gradiente de 0% a 80% de tampón de bicarbonato de TEA (0,5 N)/agua en 30 min, seguido de tampón de bicarbonato de TEA al 80% (0,5 N)/agua durante 5 min, después agua 100% durante 5 min. El trifosfato deseado se eluyó a los 27 min como un pico amplio (3 inyecciones). Las fracciones del producto deseadas se liofilizaron y luego se disolvieron en agua para una segunda purificación por columna C18 (cromatografía de fase inversa PREP C18, flujo a 20 ml/min) usando un gradiente que comenzaba con un tampón de bicarbonato de TEA al 100% (0,2 N), seguido de un gradiente de tampón de bicarbonato de acetonitrilo/TEA (0,2 N) del 0% al 30% en 20 min. El producto deseado se eluyó aproximadamente a los 11 min. Como el producto obtenido de la segunda purificación C18 contenía lo que parecían ser impurezas difosfatadas y sobrefosforiladas, se purificó de nuevo mediante una tercera cromatografía de intercambio iónico PREP, seguida de una cuarta purificación por columna C18 como se ha mencionado antes para dar 001 (Ejemplo 3: 8,7 mg, 9,85 μmol, 15,79 % de producción).

¹H NMR (400 Mhz, óxido de deuterio) ¹H NMR (400 Mhz, óxido de deuterio) δ 8,14 (s, 1H), 7,42 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 3,8 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 4,75 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 4,30 (ddd, J = 11,4, 6,2, 2,7 Hz, 1H), 4,24 - 4,14 (m, 1H), 3,13 (q, J = 7,3 Hz, 18H), 1,29 (s, 3H), 1,21 (t, J = 7,3 Hz, 29H). ³¹P: -9,42, -9,55, -12,07, -12,19,

-22.78, -22.90, -23.02 Basado en ^1H NMR, la ratio de nucleósido trifosfato en Et_3N en la sal es 1/3,0. El peso de la Fórmula es 865,801.

Ensayos biológicos y datos

5 La actividad de un compuesto según la presente invención puede evaluarse por métodos conocidos en la técnica; se utilizaron los siguientes métodos para producir los datos de las Tablas siguientes.

10 Ensayo de efecto citopático HRV (CPE). Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO en pasos semilogarítmicos partiendo de 5 mM. De cada dilución, se transfirieron 0,5 μL a las placas de ensayo. Se añadieron células H1-HeLa a las placas de compuestos preparadas para el ensayo en 45 μL de DMEM suplementado con 0,1% de BSA (Gibco, 15260), 1 x solución de penicilina/estreptomicina (CellGro/Mediatech, Manassas, VA; 30-002-CI) y 1 x aminoácidos no esenciales (CellGro; 25-025-CI) a 5000 células/pocillo en placas triplicadas de 384 pocillos y se incubaron a 33°C durante 6 horas. Los pocillos de control incluían DMSO solo (100% de inhibición) y DMSO más virus (0% de inhibición). Después de 6 h de incubación a 33°C, se añadieron 5 μl de solución madre de rinovirus humano a una MOI (multiplicidad de infección) que mata eficazmente el 99% de las células en 72 horas. A continuación, se incubaron las placas durante 72 h a 33°C.

15 La viabilidad celular se determinó utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (Promega, G7573) de acuerdo con el protocolo del fabricante y un luminómetro POLARstar Omega (BMG Labtech).

20 Ensayo de replicón de HRV. Este ensayo se basó en el replicón del grupo C descrito anteriormente (Mello et al. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014) con la modificación de que la región P1 se sustituyó por el ADNc que codifica la nanoluciferasa (Promega Corporation, Madison, WI). Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO en pasos semilogarítmicos partiendo de 5 mM. De cada dilución, se transfirieron 0,5 μL a las placas de ensayo. Las células H1-HeLa se tripsinizaron, se lavaron dos veces con OptiMem® (Gibco, 31985) helado, se resuspendieron a $1,5 \times 10^7$ células/ml en OptiMem® y se almacenaron en hielo. Se electroporaron un total de 6×10^6 células (270 V, 950mF, resistencia ∞) con 25ng de ARN transcrito in vitro y se dejaron reposar en hielo durante 10 min. A continuación, las células electroporadas se diluyeron en DMEM suplementado con 0,1% de BSA (Gibco, 15260), 1 x solución de penicilina/estreptomicina (CellGro/Mediatech, Manassas, VA; 30-002-CI) hasta una concentración final de 4×10^5 células/ml. A continuación, se añadieron 50 μl de células a los compuestos y se incubaron durante 72 h a 33°C. Se midió la señal de luciferasa pasadas 48 h utilizando el ensayo del kit de detección NanoGlo® (Promega, N1150) según el protocolo del fabricante y un luminómetro POLARstar Omega (BMG Labtech).

30

35 Ensayo de citotoxicidad de MT4 y PC3. Los compuestos se diluyeron en serie en DMSO en pasos semilogarítmicos partiendo de 10 mM. Se transfirieron 0,5 μl del compuesto diluido en serie a las placas de ensayo (Greiner cat# 781080). Las células se añadieron a las placas de compuestos preparadas para el ensayo en 50 μl de medio RPMI 1640 suplementado con FBS al 10% (NCS Lote OS161071), 1 x solución de penicilina/estreptomicina (CellGro/Mediatech, Manassas, VA; 30-002-CI), y se incubaron a 37 °C durante 3 o 5 días. Los pocillos de control incluyeron DMSO solo (inhibición del 100%). La viabilidad celular se determinó utilizando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® (Promega, G7573) según el protocolo del fabricante y un luminómetro POLARstar Omega (BMG Labtech).

Ensayo gamma polimerasa de ADN humano.

40 El ensayo de incorporación de un solo nucleótido de gamma polimerasa de ADN

humano se adaptó de Clark et al. (Descubrimiento de beta-D-20-deoxi-20-a-fluoro-40-a-ciano-5-aza-7,9-dideaza adenosina como potente inhibidor nucleosídico del virus respiratorio sincitial con excelente selectividad sobre polimerasas de ARN y ADN mitocondrial. *BMCL*, 25: 2484-2487.). Brevemente, se preincubaron en hielo durante 2 min 200 nM de ADN gamma polimerasa humano recombinante (subunidad grande; POLG) y 400 nM de una subunidad accesoria (POLG2) de ADN polimerasa humano recombinante. Los complejos de elongación con ARN se formaron mediante adición de 150 nM del duplex cebador de ADN/plantilla de ADN apareado, en tampón de ensayo (50mM Tris/HCl, pH 8, 10mM MgCl_2 , 50mM NaCl, 1mM DTT) durante 1,5 min a temperatura ambiente (TA), seguido de una mezcla rápida con 100 μM de sustrato nucleósido trifosfato o inhibidor. Las proteínas recombinantes POLG (aa 30-1239) y POLG2 (aa 26-485) se purificaron a partir de *E. coli* y se almacenaron en 5 mM Tris pH7,5, 250 mM NaCl, 10% glicerol, 0,005% NP40 y POLG2 (aa 26-485) y 50 mM Tris pH7,5, 150 mM NaCl, 1 mM TCEP, 0,005% NP40, 10% glicerol, respectivamente. El volumen de POLRMT añadido a cualquier reacción fue siempre inferior o igual a una décima parte del volumen total. El cebador-plantilla consistió en un cebador oligonucleótido de ADN 18-mer marcado 5'- FAM (5'-TTTTGTCTTTGTACTAGGAGGC-3') apareado a la plantilla de ADN 34-mer apropiada para permitir la adición única de deoxi- o ribonucleótido A, C, G o U (Clark et al. 2012). Las reacciones se dejaron durante 1 minuto a temperatura ambiente (TA) y se interrumpieron añadiendo EDTA (50 mM). Los productos se separaron de los sustratos mediante PAGE desnaturalizante. Se añadió un volumen igual de tampón de carga (95% de formamida, 18 mM de EDTA y 0,025% de SDS, cianol de xileno y azul de bromofenol; Ambion, EE.UU) a las mezclas de reacción interrumpidas y se calentó a 65 °C durante 5 minutos antes de cargarlas en un gel de poliacrilamida desnaturalizante al 20% que contenía 1 X TBE (89 mM de Tris base, 89 mM de ácido bórico, 2 mM de EDTA) y 7 M de urea. La electroforesis se realizó en tampón TBE 1X a 600 V. Los geles se visualizaron

55

60

con un Typhoon Imager en modo de detección de fluorescencia y se cuantificaron con el software Image Quant™ TL (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Los oligonucleótidos de ADN se pidieron a Sigma Aldrich, Estados Unidos.

5 Ensayo de ARN polimerasa mitocondrial humana. El ensayo de incorporación de un solo nucleótido de ARN polimerasa mitocondrial humana (POLRMT) se adaptó de Arnold et al. (Sensibilidad de la transcripción mitocondrial y resistencia de la transcripción nuclear dependiente de ARN polimerasa II a los ribonucleósidos antivirales. *PloS Pathogen* 8(11):e1003030.). Brevemente, los complejos de elongación se formaron incubando 500 nM de POLRMT con un duplex de 250 nM de plantilla de ADN/cebador de ARN apareado, en tampón de ensayo (25 mM de Tris-HCl, pH 8, 50 mM de KCl, 10 mM de MgCl₂, 1 mM de ditioneitol, 0,2 U/μL de RNasina) durante 1,5 min a temperatura ambiente (TA), seguido de una mezcla rápida con 500 μM de sustrato de nucleósido trifosfato o inhibidor. POLRMT de longitud completa purificado (Enzymax, EE.UU.) se almacenó en 10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM DTT, 100 mM NaCl y 20% de glicerol. El volumen de POLRMT añadido a cualquier reacción fue siempre inferior o igual a una décima parte del volumen total. El cebador-plantilla consistió en un cebador oligonucleótido de ARN 8-mer marcado 5'- FAM (5'-UUUUGCCGCGCC-3') apareado a la plantilla de ADN 18-mer apropiada para permitir la adición única de ribonucleótido A, C, G o U (Arnold et al. 2012). Las reacciones se dejaron durante 5 minutos a temperatura ambiente (TA) y se interrumpieron añadiendo EDTA (50 mM). Los productos se separaron de los sustratos mediante PAGE desnaturalizante. Se añadió un volumen igual de tampón de carga (95% de formamida, 18 mM de EDTA y 0,025% de SDS, cianol de xileno y azul de bromofenol; Ambion, EE.UU.) a las mezclas de reacción interrumpidas y se calentó a 65 °C durante 5 minutos antes de cargarlas en un gel de poliacrilamida desnaturalizante al 23% que contenía 1 X TBE (89 mM de Tris base, 89 mM de ácido bórico, 2 mM de EDTA) y 7 M de urea. La electroforesis se realizó en tampón TBE 1X a 600 V. Los geles se visualizaron con un Typhoon Imager en modo de detección de fluorescencia y se cuantificaron con el software Image Quant TL (GE Healthcare, Piscataway, NJ). Los oligonucleótidos de ADN y ARN se pidieron a Sigma Aldrich, Estados Unidos.

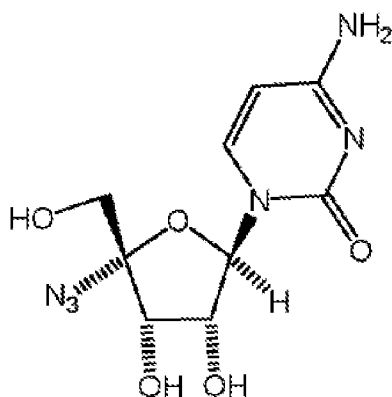
25 Ensayos de *novo* iniciación y elongación de la polimerasa de DENV para HTS:

1) Ensayo de polimerasa de *novo* basado en fluorescencia acoplada a fosfatasa alcalina (FAPA de *novo*): Brevemente, el ensayo se realizó secuencialmente en 20 μL de volumen final como sigue: se dispusieron 0,25 μL de compuesto disuelto en DMSO al 90% y agua al 10% en placas negras de 384 pocillos de base alta-unión media; en los pocillos de control solo se introdujo la mezcla DMSO/agua. Se dispensaron 5 μL de una solución madre de proteína RdRp DENV4 200 nM en tampón de ensayo enzimático en placas de ensayo y se preincubaron durante 15 minutos a 25 °C en una incubadora con humedad controlada. Para iniciar la reacción enzimática, se añadieron a todos los pocillos 5 μL de 200 nM de sustrato de ARN DENV4 IVT y 40 μM de GTP, ATP, UTP y 10 μM de sustrato de Atto-CTP, momento en que se incubaron las placas en una incubadora con humedad controlada a 25 °C durante dos horas. Las mezclas de sustrato de ARN y NTP se prepararon de forma similar en tampón de ensayo enzimático. Las condiciones finales de reacción contenían 100 nM de enzimas, 100 nM de ARN, 20 μM de NTP y 5 μM de ATTO-CTP. Los controles neutros (controles de alta actividad) consistieron en 100 nM de enzima, 100 nM de ARN, 20 μM de NTP y 5 μM de ATTO-CTP. Los controles de actividad (controles basales de baja actividad) consistieron en 1 tampón de ensayo, 100 nM de ARN, 20 μM de NTP y 5 μM de ATTO-CTP. Para terminar las reacciones, se dispensaron 10 μL de solución de parada que contenía 20 nM de CIP (fosfatasa intestinal de ternero) en todos los pocillos y se incubaron las placas durante 1 hora a 25 °C. La solución de parada para diluir CIP se preparó en tampón AttoPhos® (2,4 M DEA pH 10, 0,057 mM MgCl₂ y 0,85 mM NaN₃) con 20 mM MgCl₂ y 160 mM NaCl adicionales, y se almacenó a 4 °C. Para la lectura de la señal fluorescente se utilizó un lector Tecan Infinite® M6, con una longitud de onda de excitación de 420 nm y una longitud de onda de emisión de 560 nm, y una ganancia de 255 Flashes: 50.

Citotoxicidad (Ensayo CC50) en HepG2 y K562

50 Se dispusieron placas de ensayo de 384 pocillos Greiner blancas de grado TC con 0,5 μL de compuesto en 90%DMSO/10% de agua. Las células HepG2 se tripsinizaron y se recogieron en un tubo falcon de 50 ml. Las células en suspensión K562 se recogieron en un tubo falcon de 50 ml. Ambos tubos con las células se centrifugaron a 1200 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se desechó y el sedimento celular se resuspendió en medio de cultivo fresco (HepG2: DMEM:F12 mix + 10%FBS+ 1% Pen/Strep y K562: IMDM + 10% FBS + 1% Pen-Strep). Se contaron las células con un hemocitómetro y se diluyeron hasta una suspensión de trabajo de 50.000 células/ml para HepG2 y 20.000 células/ml para K562. Se añadieron 50 μL de suspensión celular a cada pocillo de la placa de ensayo-384. Las placas de ensayo se incubaron a 37°C, 5% de CO₂ en una incubadora con una humedad del 90% durante 72 horas. Después, las placas de ensayo se trataron con 25 μL del reactivo Cell-Titer Glo® de Promega y se incubaron a temperatura ambiente durante 10 minutos. Las placas se leyeron en PolarStar-Omega usando el ajuste de luminiscencia y una ganancia de 3300.

60 Usando los ensayos descritos anteriormente, los compuestos de la invención presentan eficacia antiviral como se resume en las siguientes tablas. Esta 4'-azido-citidina se utilizó como control:



Actividad y citotoxicidad del compuesto del EJEMPLO 2.

Actividad sobre cepas de HRV y otros virus	μM
HRV16	0,6
HRV14	0,7
HRV29	0,7
HRV10	0,8
HRV86	0,4
HRV39	0,6
HRV15 (tipo-c)	0,7
Virus Chikungunya	1,0
Virus del dengue (PBMcs)	2,05

Resultados del ensayo de citotoxicidad	μM
MT4 (N=2)	>100
K562 ((N=3)	>100
HepG2 (N=7+)	>100
PC3	>200

Actividad de los derivados del Ejemplo ilustrativo 1.

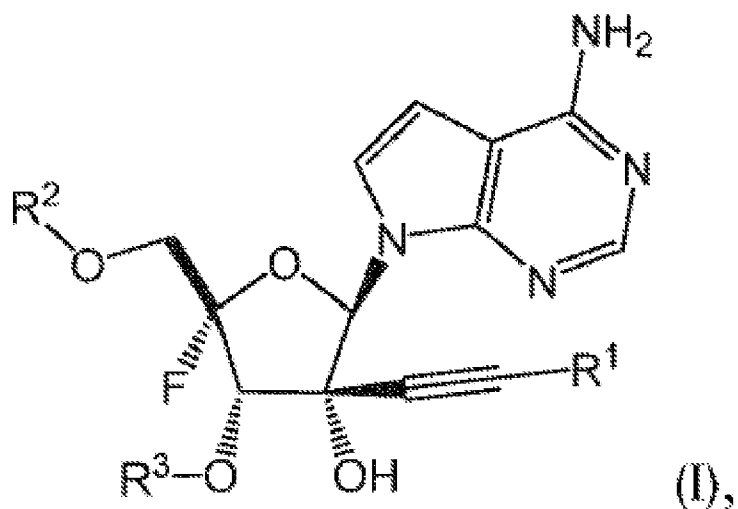
Ensayo de polimerasa (TP)	
Polimerasa HRV 3D (5'-monofosfato del compuesto del EJEMPLO 1)	IC ₅₀ = 3,4 μM
Polimerasa NS5 Dengue (5'-monofosfato del compuesto del EJEMPLO 1)	IC ₅₀ = 8,3 μM
Incorporación de ARN polimerasa mitocondrial humano	1,9% (Ejemplo 3) 1,9% (Sofosbuvir TP)
Incorporación de ADN polimerasa y mitocondrial humano (5'-monofosfato del compuesto del EJEMPLO 1)	0%
Ensayos celulares (MP-Nuc)	

PC-3 ratio Cox/SDH <0,5 (Ejemplo 2) 4'-Azidocitidina (control)	>200µM 25 µM
HepG2 ratio Cox/SDH <0,5 (Ejemplo 2) 4'-Azidocitidina (control)	>200 µM 200 µM

5 Los datos expuestos anteriormente demuestran que los nucleósidos de Fórmula (I) proporcionan una potente actividad contra una variedad de serotipos de HRV, así como otros virus, al tiempo que presentan un bajo potencial de toxicidad en células de mamíferos, medido por modelos de citotoxicidad de uso común (MT4, PC-3, etc.), bajo potencial de toxicidad mitocondrial medido por ensayos de incorporación de polimerasa mitocondrial humana (ADN polimerasa y y ARN polimerasa), y baja toxicidad mitocondrial en cultivos celulares en base al ensayo de la ratio Cox/SDH.

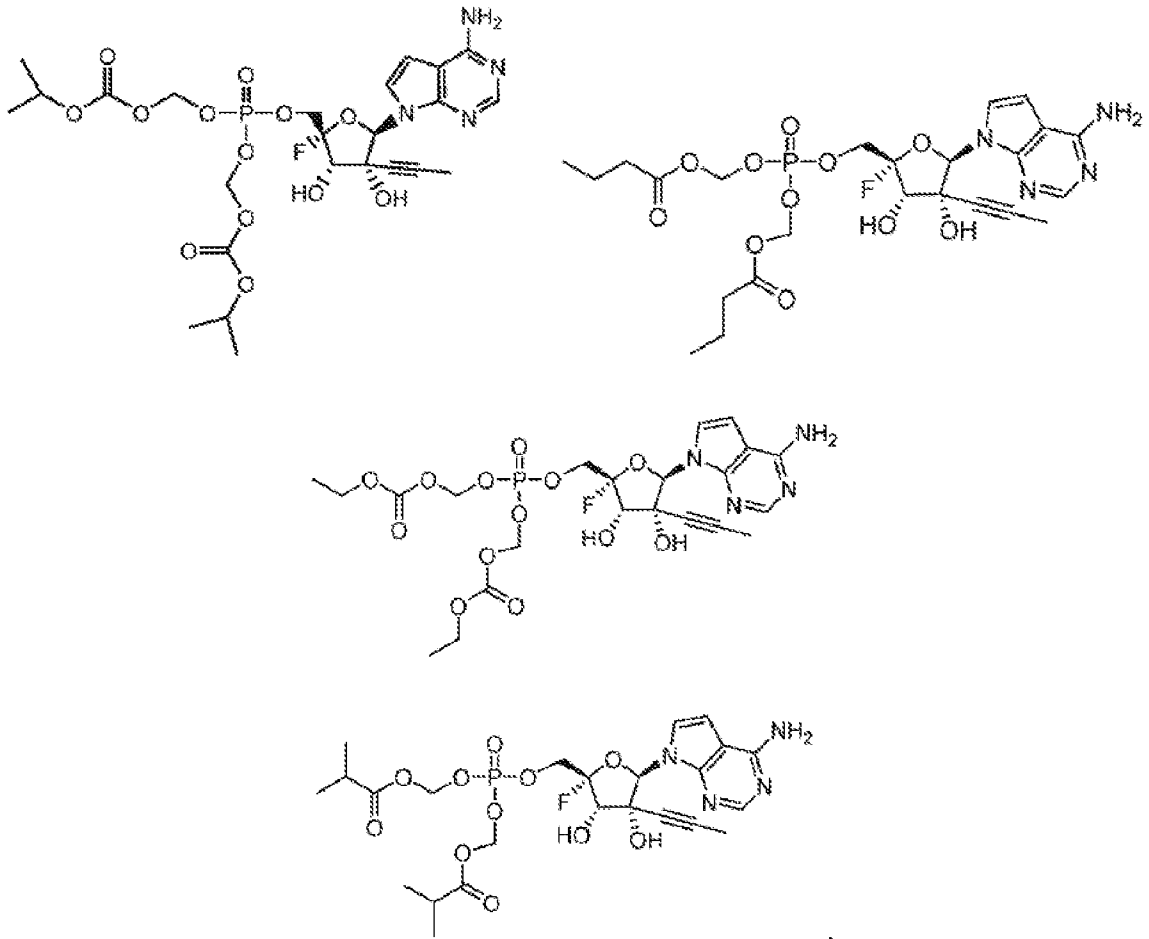
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



donde:

- 5 R¹ es H, Me, Et, iPr o ciclopropil;
 R² es -P(=X)(OR⁴)₂;
 R³ es H;
 X is O;
 R⁴ se selecciona de -CH₂-O-C(O)-R y CH₂-O-C(O)-OR, donde cada R es independientemente alquilo C₁-C₄;
 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, donde R¹ es metil.
3. El compuesto de la reivindicación 1, que se selecciona de:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones precedentes o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más vectores farmacéuticamente aceptables.
5. Una combinación que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más coagentes terapéuticamente activos.
6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso como medicamento.
7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso en el tratamiento de una infección por rinovirus humano o una infección por chikungunya.