



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **3 005 115**

⑮ Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)  
**C07H 19/23** (2006.01)  
**A61K 31/706** (2006.01)  
**A61P 31/16** (2006.01)  
**A61M 15/00** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)  
**A61P 31/14** (2006.01)  
**A61P 31/00** (2006.01)

⑫

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2013 E 21168626 (6)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.11.2024 EP 3932931**

---

⑮ Título: **Un nebulizador que comprende una composición farmacéutica que comprende análogos de carba-nucleósidos 2'-sustituidos para el tratamiento antiviral**

⑯ Prioridad:

**13.03.2012 US 201261610411 P**

⑯ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**13.03.2025**

⑯ Titular/es:

**GILEAD SCIENCES, INC. (100.00%)**  
333 Lakeside Drive  
Foster City, CA 94404, US

⑯ Inventor/es:

**CLARKE, MICHAEL O' NEIL HANRAHAN**

⑯ Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**ES 3 005 115 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

Un nebulizador que comprende una composición farmacéutica que comprende análogos de carba-nucleósidos 2'-sustituidos para el tratamiento antiviral

5 CAMPO DE LA INVENCIÓN

La invención se refiere de manera general a un nebulizador que comprende una composición farmacéutica que comprende compuestos con actividad antiviral, más particularmente nucleósidos activos contra las infecciones 10 por virus *Orthomyxoviridae*.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15 Los virus de la gripe de la familia *Orthomyxoviridae* que pertenecen a los géneros A y B son los responsables de las epidemias de gripe estacional de cada año, que provocan infecciones respiratorias agudas contagiosas. Los niños, los ancianos y las personas con enfermedades crónicas corren un alto riesgo de desarrollar complicaciones graves que llevan a altas tasas de morbilidad y mortalidad (Memoli et al., Drug Discovery Today 2008, 13, 590- 595). Entre los tres géneros de gripe, los virus de tipo A son los patógenos humanos más virulentos que provocan la enfermedad más grave, pueden transmitirse a otras especies y dan lugar a pandemias de gripe humana. El reciente 20 brote de gripe humana de la agresiva cepa porcina A/H1N1 en 2009 ha puesto de relieve la necesidad de nuevos agentes terapéuticos antivirales. Aunque actualmente se usan programas anuales de vacunación para proteger a las poblaciones de la infección por gripe, estos programas deben anticiparse a las cepas de virus que prevalecerán 25 durante los brotes estacionales para ser eficaces y no abordan el problema de las pandemias de gripe repentina e imprevistas. De nuevo, el reciente brote de gripe humana de la agresiva cepa porcina A/H1N1 en 2009 es un ejemplo de este problema.

30 En la actualidad hay disponibles varios agentes terapéuticos y otros están en fase de desarrollo (Hedlund et al., Viruses 2010, 2, 1766-1781). Entre los agentes terapéuticos antigripales actualmente disponibles se encuentran los bloqueantes de los canales de iones M2 amantadina y rimantadina y los inhibidores de la neuraminidasa oseltamivir y zanamivir. Sin embargo, se ha desarrollado resistencia a todos estos medicamentos. Por lo tanto, hay una necesidad continua de nuevos agentes terapéuticos antigripales.

35 Actualmente están en desarrollo nuevos agentes antigripales prometedores con mecanismos de acción novedosos. Entre estos nuevos agentes se encuentra el favipiravir, que ataca la replicación génica viral inhibiendo la ARN polimerasa de la gripe. Sin embargo, aún no se sabe con certeza si este candidato a fármaco en fase de investigación estará disponible para terapia. Por lo tanto, sigue siendo necesario desarrollar compuestos adicionales que inhiban la gripe mediante este mecanismo de acción.

40 En Carbohydrate Research 2001, 331(1), 77-82; Nucleosides & Nucleotides 1996, 15(1-3), 793-807; Tetrahedron Letters 1994, 35(30), 5339-42; Heterocycles 1992, 34(3), 569-74; J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1985, 3, 621-30; J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1984, 2, 229-38; WO 2000056734; Organic Letters 2001, 3(6), 839-842; J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1999, 20, 2929-2936; y J. Med. Chem. 1986, 29(11), 2231-5 se han divulgado ciertos 45 ribosidos de las nucleobases pirrolo[1,2-f][1,2,4]triazina, imidazo[1,5-f][1,2,4]triazina, imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina, y [1,2,4]triazolo[4,3-f][1,2,4]triazina. Sin embargo, estos compuestos no se han divulgado como útiles para el tratamiento de infecciones por *Orthomyxoviridae*.

50 Los ribosidos de nucleobases de pirrolo[1,2-f][1,2,4]triazinil, imidazo[1,5-f][1,2,4]triazinil, imidazo[1,2-f][1,2,4]triazinil, y [1,2,4]triazolo[4,3-f][1,2,4]triazinilo con actividad antiviral, anti-VHC y anti-RdRp han sido divulgados por Babu, WO2008/089105 y WO2008/141079, Cho et al., WO2009/132123, y Francom et al. WO2010/002877. Butler et al., WO2009/132135, divulga nucleósidos pirrolo[1,2-f][1,2,4]triazinilo, imidazo[1,5-f][1,2,4]triazinilo, imidazo[1,2-f][1,2,4]triazinilo y [1,2,4]triazolo[4,3-f][1,2,4]triazinilo antivirales en los que la posición 1' del azúcar de nucleósido está sustituida por un grupo ciano o metilo. Sin embargo, no se ha divulgado la eficacia de estos compuestos para el tratamiento de las infecciones por *Orthomyxoviridae*.

55 El documento WO 02/32920 A2 (Stuyver et al.) enseña una variedad de nucleósidos con núcleos mono- y bicíclicos útiles en el tratamiento de infecciones víricas por *Flaviviridae*, *Orthomyxoviridae* y *Paramyxoviridae*.

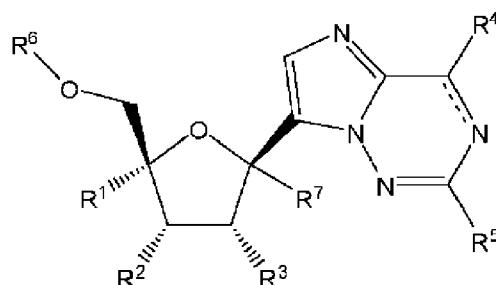
## SUMARIO DE LA INVENCIÓN

60 En la presente se proporciona un nebulizador que comprende una composición farmacéutica que comprende compuestos de Fórmula I que inhiben virus de la familia *Orthomyxoviridae*. La composición también comprende compuestos de Fórmula I que inhiben polimerasas de ácido nucleico virales, particularmente la ARN polimerasa dependiente de ARN de *Orthomyxoviridae* (RdRp), en lugar de polimerasas de ácido nucleico celulares. Los compuestos de Fórmula I son útiles para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae* en humanos y otros animales.

65

La primera realización de la invención está dirigida a un nebulizador que comprende una composición farmacéutica para nebulización y administración al espacio endobronquial, en donde el nebulizador es capaz de transformar en aerosol la composición farmacéutica en partículas con un diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) predominantemente entre 1  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$ , en donde la composición farmacéutica comprende un compuesto de

5 Fórmula I:



Formula I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>7</sup> es independientemente H, halógeno, OR<sup>a</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo, CN, N<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo sustituido, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo o (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo sustituido,

25 en donde el sustituyente se selecciona del grupo que consiste en -X, -R<sup>b</sup>, -OH, =O, -OR<sup>b</sup>, -SR<sup>b</sup>, -S<sup>-</sup>, -NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -N<sup>+</sup>R<sup>b</sup><sub>3</sub>, =NR<sup>b</sup>, -CX<sub>3</sub>, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO<sub>2</sub>, =N<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -NHC(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sup>b</sup>, -NHC(=O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -S(=O)z-, -S(=O)<sub>2</sub>OH, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>b</sup>, -OS(=O)<sub>2</sub>OR<sup>b</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -OP(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(OH)<sub>2</sub>, -P(O)(OR<sup>b</sup>)(O<sup>-</sup>), -C(=O)R<sup>b</sup>, -C(=O)X, -C(S)R<sup>b</sup>, -C(O)OR<sup>b</sup>, -C(O)O<sup>-</sup>, -C(S)OR<sup>b</sup>, -C(O)SR<sup>b</sup>, -C(S)SR<sup>b</sup>, -C(O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(S)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(=NR<sup>b</sup>)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada R<sup>b</sup>

30 es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, arilo, arilalquilo o heterociclo;

R<sup>2</sup> es OR<sup>a</sup>;

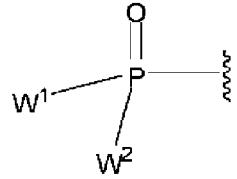
R<sup>3</sup> es halógeno o N<sub>3</sub>;

cada R<sup>a</sup> es independientemente H, arilo, arilalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, o (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo;

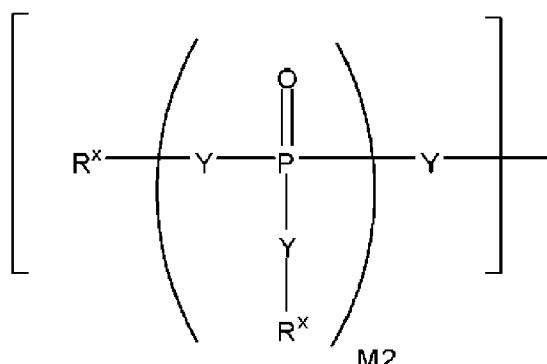
cada uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es independientemente H, =O, OR<sup>a</sup>, N(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, S(O)<sub>n</sub>R<sup>a</sup>, halógeno, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, o (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo;

n es 0, 1 o 2; y

R<sup>6</sup> es H, arilo, arilalquilo, o



en donde W<sup>1</sup> y W<sup>2</sup> son cada uno, independientemente, OR<sup>a</sup> o un grupo de la Fórmula Ia:



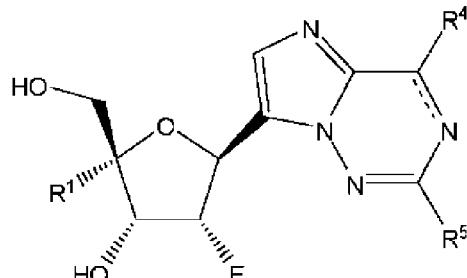
Formula Ia

65 en donde:

10 cada Y es independientemente un enlace u O;  
 15 M2 es 0, 1 o 2; y

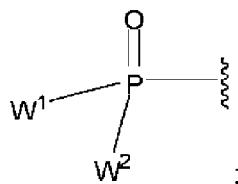
20 5 cada R<sup>x</sup> es H, halógeno u OH.

En una realización preferida, el compuesto de Fórmula I está representado por la Fórmula II:

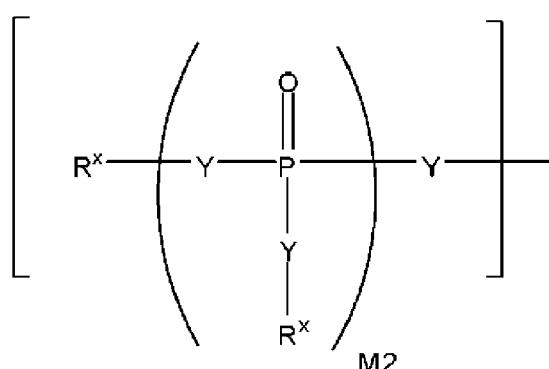


25 20 Formula II.

30 En otras realizaciones preferidas, R<sup>1</sup> es H, R<sup>2</sup> es OH u O-bencilo y/o R<sup>3</sup> es F o N<sub>3</sub> y, más preferiblemente, R<sup>3</sup> es F. En una cierta realización de la presente invención, R<sup>4</sup> es NH<sub>2</sub> y R<sup>5</sup> es H, F, Cl, Br, N<sub>3</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, SMe, o SO<sub>2</sub>Me, y, en otra realización, R<sup>5</sup> es NH<sub>2</sub> y R<sup>4</sup> es =O, OH, OMe, Cl, Br, I, NH<sub>2</sub>, NHMe, NHcPr o SMe. En otras 35 realizaciones preferidas más, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son ambos NH<sub>2</sub> o SMe, R<sup>5</sup> es H, o R<sup>4</sup> es =O. En otras realizaciones preferidas, R<sup>6</sup> es H, bencilo, o



40 35 en donde W<sup>2</sup> es OH y W<sup>1</sup> es un grupo de la Fórmula Ia:



45 50 55 Formula Ia

60 en donde cada Y es O; M2 es 2; y cada R<sup>x</sup> es H. En otra realización, R<sup>7</sup> es H u OH.

65 En algunas realizaciones, la composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o II o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

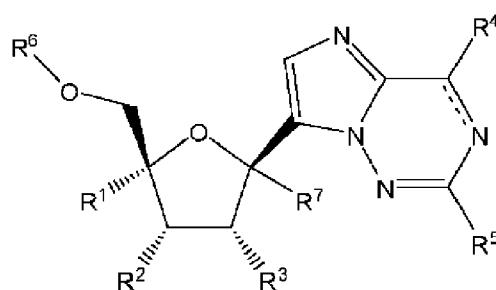
70 En otra realización, la composición farmacéutica comprende además por lo menos un agente terapéutico adicional. En otra realización, el por lo menos un agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un corticosteroide, un modulador de la transducción de señales antiinflamatorias, un broncodilatador agonista  $\beta$ 2-adrenorreceptor, un anticolinérgico, un agente mucolítico, solución salina hipertónica, un agente que inhibe la migración de células proinflamatorias al sitio de la infección, y mezclas de los mismos. En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de la hemaglutinina viral, un inhibidor de la neuramidasa viral, un inhibidor

5 del canal iónico M2, un inhibidor de la ARN polimerasa dependiente de ARN *Orthomyxoviridae* o una sialidasa. En otra realización, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en un interferón, ribavirina, oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amantadina, rimantadina, CS-8958, favipiravir, AVI-7100, inhibidor de la proteasa alfa-1 y DAS181.

10 En otra realización de la invención, el compuesto de Fórmula I o II y/o por lo menos un agente terapéutico adicional es para su administración por inhalación.

15 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

20 La primera realización de la presente invención está dirigida a un nebulizador que comprende una composición farmacéutica para nebulización y administración al espacio endobronquial, en donde el nebulizador es capaz de transformar en aerosol la composición farmacéutica en partículas con un diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) predominantemente entre 1  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$ , en donde la composición farmacéutica comprende un compuesto de Fórmula I:



30 Formula I

35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

40 cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>7</sup> es independientemente H, halógeno, OR<sup>a</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo, CN, N<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo sustituido, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo o (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo sustituido, en donde el sustituyente se selecciona del grupo que consiste en -X, -R<sup>b</sup>, -OH, =O, -OR<sup>b</sup>, -SR<sup>b</sup>, -S<sup>-</sup>, -NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -N<sup>+</sup>R<sup>b</sup><sub>3</sub>, =NR<sup>b</sup>, -CX<sub>3</sub>, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO<sub>2</sub>, =N<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -NHC(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sup>b</sup>, -NHC(=O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -S(=O)z-, -S(=O)<sub>2</sub>OH, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>b</sup>, -OS(=O)<sub>2</sub>OR<sup>b</sup>, -S(=O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -OP(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(O)<sub>2</sub>, -P(=O)(OH)<sub>2</sub>, -P(=O)(OR<sup>b</sup>)(O<sup>-</sup>), -C(=O)R<sup>b</sup>, -C(=O)X, -C(S)R<sup>b</sup>, -C(O)OR<sup>b</sup>, -C(O)O<sup>-</sup>, -C(S)OR<sup>b</sup>, -C(O)SR<sup>b</sup>, -C(S)SR<sup>b</sup>, -C(O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(S)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(=NR<sup>b</sup>)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada R<sup>b</sup> es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, arilo, arilalquilo o heterociclo;

45 R<sup>2</sup> es OR<sup>a</sup>;

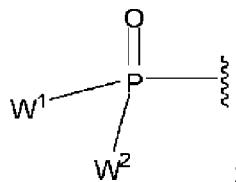
R<sup>3</sup> es halógeno o N<sub>3</sub>;

50 cada R<sup>a</sup> es independientemente H, arilo, arilalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, o (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo;

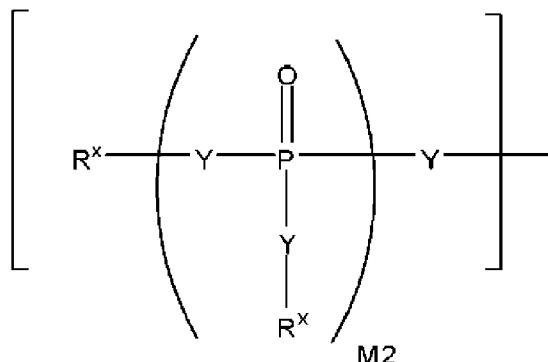
55 cada uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es independientemente H, =O, OR<sup>a</sup>, N(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, S(O)<sub>n</sub>R<sup>a</sup>, halógeno, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, o (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo;

n es 0, 1 o 2; y

60 R<sup>6</sup> es H, arilo, arilalquilo, o



65 en donde W<sup>1</sup> y W<sup>2</sup> son cada uno, independientemente, OR<sup>a</sup> o un grupo de la Fórmula Ia:



en donde:

cada Y es independientemente un enlace u O;  
 M2 es 0, 1 o 2; y  
 cada R<sup>x</sup> es H, halógeno u OH.

A menos que se indique lo contrario, se pretende que los siguientes términos y frases usados en la presente tengan el significado que se indica a continuación.

Cuando en la presente se usan nombres comerciales, los solicitantes pretenden incluir independientemente el nombre comercial del producto y el ingrediente o ingredientes farmacéuticos activos del nombre comercial del producto.

"Alquilo" es un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios o terciarios. Por ejemplo, un grupo alquilo puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (es decir, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>), de 1 a 8 átomos de carbono (es decir, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>), o de 1 a 6 átomos de carbono (es decir, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>). Ejemplos de grupos alquilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me, -CH<sub>3</sub>), etilo (Et, -CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1-propilo (*n*-Pr, *n*-propilo, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2-propilo (*i*-Pr, *i*-propilo, -CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1-butilo (*n*-Bu, *n*-butilo, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2-metilo-1-propilo (*i*-Bu, *i*-butilo, -CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2-butilo (*s*-Bu, *s*-butilo, -CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2-metilo-2-propilo (*t*-Bu, *t*-butilo, -C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1-pentilo (*n*-pentilo, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2-pentilo (-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3-pentilo (-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2-metilo-2-butilo (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3-metilo-2-butilo (-CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3-metilo-1-butilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2-metilo-1-butilo (-CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 1-hexilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2-hexilo (-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3-hexilo (-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)), 2-metilo-2-pentilo (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3-metilo-2-pentilo (-CH(CH<sub>3</sub>)CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 4-metilo-2-pentilo (-CH(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3-metilo-3-pentilo (-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2-metilo-3-pentilo (-CH(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)(CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,3-dimetilo-2-butilo (-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3,3-dimetilo-2-butilo (-CH(CH<sub>3</sub>)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, y octilo (-CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>CH<sub>3</sub>).

"Cicloalquilo" es un hidrocarburo que contiene átomos de carbono cíclicos. Por ejemplo, un grupo cicloalquilo puede tener de 3 a 20 átomos de carbono (es decir, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>20</sub>), de 3 a 8 átomos de carbono (es decir, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), o de 3 a 6 átomos de carbono (es decir, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). Algunos ejemplos de grupos cicloalquilo adecuados son el ciclopropilo (c-propilo, cPr).

"Alquenilo" es un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con por lo menos un sitio de insaturación, es decir, un enlace doble carbono-carbono, *sp*<sup>2</sup>. Por ejemplo, un grupo alquenilo puede tener de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>), de 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), o de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Algunos ejemplos de grupos alquenilo adecuados incluyen, entre otros, etileno o vinilo (-CH=CH<sub>2</sub>), alilo (-CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), ciclopentenilo (-C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>) y 5-hexenilo (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>).

"Alquinilo" es un hidrocarburo que contiene átomos de carbono normales, secundarios, terciarios o cíclicos con por lo menos un sitio de insaturación, es decir, un enlace triple *sp* carbono-carbono. Por ejemplo, un grupo alquinilo puede tener de 2 a 20 átomos de carbono (es decir, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>20</sub>), de 2 a 8 átomos de carbono (es decir, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>), o de 2 a 6 átomos de carbono (es decir, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>). Ejemplos de grupos alquinilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, acetilénico (-C≡CH), propargílico (-CH<sub>2</sub>C≡CH), y similares.

"Arilo" significa un radical hidrocarbonado aromático derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema de anillos aromáticos original. Por ejemplo, un grupo arilo puede tener de 6 a 20 átomos de carbono, de 6 a 14 átomos de carbono o de 6 a 10 átomos de carbono. Los grupos arilo típicos

incluyen, entre otros, radicales derivados del benceno (por ejemplo, fenilo), benceno sustituido, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares.

5 "Arilalquilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unido a un átomo de carbono, típicamente un átomo de carbono terminal o  $sp^3$ , se sustituye por un radical arilo. Los grupos arilalquilo típicos incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares. El grupo arilalquilo puede comprender de 7 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, la fracción alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono y la fracción arilo tiene de 6 a 14 átomos de carbono.

10 10 "Carbociclo" o "carbociclico" se refiere a un anillo saturado (es decir, cicloalquilo), parcialmente insaturado (por ejemplo, cicloalquenilo, cicloalquadienilo, etc.) o aromático que tiene de 3 a 7 átomos de carbono como un monociclo, de 7 a 12 átomos de carbono como un biciclo y hasta aproximadamente 20 átomos de carbono como un policiclo. Los carbociclos monocíclicos tienen de 3 a 7 átomos de carbono en el anillo, más típicamente 5 o 6 átomos de carbono en el anillo. Los carbociclos bicíclicos tienen de 7 a 12 átomos en el anillo, por ejemplo, dispuestos como un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o 9 o 10 átomos de anillo dispuestos como un sistema biciclo [5,6] o [6,6], o anillos espiro-fusionados. Ejemplos no limitativos de carbociclos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, ciclohexilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, 1-ciclohex-3-enilo y fenilo. Ejemplos no limitativos de biciclocarbociclos incluyen el naftilo, el tetrahidronaptaleseno y la decalina.

15 20 "Haloalquilo" es un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, en el que uno o más átomos de hidrógeno del grupo alquilo se sustituyen por un átomo de halógeno. La porción alquilo de un grupo haloalquilo puede tener de 1 a 20 átomos de carbono (es decir, haloalquilo  $C_1-C_{20}$ ), de 1 a 12 átomos de carbono (es decir, haloalquilo  $C_1-C_{12}$ ), o de 1 a 6 átomos de carbono (es decir, haloalquilo  $C_1-C_6$ ). Los ejemplos de grupos haloalquilo adecuados incluyen, pero no se limitan a,  $-CF_3$ ,  $-CHF_2$ ,  $-CFH_2$ ,  $-CH_2CF_3$ , y similares.

25 30 "Heterociclo" o "heterociclico", como se usa en la presente, incluye, a modo de ejemplo y no de limitación, los heterociclos descritos en Paquette, Leo A.; *Principles of Modern Heterocyclic Chemistry* (W.A. Benjamin, Nueva York, 1968), en particular los capítulos 1, 3, 4, 6, 7 y 9; *The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A Series of Monographs*" (John Wiley & Sons, Nueva York, 1950 hasta la actualidad), en particular los volúmenes 13, 14, 16, 19 y 28; y J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. En una realización específica de la invención, "heterociclo" incluye un "carbociclo" como se define en la presente, en donde uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) átomos de carbono se han sustituido por un heteroátomo (por ejemplo, O, N o S). Los términos "heterociclo" o "heterociclico" incluyen anillos saturados, anillos parcialmente insaturados y anillos aromáticos (es decir, anillos heteroaromáticos).

35 40 El término "sustituido" en referencia a alquilo, cicloalquilo, alquenilo, arilo, etc., por ejemplo, "alquilo sustituido", "cicloalquilo sustituido", "alquenilo sustituido", "arilo sustituido", respectivamente, en el que uno o más átomos de hidrógeno se sustituyen cada uno independientemente con un sustituyente no hidrógeno. Los sustituyentes típicos incluyen, pero no se limitan a,  $-X$ ,  $-R^b$ ,  $-OH$ ,  $=O$ ,  $-OR^b$ ,  $-SR^b$ ,  $-S^-$ ,  $-NR^{b2}$ ,  $-N^+R^{b3}$ ,  $=NR^b$ ,  $-CX_3$ ,  $-CN$ ,  $-OCN$ ,  $-SCN$ ,  $-N=C=O$ ,  $-NCS$ ,  $-NO$ ,  $-NO_2$ ,  $=N_2$ ,  $-N_3$ ,  $-NHC(=O)R^b$ ,  $-OC(=O)R^b$ ,  $-NHC(=O)NR^{b2}$ ,  $-S(=O)_2^-$ ,  $-S(=O)_2OH$ ,  $-S(=O)_2R^b$ ,  $-OS(=O)_2OR^b$ ,  $-S(=O)_2NR^{b2}$ ,  $-S(=O)R^b$ ,  $-OP(=O)(OR^b)_2$ ,  $-P(=O)(OR^b)_2$ ,  $-P(=O)(O^-)_2$ ,  $-P(=O)(OH)_2$ ,  $-P(=O)(OR^b)(O^-)$ ,  $-C(=O)R^b$ ,  $-C(=O)X$ ,  $-C(S)R^b$ ,  $-C(O)OR^b$ ,  $-C(O)O^-$ ,  $-C(S)OR^b$ ,  $-C(O)SR^b$ ,  $-C(S)SR^b$ ,  $-C(O)NR^{b2}$ ,  $-C(S)NR^{b2}$ ,  $-C(=NR^b)N$   $R^b_2$ , donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada  $R^b$  es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, arilo, arilalquilo o heterociclo.

45 50 El término "profármaco", como se usa en la presente, se refiere a cualquier compuesto que, cuando se administra a un sistema biológico, genera la sustancia farmacéutica, es decir, el principio activo, como resultado de una reacción o reacciones químicas espontáneas, reacción o reacciones químicas catalizadas por enzimas, fotólisis y/o reacción o reacciones químicas metabólicas. Un profármaco es, por tanto, un análogo modificado covalentemente o una forma latente de un compuesto terapéuticamente activo.

55 60 "Grupo protector" se refiere a una fracción de un compuesto que enmascara o altera las propiedades de un grupo funcional o las propiedades del compuesto en su conjunto. La subestructura química de un grupo protector varía ampliamente. Una de las funciones de un grupo protector es servir de producto intermedio en la síntesis de la sustancia farmacéutica original. Los grupos protectores químicos y las estrategias de protección/desprotección son bien conocidos en la técnica. Véase: "Protective Groups in Organic Chemistry", Theodora W. Greene (John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1991). Los grupos protectores se utilizan a menudo para enmascarar la reactividad de ciertos grupos funcionales, para ayudar en la eficiencia de las reacciones químicas deseadas, por ejemplo, hacer y romper enlaces químicos de una manera ordenada y planificada. La protección de los grupos funcionales de un compuesto altera otras propiedades físicas además de la reactividad del grupo funcional protegido, como la polaridad, la lipofilia (hidrofobicidad) y otras propiedades que pueden medirse con herramientas analíticas comunes. Los productos intermedios protegidos químicamente pueden ser biológicamente activos o inactivos.

65 Los compuestos protegidos también pueden presentar propiedades alteradas y, en algunos casos, optimizadas *in vitro* e *in vivo*, como el paso a través de membranas celulares y la resistencia a la degradación

enzimática o al secuestro. En esta función, los compuestos protegidos con efectos terapéuticos previstos pueden denominarse profármacos. Otra función de un grupo protector es convertir el fármaco parental en un profármaco, por lo que el fármaco parental se libera tras la conversión del profármaco *in vivo*. Como los profármacos activos pueden absorberse más eficazmente que el fármaco parental, los profármacos pueden poseer una mayor potencia *in vivo* que el fármaco parental. Los grupos protectores se eliminan *in vitro*, en el caso de los productos intermedios químicos, o *in vivo*, en el caso de los profármacos. En el caso de los productos intermedios químicos, no es particularmente importante que los productos resultantes tras la desprotección, por ejemplo, alcoholes, sean fisiológicamente aceptables, aunque en general es más deseable que los productos sean farmacológicamente inocuos.

"Fracción de profármaco" significa un grupo funcional lábil que se separa del compuesto inhibidor activo durante el metabolismo, sistémicamente, dentro de una célula, por hidrólisis, escisión enzimática o por algún otro proceso (Bundgaard, Hans, "Design and Application of Prodrugs" en Textbook of Drug Design and Development (1991), P. Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, Eds. Harwood Academic Publishers, pp. 113-191). Las enzimas que son capaces de un mecanismo de activación enzimática con los compuestos de profármaco de fosfonato incluyen, pero no se limitan a, amidasas, esterasas, enzimas microbianas, fosfolipasas, colinesterasas y fosfatas. Las fracciones de profármaco pueden servir para mejorar la solubilidad, absorción y lipofilicidad para optimizar la administración, biodisponibilidad y eficacia del fármaco. Una fracción de profármaco puede incluir un metabolito activo o el propio fármaco.

Las fracciones de profármacos ejemplares incluyen los ésteres de aciloximetilo hidrolíticamente sensibles o lábiles  $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{R}^{30}$  y los carbonatos de aciloximetilo  $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OR}^{30}$  donde  $\text{R}^{30}$  es alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$  sustituido, arilo  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$  o arilo  $\text{C}_6\text{-C}_{20}$  sustituido. El éster de aciloxialquilo se usó como una estrategia de profármaco para ácidos carboxílicos y luego se aplicó a fosfatos y fosfonatos por Farquhar et al., (1983) J. Pharm. Sci. 72: 324; también Patentes de Estados Unidos Números 4816570, 4968788, 5663159 y 5792756. En ciertos compuestos, una fracción del profármaco forma parte de un grupo fosfato. El éster de aciloxialquilo puede usarse para administrar ácidos fosfóricos a través de las membranas celulares y mejorar la biodisponibilidad oral. Una variante cercana del éster de aciloxialquilo, el éster de aloxicarboniloxialquilo (carbonato), también puede mejorar la biodisponibilidad oral como fracción de profármaco en los compuestos de las combinaciones de la invención. Un éster de aciloximetilo ejemplar es el pivaloximetilo, (POM)  $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{C}(\text{CH}_3)_3$ . Una fracción de profármaco de aciloximetilcarbonato ejemplar es el pivoiloximetilcarbonato (POC)  $-\text{CH}_2\text{OC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ .

El grupo fosfato puede ser una fracción de profármaco de fosfato. La fracción del profármaco puede ser sensible a la hidrólisis, por ejemplo, pero no limitada a las que comprenden un grupo pivoiloximetilcarbonato (POC) o POM. Alternativamente, la fracción del profármaco puede ser sensible a la escisión enzimática potenciada, como un éster de lactato o un grupo fosfonamidato-éster.

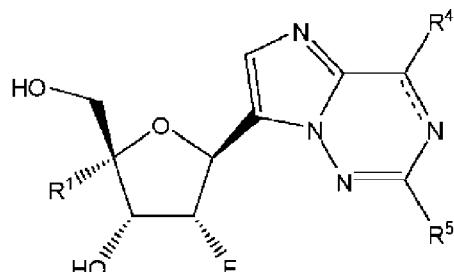
Un experto en la técnica reconocerá que los sustituyentes y otras fracciones de los compuestos de Fórmula I deben seleccionarse para proporcionar un compuesto que sea suficientemente estable para proporcionar un compuesto farmacéuticamente útil que pueda formularse en una composición farmacéutica aceptablemente estable. Se contempla que los compuestos de Fórmula I que tienen dicha estabilidad entran dentro del alcance de la presente invención.

Cabe señalar que están comprendidos en la presente invención todos los enantiómeros, diastereómeros y mezclas racémicas, tautómeros, polimorfos, pseudopolimorfos de compuestos dentro del alcance de la Fórmula I y sales farmacéuticamente aceptables (así como complejos, cocróstales, etc.), solvatos o ésteres de los mismos. Todas las mezclas de tales enantiómeros y diastereómeros están dentro del alcance de la presente invención.

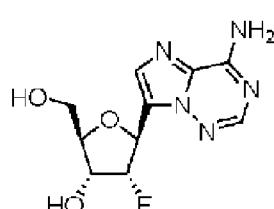
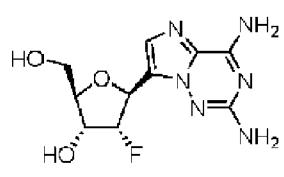
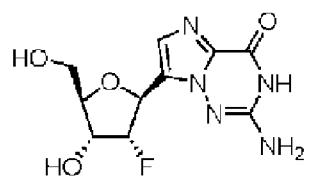
Un compuesto de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden existir como diferentes polimorfos o pseudopolimorfos. Como se usa en la presente, polimorfismo cristalino significa la capacidad de un compuesto cristalino de existir en diferentes estructuras cristalinas. El polimorfismo cristalino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

Un compuesto de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables también pueden existir como un sólido amorf. Como se usa en la presente, un sólido amorf es un sólido en el que no existe un orden de largo alcance de las posiciones de los átomos en el sólido. Esta definición se aplica también cuando el tamaño del cristal es de dos nanómetros o menos. Para crear las formas amorfas de la presente invención pueden usarse aditivos, incluyendo solventes. La presente invención comprende todas las formas amorfas de los compuestos de Fórmula I y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En cierta realización de la invención, el compuesto de Fórmula I está representado por la Fórmula II:



en donde las variables son como se definen para la Fórmula I. Preferiblemente, R<sup>1</sup> en la Fórmula II es H, R<sup>4</sup> es NH<sub>2</sub> o =O, y/o R<sup>5</sup> es NH<sub>2</sub> o H. Más preferiblemente, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

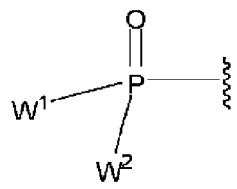
50 En una realización preferida de los compuestos de Fórmula I, R<sup>1</sup> es H, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>F, CHF<sub>2</sub>, CH=CH<sub>2</sub>, C=CH, CN, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub> o CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, y, más preferiblemente, R<sup>1</sup> es H.

55 En una realización adicional de la invención, R<sup>2</sup> es OH u O-bencilo, y más preferiblemente es OH.

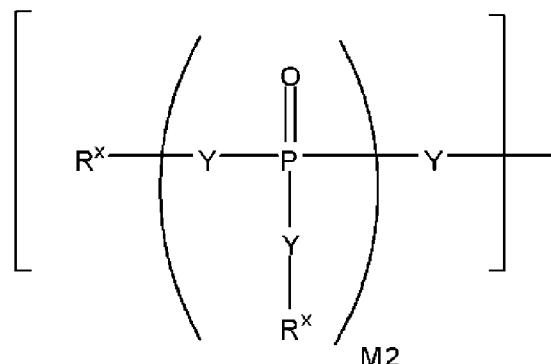
55 En una realización adicional de la invención, R<sup>3</sup> es F o N<sub>3</sub>, y más preferiblemente R<sup>3</sup> es F.

60 En una realización adicional preferida, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan entre H, NH<sub>2</sub>, =O, NHMe, NHcPr, OH, OMe, Cl, Br, I, SMe, F, N<sub>3</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, y SO<sub>2</sub>Me, y más preferiblemente R<sup>4</sup> es =O o NH<sub>2</sub>, y/o R<sup>5</sup> es H o NH<sub>2</sub>.

65 En una realización adicional, R<sup>6</sup> es H, bencilo, o



en donde  $W^2$  es OH y  $W^1$  es un grupo de la Fórmula Ia:



en donde

30 Y es O;

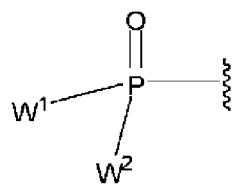
M2 es 2; y

cada  $R^x$  es H y, más preferiblemente,  $R^6$  es H.

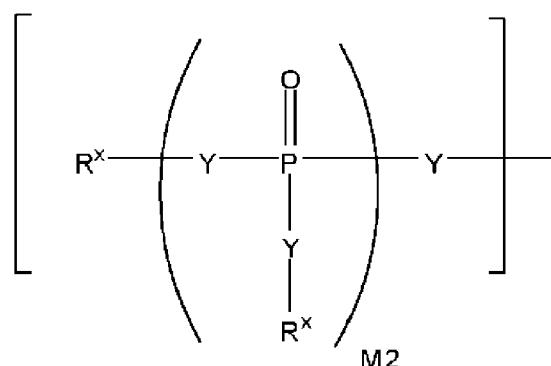
En una realización adicional de la invención,  $R^7$  es H u OH, y, más preferiblemente,  $R^7$  es H.

35 En otras realizaciones preferidas de la invención,  $R^1$  es H,  $R^2$  es OH y  $R^3$  es F. En otra realización preferida,  $R^1$  es H,  $R^2$  es OH,  $R^3$  es F,  $R^4$  y  $R^5$  son  $NH_2$ , H o =O, y  $R^6$  y  $R^7$  son hidrógeno.

40 En otra realización preferida más,  $R^1$  es H,  $R^2$  es O-bencilo u OH,  $R^3$  es F,  $R^4$  es SMe,  $NH_2$  o =O,  $R^5$  es SMe,  $SO_2Me$ , H o  $NH_2$ ,  $R^6$  es bencilo o



50 en donde  $W^2$  es OH y  $W^1$  es un grupo de la fórmula Ia:



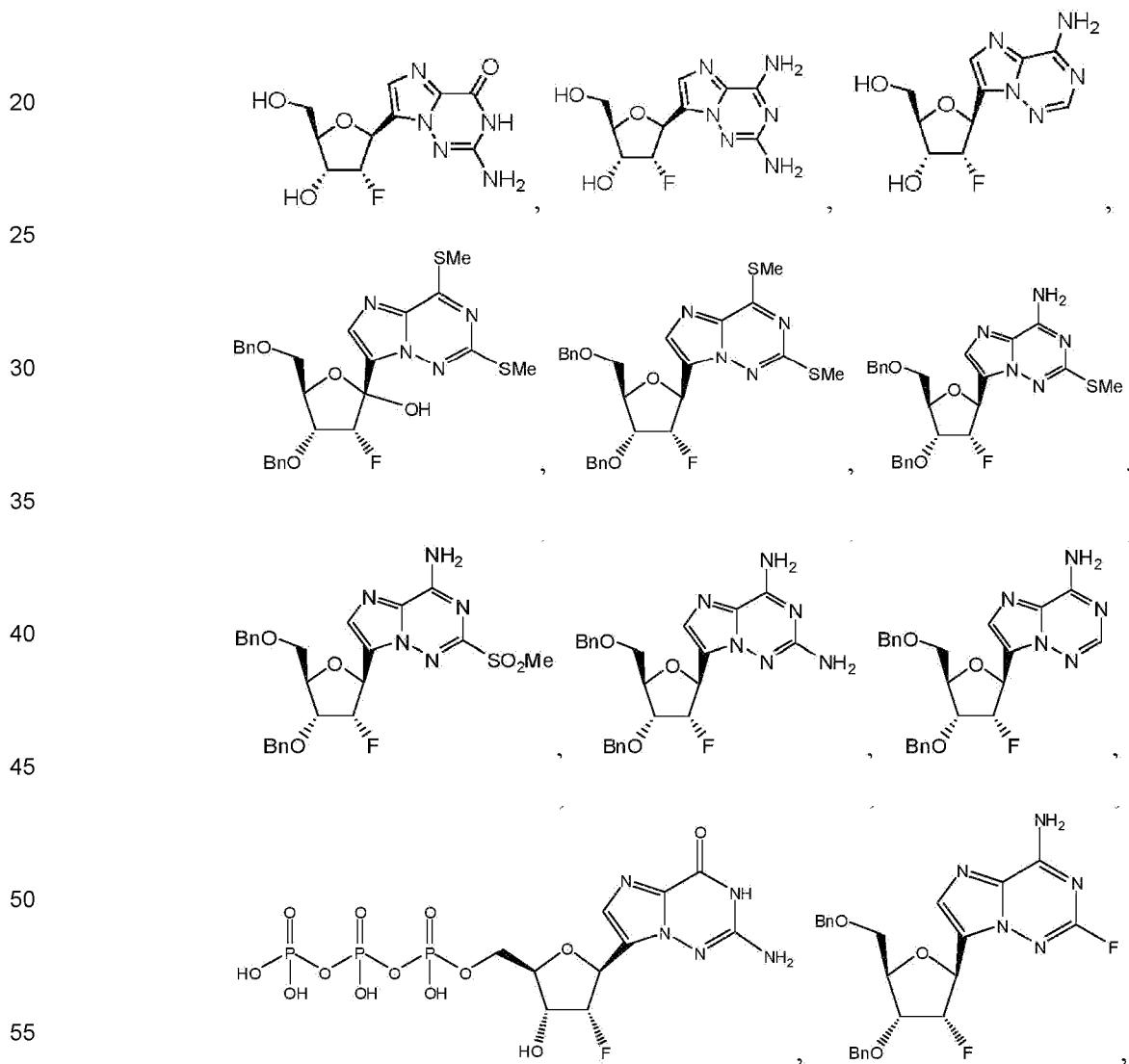
en donde:

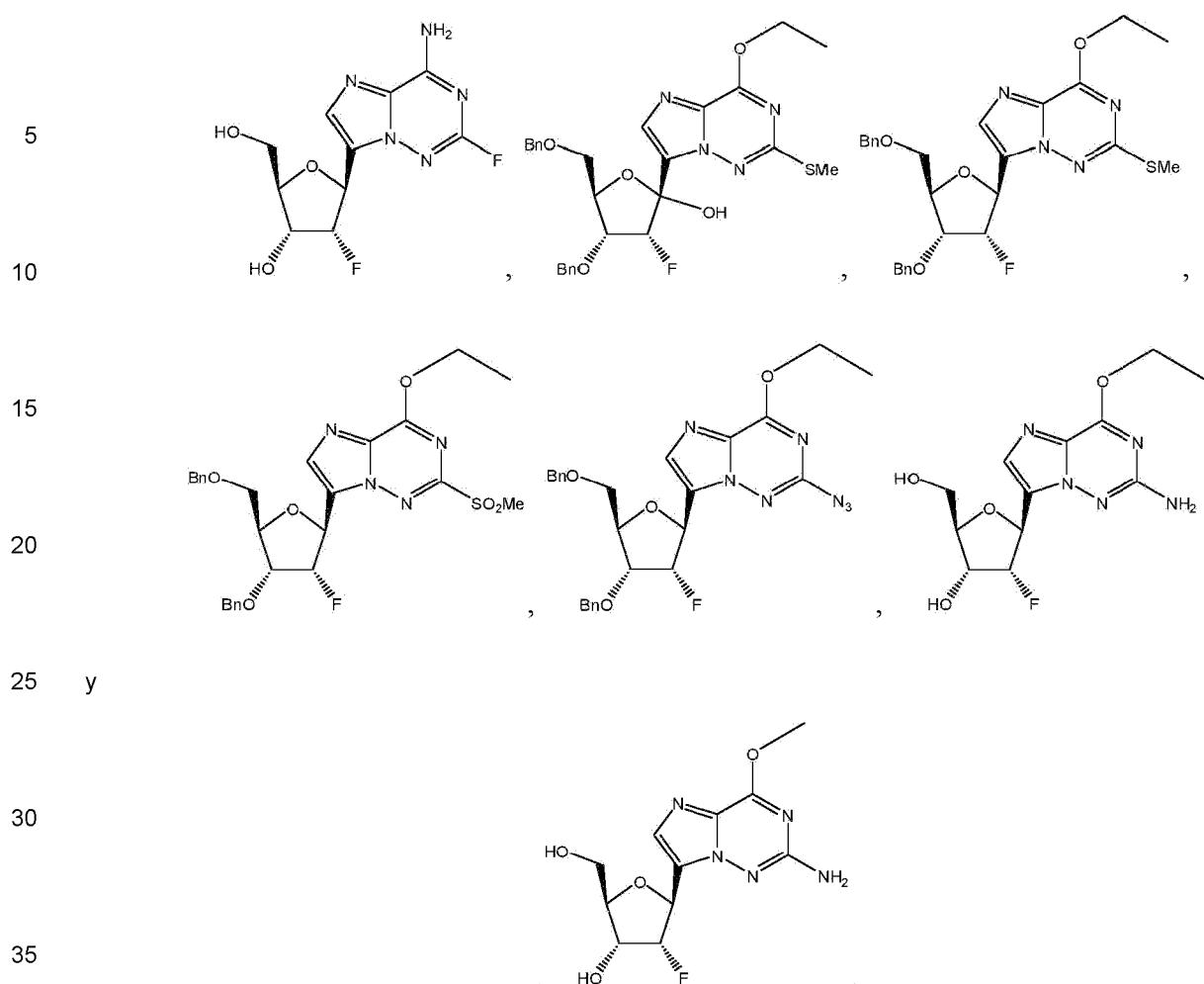
Y es O;  
M2 es 2; y  
cada R<sup>x</sup> es H, y R<sup>7</sup> es H u OH.

5 En otras ciertas realizaciones de la invención, R<sup>4</sup> es NH<sub>2</sub> y R<sup>5</sup> es H, F, Cl, Br, N<sub>3</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, SMe, o SO<sub>2</sub>Me, o R<sup>5</sup> es NH<sub>2</sub> y R<sup>4</sup> es =O, OH, OMe, Cl, Br, I, NH<sub>2</sub>, NHMe, NHcPr o SMe. En realizaciones preferidas, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son ambos 10 NH<sub>2</sub> o SMe, R<sup>5</sup> es H, o R<sup>4</sup> es =O.

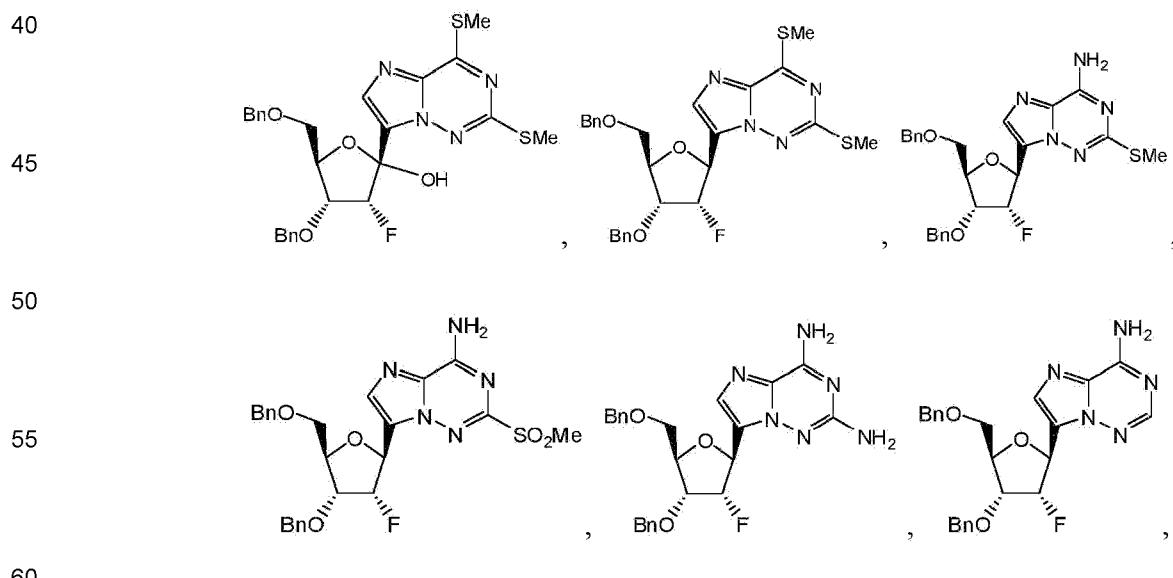
10 En otra realización de la invención, R<sup>1</sup> es H, R<sup>2</sup> es O-bencílo, R<sup>3</sup> es F, R<sup>4</sup> es SMe, NH<sub>2</sub>, OMe u OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, R<sup>5</sup> es H, SMe, SO<sub>2</sub>Me, NH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub> o F, R<sup>6</sup> es bencílo, y R<sup>7</sup> es H u OH.

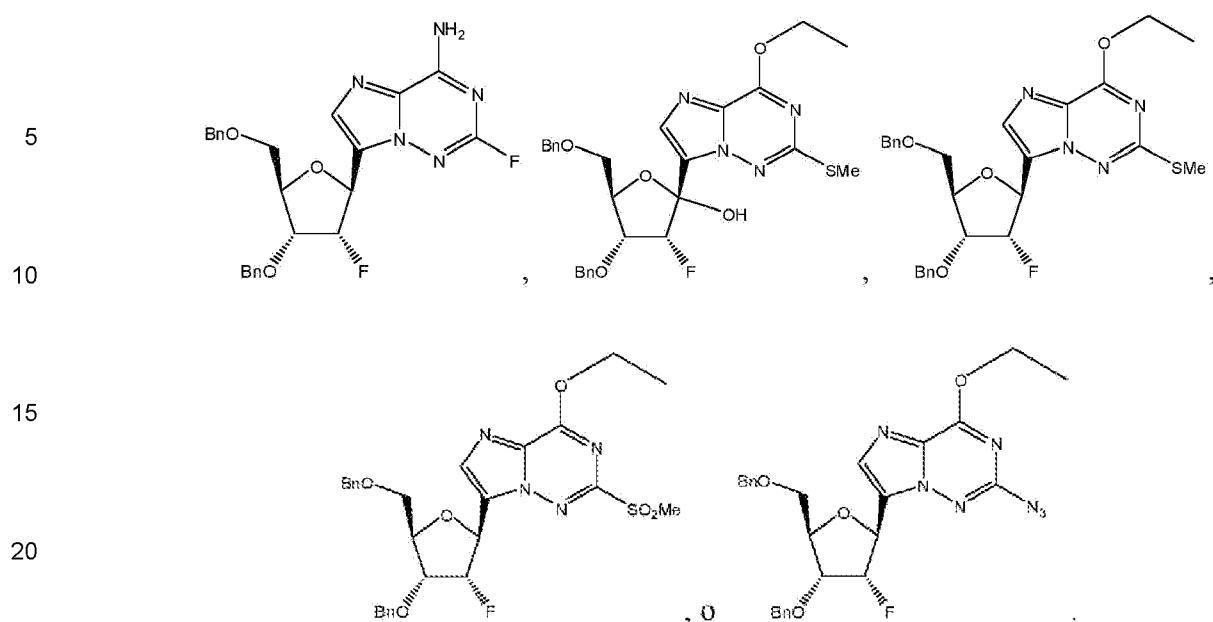
15 En una realización preferida de la invención, el compuesto de Fórmula I se selecciona entre:

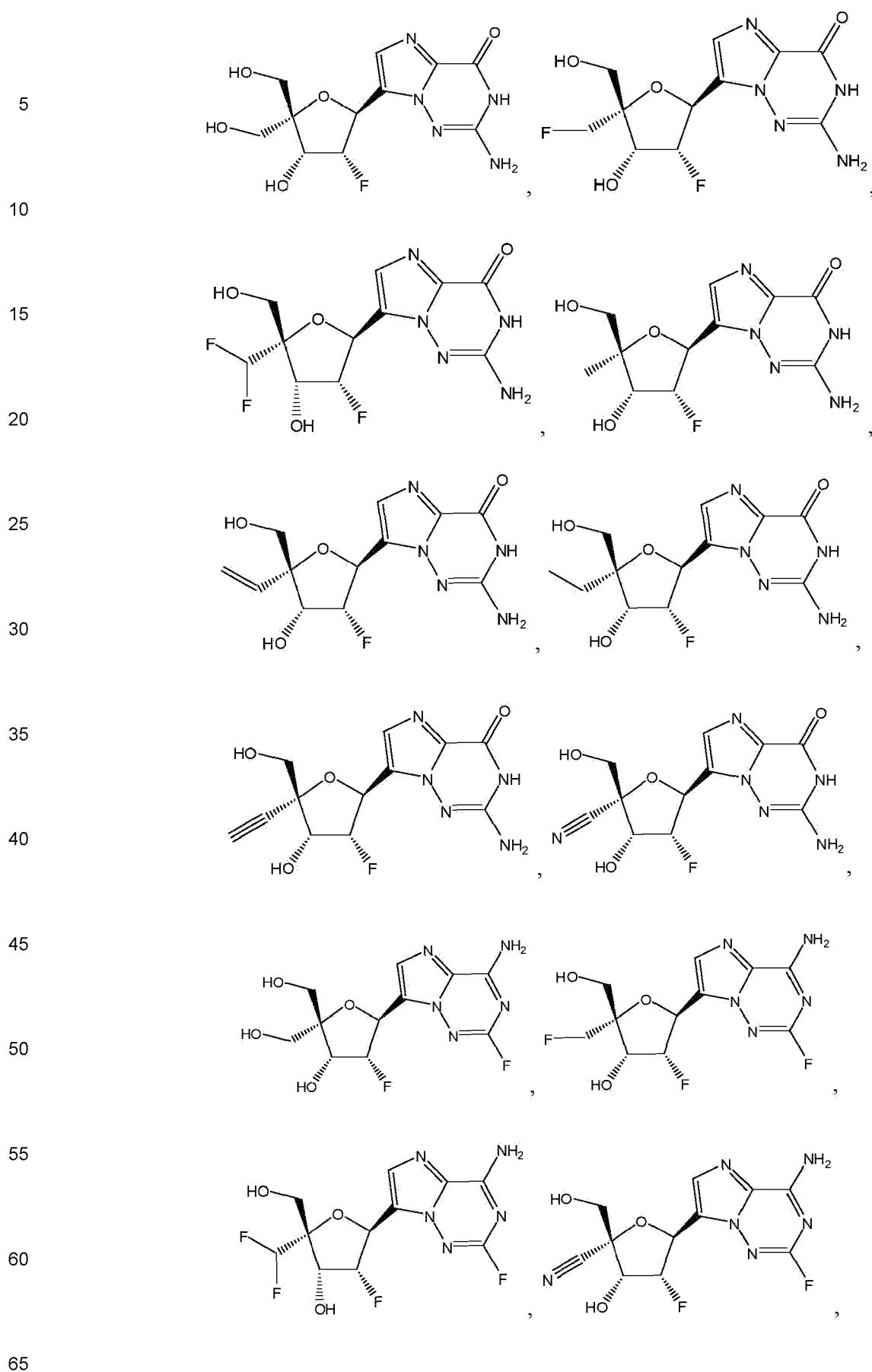


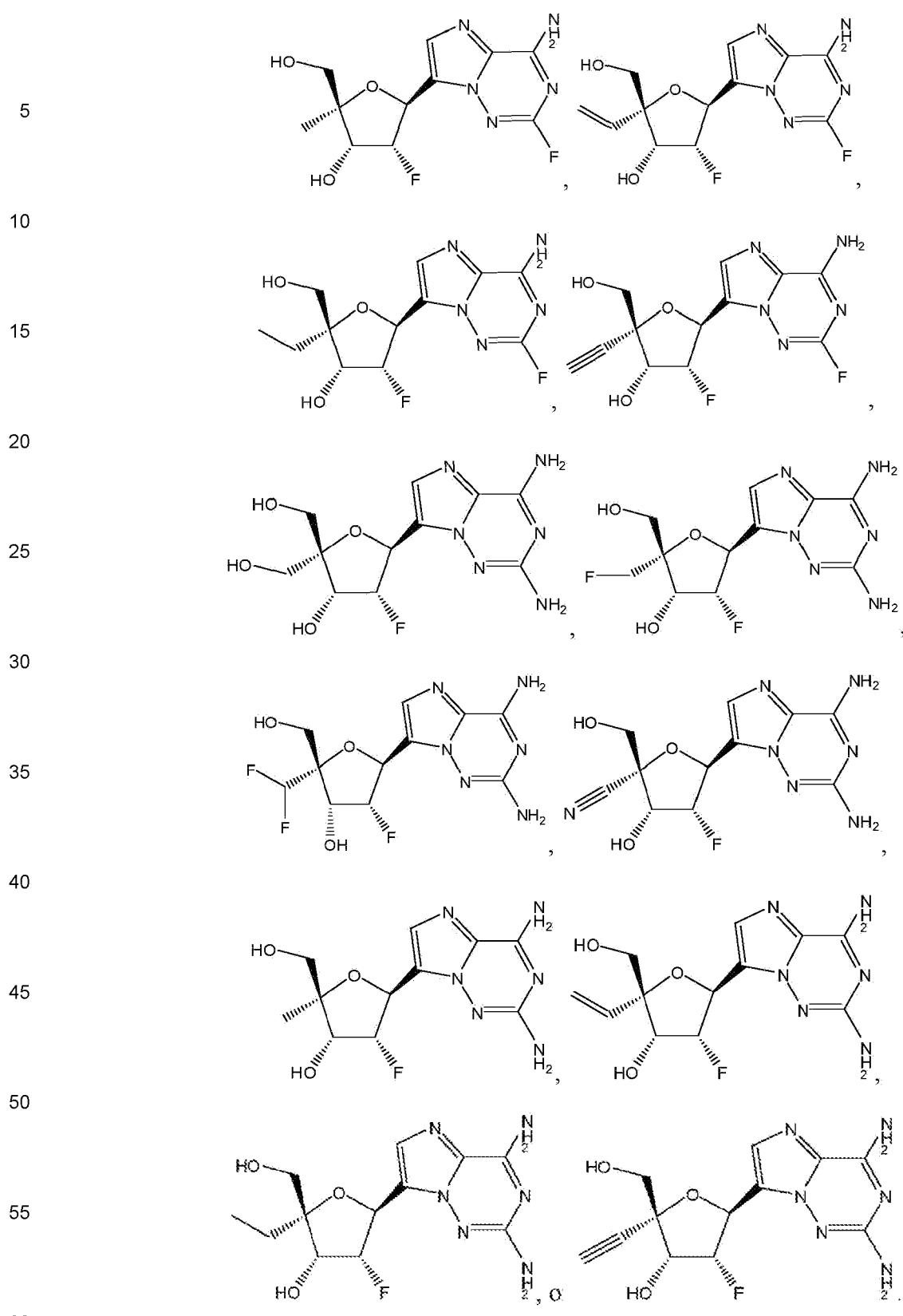


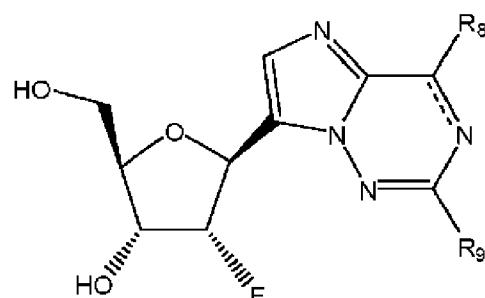
En otra realización de la invención, el compuesto de Fórmula I es:









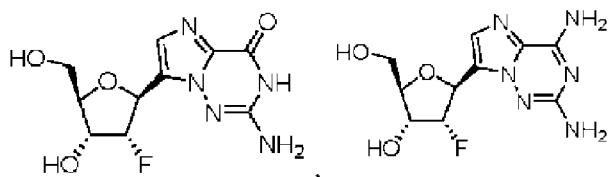


Formula II

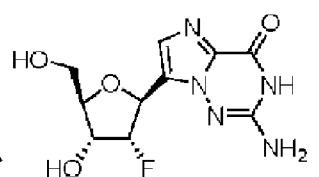
15 en donde

R<sup>8</sup> es NH<sub>2</sub>, OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> o =O y  
R<sup>9</sup> es NH<sub>2</sub>, H o F.

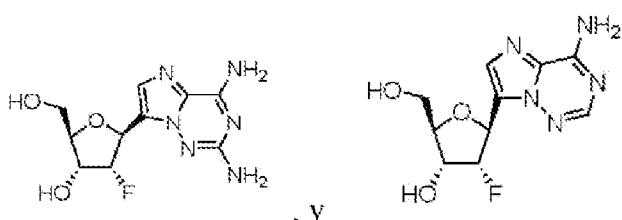
20 Preferiblemente, el compuesto de Fórmula II se selecciona del grupo que consiste en



Más preferiblemente, el compuesto de Fórmula II se selecciona del grupo que consiste en



5



10 Los términos "composición farmacéutica" y "formulación farmacéutica" se usan indistintamente en la presente. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención contienen compuestos de esta invención y pueden formularse usando cualquier portador y excipiente convencional, que se seleccionará de acuerdo con la práctica ordinaria. Los comprimidos contendrán excipientes, deslizantes, cargas, aglutinantes y similares. Las formulaciones farmacéuticas acuosas se preparan en forma estéril y, cuando están destinadas a una administración 15 distinta de la oral, generalmente serán isotónicas. Todas las formulaciones farmacéuticas contendrán opcionalmente excipientes como los expuestos en el "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986). Los excipientes adecuados incluyen, entre otros, ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes, como EDTA, hidratos de carbono, como dextrano, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmetilcelulosa, ácido esteárico y similares. El pH de las formulaciones farmacéuticas puede variar preferiblemente de aproximadamente 3 a aproximadamente 11, y más preferiblemente de 20 aproximadamente 7 a aproximadamente 10.

25 Aunque es posible que los principios activos se administren solos, puede ser preferible presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones farmacéuticas, tanto para uso veterinario como para uso humano, de la invención comprenden por lo menos un principio activo, como se ha definido anteriormente, junto con uno o más portadores o excipientes y, opcionalmente, agentes terapéuticos adicionales.

30 En la presente una cantidad terapéuticamente eficaz o una dosis eficaz se usan indistintamente y se entiende que significan la cantidad de principio activo necesaria para obtener el resultado deseado. La dosis eficaz de principio activo depende, como mínimo, de la naturaleza de la afección que se esté tratando, la toxicidad, si el compuesto se 35 está usando profilácticamente (dosis más bajas) o contra una infección vírica activa, el método de administración y la formulación farmacéutica, y puede ser determinada fácilmente por el practicante clínico usando estudios convencionales de escalado de dosis. La cantidad eficaz puede ser de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día; preferiblemente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal al día; más preferiblemente, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 5 mg/kg de peso corporal al día; y lo más preferible, de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 0,5 mg/kg de peso corporal al día. Por ejemplo, la dosis candidata diaria para un humano adulto de aproximadamente 70 kg de peso corporal puede variar de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg, preferiblemente entre aproximadamente 5 mg y aproximadamente 500 mg, y puede presentarse en forma de dosis única o múltiple.

40 En otra realización, la composición farmacéutica comprende además por lo menos un agente terapéutico adicional. El agente terapéutico adicional puede ser otro compuesto de Fórmula I o cualquier agente terapéutico adecuado para su uso con el compuesto de Fórmula I. Por ejemplo, el agente terapéutico adicional puede 45 seleccionarse del grupo que consiste en un corticosteroide, un modulador de la transducción de señales antiinflamatorias, un broncodilatador agonista  $\beta$ 2-adrenorreceptor, un anticolinérgico, un agente mucolítico, solución salina hipertónica, un agente que inhibe la migración de células proinflamatorias al sitio de la infección, y mezclas de 50 los mismos. El agente terapéutico adicional también puede incluir otros fármacos para el tratamiento de infecciones por virus *Orthomyxoviridae*. En otras realizaciones, el agente terapéutico adicional puede consistir en inhibidores de las hemaglutininas víricas, inhibidores de la neuramidasas víricas, bloqueantes de los canales iónicos M2, inhibidores de las ARN polimerasas dependientes de ARN de *Orthomyxoviridae*, sialidasas y otros fármacos para el tratamiento de las infecciones por *Orthomyxoviridae*. En otra realización más, el agente terapéutico adicional es un interferón, ribavirina, oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amantadina, rimantadina, CS-8958, favipiravir, AVI-7100, inhibidor de la proteasa alfa-1 o DAS 181.

55 En ciertas otras realizaciones de la invención, la infección por *Orthomyxoviridae* que está siendo tratada por la composición farmacéutica está provocada por un virus de la Gripe A, un virus de la Gripe B o un virus de la Gripe C.

60 Las composiciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para cualquier vía de administración apropiada para la afección a tratar. Las vías adecuadas incluyen inhalación, nasal y similares. Se apreciará que la vía preferida puede variar, por ejemplo, con la afección del receptor.

65 Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método conocido en la técnica de la farmacia. Las técnicas y composiciones farmacéuticas generalmente se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, PA). Tales métodos incluyen el paso de asociar el ingrediente activo con el portador que constituye uno o más

ingredientes accesorios. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan asociando uniformemente e íntimamente el ingrediente activo con portadores líquidos o portadores finamente divididos o ambos.

5 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención comprenden una combinación de acuerdo con la invención junto con uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables y opcionalmente agentes terapéuticos adicionales. Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo pueden presentarse en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido.

10 Las suspensiones acuosas de la invención contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes incluyen un agente de suspensión, como carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes dispersantes o humectantes como un fosfátilo de origen natural (por ejemplo, lecitina), un producto de condensación de un óxido de alquíleno con un ácido graso (por ejemplo, estearato de polioxietileno), un producto de condensación de óxido de etileno con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo, heptadecaetilenooxicetanol), un producto de condensación de óxido de etileno con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por ejemplo, monooleato de sorbitán de polioxietileno). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservantes, como p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, como sacarosa o sacarina.

15 20 Las suspensiones oleosas pueden formularse suspendiendo el principio activo en un aceite vegetal, como aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral como parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener un agente espesante, como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes, como los expuestos anteriormente, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral apetitosa. Estas composiciones pueden conservarse mediante la adición de un 25 antioxidant, como el ácido ascórbico.

30 35 Los polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el ingrediente activo mezclado con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican por los divulgados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

40 45 Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden presentarse en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, como el aceite de oliva o el aceite de cacahuete, un aceite mineral, como la parafina líquida, o una mezcla de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados incluyen gomas de origen natural, como la goma acacia y la goma tragacanto, fosfátidos de origen natural, como la lecitina de soja, ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, como el monooleato de sorbitán, y productos de condensación de estos ésteres parciales con óxido de etileno, como el monooleato de sorbitán de polioxietileno. La emulsión también puede contener agentes edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires pueden formularse con agentes edulcorantes, como glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales composiciones farmacéuticas también pueden contener un demulcente, un conservante, un aromatizante o un colorante.

50 55 La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con un portador, por ejemplo, para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración.

60 65 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración intrapulmonar o nasal tienen un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 micras, como aproximadamente 0,5, aproximadamente 1, aproximadamente 30, aproximadamente 35, etc., que se administra por inhalación rápida a través del conducto nasal o por inhalación a través de la boca para alcanzar los sacos alveolares. Las composiciones farmacéuticas adecuadas incluyen soluciones acuosas u oleosas del principio activo. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración en aerosol o en polvo seco pueden prepararse de acuerdo con métodos convencionales y pueden administrarse con agentes terapéuticos adicionales, como compuestos usados hasta ahora en el tratamiento o la profilaxis de infecciones por *Orthomyxoviridae*, como se describe a continuación.

70 75 En otro aspecto, la invención es una composición inhalable novedosa, eficaz, segura, no irritante y fisiológicamente compatible que comprende un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, adecuada para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae* y bronquiolitis potencialmente asociada. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son las sales de ácidos inorgánicos, que incluyen las sales de clorhidrato, bromhidrato, sulfato o fosfato, ya que pueden provocar menos irritación pulmonar. Preferiblemente, la composición farmacéutica inhalable se administra al espacio endobronquial en un aerosol que comprende partículas con un diámetro aerodinámico mediano de masa (MMAD) de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ . Preferiblemente, el compuesto de Fórmula I se formula para su administración en aerosol usando un nebulizador, un inhalador de dosis medida presurizado (IDPP) o un inhalador de polvo seco (IPS).

Ejemplos no limitativos de nebulizadores incluyen nebulizadores de atomización, de chorro, ultrasónicos, presurizados, de placa porosa vibratoria o equivalentes, incluyendo aquellos nebulizadores que utilizan tecnología de suministro de aerosol adaptable (Denyer, J. Aerosol Medicine Pulmonary Drug Delivery 2010, 23 Supp 1, S 1-S 10). Un nebulizador de chorro utiliza la presión del aire para romper una solución líquida en gotitas de aerosol. Un nebulizador ultrasónico funciona mediante un cristal piezoelectrónico que cizalla un líquido en pequeñas gotitas de aerosol. Un sistema de nebulización presurizado fuerza la solución bajo presión a través de pequeños poros para generar gotitas de aerosol. Un dispositivo de placa porosa vibrante utiliza una vibración rápida para cizallar una corriente de líquido en gotitas del tamaño adecuado.

10 La composición farmacéutica para nebulización se administra al espacio endobronquial en un aerosol que comprende partículas con una MMAD predominantemente entre aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  usando un nebulizador capaz de transformar en aerosol la composición farmacéutica del compuesto de Fórmula I en partículas de la MMAD requerida. Para lograr una eficacia terapéutica óptima y evitar efectos secundarios sistémicos y en las vías respiratorias superiores, la mayoría de las partículas transformadas en aerosol no deben tener una MMAD de más de aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ . Si un aerosol contiene un gran número de partículas con una MMAD de más de 5  $\mu\text{m}$ , las partículas se depositan en las vías respiratorias superiores disminuyendo la cantidad de fármaco administrado al lugar de inflamación y broncoconstricción en el tracto respiratorio inferior. Si la MMAD del aerosol es menor de 1  $\mu\text{m}$  aproximadamente, las partículas tienden a permanecer suspendidas en el aire inhalado y posteriormente se exhalan durante la espiración.

20 Cuando se formula y administra, la composición farmacéutica en aerosol para nebulización administra una dosis terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula I al sitio de la infección por *Orthomyxoviridae* suficiente para tratar la infección por *Orthomyxoviridae*. La cantidad de fármaco administrada debe ajustarse para reflejar la eficiencia de la administración de una dosis terapéuticamente eficaz del compuesto de Fórmula I. En una realización preferida, una combinación de la composición farmacéutica en aerosol acuoso con el nebulizador de atomización, de chorro, presurizado, de placa porosa vibratoria o ultrasónico permite, dependiendo del nebulizador, una administración de aproximadamente, por lo menos, el 20 a aproximadamente el 90%, típicamente de aproximadamente el 70% de la dosis administrada del compuesto de Fórmula I o II en las vías respiratorias. En una realización preferida, se administra por lo menos de aproximadamente el 30 a aproximadamente el 50% del principio activo. Más preferiblemente, se administra de aproximadamente el 70 a aproximadamente el 90% del principio activo.

35 En otra realización de la presente invención, un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra como un polvo seco inhalable. Los compuestos se administran endobronquialmente como una composición farmacéutica de polvo seco para administrar eficazmente partículas finas de compuesto en el espacio endobronquial usando inhaladores de polvo seco o de dosis medida. Para la administración mediante DPI, el compuesto de Fórmula I se procesa en partículas con, predominantemente, MMAD entre aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  mediante secado por pulverización de molienda, procesamiento de fluidos críticos o precipitación a partir de la solución. Los dispositivos y procedimientos de molienda de medios, molienda por chorro y secado por pulverización capaces de producir los tamaños de partícula con una MMAD entre aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  son bien conocidos en la técnica. En una realización, se añaden excipientes al compuesto de Fórmula I antes de procesarlo en partículas de los tamaños requeridos. En otra realización, los excipientes se mezclan con las partículas del tamaño requerido para ayudar a la dispersión de las partículas del fármaco, por ejemplo usando lactosa como excipiente.

45 Las determinaciones del tamaño de las partículas se realizan usando dispositivos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, un impactador en cascada Anderson multietapa u otro método adecuado como los citados específicamente en el capítulo 601 de la Farmacopea de los Estados Unidos como dispositivos de caracterización de aerosoles en inhaladores de dosis medidas y de polvo seco.

50 En otra realización preferida, un compuesto de Fórmula I se administra como polvo seco usando un dispositivo como un inhalador de polvo seco u otros dispositivos de dispersión de polvo seco. Ejemplos no limitativos de inhaladores de polvo seco y dispositivos incluyen los divulgados en los documentos US5,458,135; US5,740,794; US5775320; US5,785,049; US3,906,950; US4,013,075; US4,069,819; US4,995,385; US5,522,385; US4,668,218; US4,667,668; US4,805,811 y US5,388,572. Hay dos diseños principales de inhaladores de polvo seco. Un diseño es 55 un dispositivo de medición en el que se coloca un depósito para el fármaco dentro del dispositivo y el paciente añade una dosis del fármaco en la cámara de inhalación. El segundo diseño es un dispositivo de medición de fábrica en el que cada dosis individual se ha fabricado en un recipiente separado. Ambos sistemas dependen de la composición farmacéutica del fármaco en pequeñas partículas de MMAD de 1  $\mu\text{m}$  y aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ , y a menudo implican la coformulación con partículas de excipiente más grandes como, entre otras, la lactosa. El fármaco en polvo se coloca en la cámara de inhalación (ya sea por medición del dispositivo o por rotura de una dosificación medida de fábrica) y el flujo inspiratorio del paciente acelera la salida del polvo del dispositivo hacia la cavidad oral. Las características de flujo no laminar de la trayectoria del polvo provocan que los agregados excipiente-fármaco se descompongan, y la masa de las partículas grandes de excipiente provoca su impacto en la parte posterior de la garganta, mientras que las partículas más pequeñas de fármaco se depositan en las profundidades de los pulmones. En realizaciones preferidas, un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra como polvo 60

65 65

seco usando cualquiera de los tipos de inhalador de polvo seco descritos en la presente, en donde la MMAD del polvo seco, excluyendo los excipientes, se encuentra predominantemente en el intervalo de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  a aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ .

5 En otra realización preferida, un compuesto de Fórmula I se administra como polvo seco usando un inhalador de dosis medida. Ejemplos no limitativos de inhaladores y dispositivos de dosis medida incluyen los divulgados en los documentos US5,261,538; US5,544,647; US5,622,163; US4,955,371; US3,565,070; US3,361306 y US6,116,234. En realizaciones preferidas, un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra como un polvo seco usando un inhalador de dosis medida en donde la MMAD del polvo seco, excluyendo cualquier excipiente, se encuentra predominantemente en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ .

10 Las composiciones farmacéuticas se presentan en recipientes de dosis unitarias o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y pueden almacenarse en un estado seco por congelación (liofilizado) que sólo requiere la adición del portador líquido estéril, por ejemplo agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las 15 composiciones farmacéuticas de dosificación unitaria preferidas son las que contienen una dosis diaria o una subdosis diaria unitaria, como se ha mencionado anteriormente en la presente, o una fracción adecuada de la misma, del principio activo.

20 Debe entenderse que, además de los ingredientes mencionados particularmente con anterioridad, las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de composición farmacéutica en cuestión, por ejemplo, las adecuadas para administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

25 La invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden por lo menos un ingrediente activo como se ha definido anteriormente junto con un portador veterinario para el mismo.

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

35 Los compuestos de Fórmula I pueden usarse para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contengan como ingrediente activo uno o más compuestos de Fórmula I ("formulaciones de liberación controlada") en las que la liberación del ingrediente activo esté controlada y regulada para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un ingrediente activo dado.

40 En otra realización, la presente solicitud divulga composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con por lo menos un agente terapéutico adicional, y un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

45 Para el tratamiento de las infecciones por virus *Orthomyxoviridae*, preferiblemente, el agente terapéutico adicional es activo contra las infecciones por virus *Orthomyxoviridae*, en particular las infecciones por virus de la gripe. Ejemplos no limitativos de estos agentes terapéuticos activos son los inhibidores de la hemaglutinina viral, los inhibidores de la neuramidasa viral, los bloqueantes de los canales iónicos M2, los inhibidores de las ARN polimerasas dependientes de ARN de *Orthomyxoviridae* y las sialidasas. Ejemplos no limitativos de inhibidores de la neuramidasa incluyen oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir y CS-8958. Los ejemplos no limitativos de inhibidores de los canales M2 virales incluyen la amantadina y la rimantadina. Ejemplos no limitativos de inhibidores de ARN polimerasas dependientes de ARN de *Orthomyxoviridae* son ribavirina y favipiravir. Un ejemplo no limitativo de sialidasas es el DAS181. En otra realización, el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en ribavirina, oseltamivir, zanamivir, laninamivir, peramivir, amantadina, rimantadina, CS-8958, favipiravir, AVI-7100, inhibidor de la proteasa alfa-1 y DAS181.

55 Muchas de las infecciones de los virus *Orthomyxoviridae* son infecciones respiratorias. Por lo tanto, en combinación con los compuestos de Fórmula I o II pueden usarse agentes terapéuticos activos adicionales usados para tratar los síntomas respiratorios y las secuelas de la infección. Por ejemplo, otros agentes terapéuticos adicionales preferidos en combinación con los compuestos de Fórmula I o II para el tratamiento de infecciones respiratorias víricas incluyen, entre otros, broncodilatadores y corticosteroides.

60 Los glucocorticoides, que se introdujeron por primera vez como tratamiento del asma en 1950 (Carryer, Journal of Allergy, 21, 282-287, 1950), siguen siendo el tratamiento más potente y consistentemente eficaz para esta enfermedad, aunque su mecanismo de acción aún no se conoce por completo (Morris, J. Allergy Clin. Immunol., 75 (1 Pt) 1-13, 1985). Desafortunadamente, las terapias con glucocorticoides orales están asociadas con profundos efectos secundarios indeseables, como obesidad troncular, hipertensión, glaucoma, intolerancia a la glucosa, aceleración de la formación de cataratas, pérdida mineral ósea y efectos psicológicos, todos los cuales limitan su uso como agentes terapéuticos a largo plazo (Goodman y Gilman, 10<sup>a</sup> edición, 2001). Una solución a los efectos secundarios sistémicos

consiste en administrar los corticoides directamente en el sitio de la inflamación. Los corticosteroides inhalados (ICS) se han desarrollado para mitigar los graves efectos adversos de los esteroideos orales. Ejemplos no limitativos de corticosteroides que pueden usarse en combinaciones con los compuestos de Fórmula I son la dexametasona, el fosfato sódico de dexametasona, la fluorometolona, el acetato de fluorometolona, el loteprednol, el etabonato de loteprednol, la hidrocortisona, la prednisolona, las fludrocortisonas, la triamcinolona, acetónido de triamcinolona, betametasona, dipropionato de beclometasona, metilprednisolona, fluocinolona, acetónido de fluocinolona, flunisolida, fluocortin-21-butilato, flumetasona, pivalato de flumetasona, budesonida, propionato de halobetasol, furoato de mometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida; o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otros agentes antiinflamatorios que actúan a través de mecanismos de cascada antiinflamatoria también son útiles como agentes terapéuticos adicionales en combinación con los compuestos de Fórmula I para el tratamiento de infecciones respiratorias víricas. La aplicación de "moduladores de la transducción de señales antiinflamatorias" (denominados en este texto AISTM), como los inhibidores de la fosfodiesterasa (por ejemplo, específicos de PDE-4, PDE-5 o PDE-7), inhibidores de factores de transcripción (por ejemplo, bloqueo de NF $\kappa$ B mediante la inhibición de IKK), o inhibidores de quinasas (por ejemplo bloqueo de P38 MAP, JNK, PI3K, EGFR o Syk) es un enfoque lógico para desactivar la inflamación, ya que estas pequeñas moléculas se dirigen a un número limitado de vías intracelulares comunes, aquellas vías de transducción de señales que son puntos críticos para la intervención terapéutica antiinflamatoria (véase la revisión de P.J. Barnes, 2006). Estos agentes terapéuticos adicionales no limitativos incluyen ácido 5-(2,4-Difluoro-fenoxy)-1-isobutil-1H-indazol-6-carboxílico (2-dimetilamino-etyl)-amida (inhibidor de la quinasa P38 Map ARRY-797); 3-ciclopropilmetoxi-N-(3,5-dicloro-piridin-4-il)-4-difluorometoxi-benzamida (inhibidor de la PDE-4 Roflumilast); 4-[2-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-2-fenil-etyl]-piridina (inhibidor de PDE-4 CDP-840); N-(3,5-dicloro-4-piridinil)-4-(difluorometoxi)-8-[(metilsulfonil)amino]-1-dibenzo furanocarboxamida (inhibidor de PDE-4 Oglemilast); N-(3,5-dicloro-piridin-4-il)-2-[1-(4-fluorobencil)-5-hidroxi-1H-indol-3-il]-2-oxo-acetamida (inhibidor de PDE-4 AWD 12-281); ácido 8-metoxi-2-trifluorometil-quinolina-5-carboxílico (3,5-dicloro-1-oxi-piridin-4-il)-amida (inhibidor de PDE-4 Sch 351591); 4-[5-(4-fluorofenil)-2-(4-metanosulfonil-fenil)-1H-imidazol-4-il]-piridina (inhibidor de P38 SB-203850); 4-[4-(4-fluoro-fenil)-1-(3-fenil-propil)-5-piridin-4-il-1H-imidazol-2-il]-but-3-in-1-ol (inhibidor de P38 RWJ-67657); 2-dietilamino-etyl éster del ácido 4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxi-fenil)-ciclohexanocarboxílico (profármaco de 2-dietil-etyl éster de Cilomilast, inhibidor de PDE-4); (3-cloro-4-fluorofenil)-[7-metoxi-6-(3-morfolin-4-il-propoxi)-quinazolin-4-il]-amina (Gefitinib, inhibidor del EGFR); y 4-(4-metil-piperazin-1-ilmetil)-N-[4-metil-3-(4-piridin-3-il-pirimidin-2-ilamino)-fenil]-benzamida (Imatinib, inhibidor del EGFR).

Los agentes que inhiben la migración de células proinflamatorias al lugar de la infección también son útiles como agentes terapéuticos adicionales en combinación con los compuestos de Fórmula I para el tratamiento de infecciones respiratorias víricas. Ejemplos no limitativos de tales agentes que actúan a través de este mecanismo y han demostrado utilidad en animales, por ejemplo, al reducir la mortalidad eventual provocada por la gripe son EV-077 (un inhibidor dual de la tromboxano sintasa/antagonista del receptor de tromboxano) y Fingolimod® (un antagonista del receptor de esfingosina-1-fosfato).

Las combinaciones que comprenden broncodilatadores agonistas  $\beta$ 2-adrenorreceptores inhalados como formoterol, albuterol o salmeterol con los compuestos de Fórmula I también son combinaciones adecuadas, pero no limitativas, útiles para el tratamiento de infecciones víricas respiratorias.

Las combinaciones de broncodilatadores inhalados agonistas  $\beta$ 2-adrenérgicos, como formoterol o salmeterol, con ICS también se usan para tratar tanto la broncoconstricción como la inflamación (Symbicort® y Advair®, respectivamente). Las combinaciones que comprenden estos ICS y combinaciones de agonistas  $\beta$ 2-adrenorreceptores junto con los compuestos de Fórmula I también son combinaciones adecuadas, pero no limitativas, útiles para el tratamiento de infecciones víricas respiratorias.

Para el tratamiento o profilaxis de la broncoconstricción pulmonar, los anticolinérgicos son de uso potencial y, por lo tanto, útiles como agentes terapéuticos adicionales en combinación con los compuestos de Fórmula I para el tratamiento de infecciones respiratorias víricas. Estos anticolinérgicos incluyen, entre otros, los antagonistas del receptor muscarínico (en particular del subtipo M3) que han demostrado eficacia terapéutica en el hombre para el control del tono colinérgico en la EPOC (Witek, 1999); ácido 1-[4-hidroxi-1-[3,3,3-tris-(4-fluorofenil)-propionil]-pirrolidin-2-carbonil]-pirrolidin-2-carboxílico (1-metil-piperidin-4-ilmetil)-amida; 3-[3-(2-dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-8-isopropil-8-metil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano (Ipratropio-N,N-dietilglicinato); éster 1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-ílico del ácido 1-ciclohexil-3,4-dihidro-1H-isoquinolina-2-carboxílico (Solifenacina); éster 1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-ílico del ácido 2-hidroximetil-4-metanosulfonil-2-fenil-butírico (Revatropato); 2-[1-[2-(2,3-Dihidro-benzofurano-5-il)-etyl]-pirrolidin-3-il]-2,2-difenil-acetamida (Darifenacina); 4-Azepan-1-il-2,2-difenil-butiramida (Buzeptide); 7-[3-(2-Dietilamino-acetoxi)-2-fenil-propioniloxi]-9-etyl-9-metil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3.3.1.02,4]nonano (Oxitropio-N,N-dietilglicinato); 7-[2-(2-dietilamino-acetoxi)-2,2-di-tiofen-2-il-acetoxi]-9,9-dimetil-3-oxa-9-azonia-triciclo[3.3.1.02,4]nonano (Tiotropio-N,N-dimétílglicinato); éster 2-(3-diisopropilamino-1-fenilpropil)-4-metil-fenílico del ácido dimetilamino-acético (Tolterodina-N,N-dimétílglicinato); 3-[4,4-Bis-(4-fluoro-fenil)-2-oxo-imidazolidin-1-il]-1-metil-1-(2-oxo-2-piridin-2-il-etyl)-pirrolidinio; 1-[1-(3-Fluoro-bencil)-piperidin-4-il]-4,4-bis-(4-fluorofenil)-imidazolidin-2-ona; 1-Ciclooctil-3-(3-metoxi-1-aza-biciclo[2.2.2]oct-3-il)-1-fenil-prop-2-in-1-ol; 3-[2-(2-Dietilamino-acetoxi)-2,2-di-tiofen-2-il-acetoxi]-1-(3-fenoxi-propil)-1-azonia-biciclo[2.2.2]octano (Aclidinio-N,N-dietilglicinato); o éster 1-metil-1-(2-fenoxi-etyl)-

5 piperidin-4-ílico del ácido (2-dietilamino-acetoxi)-di-tiofen-2-il-acético.

10 Los compuestos de Fórmula I también pueden combinarse con agentes mucolíticos para tratar tanto la infección como los síntomas de las infecciones respiratorias. Un ejemplo no limitativo de agente mucolítico es el ambroxol. De manera similar, los compuestos de Fórmula I pueden combinarse con expectorantes para tratar tanto la infección como los síntomas de las infecciones respiratorias. Un ejemplo no limitativo de un expectorante es la guaifenesina.

15 La solución salina hipertónica nebulizada se usa para mejorar la depuración inmediata y a largo plazo de las vías respiratorias pequeñas en pacientes con enfermedades pulmonares (Kuzik, J. Pediatrics 2007, 266). Los compuestos de Fórmula I también pueden combinarse con solución salina hipertónica nebulizada, particularmente cuando la infección por el virus *Orthomyxoviridae* se complica con bronquiolitis. La combinación de los compuestos de Fórmula I con solución salina hipertónica también puede comprender cualquiera de los agentes adicionales analizados anteriormente. En un aspecto preferido, se usa solución salina hipertónica nebulizada a aproximadamente el 3%.

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

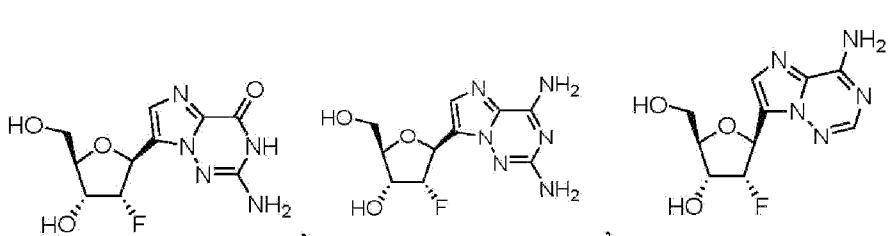
25 La coadministración de un compuesto de Fórmula I con uno o más agentes terapéuticos activos generalmente se refiere a la administración simultánea o secuencial de un compuesto de Fórmula I y uno o más de otros agentes terapéuticos activos, de tal manera que cantidades terapéuticamente eficaces del compuesto de Fórmula I y uno o más de otros agentes terapéuticos activos estén presentes en el cuerpo del paciente.

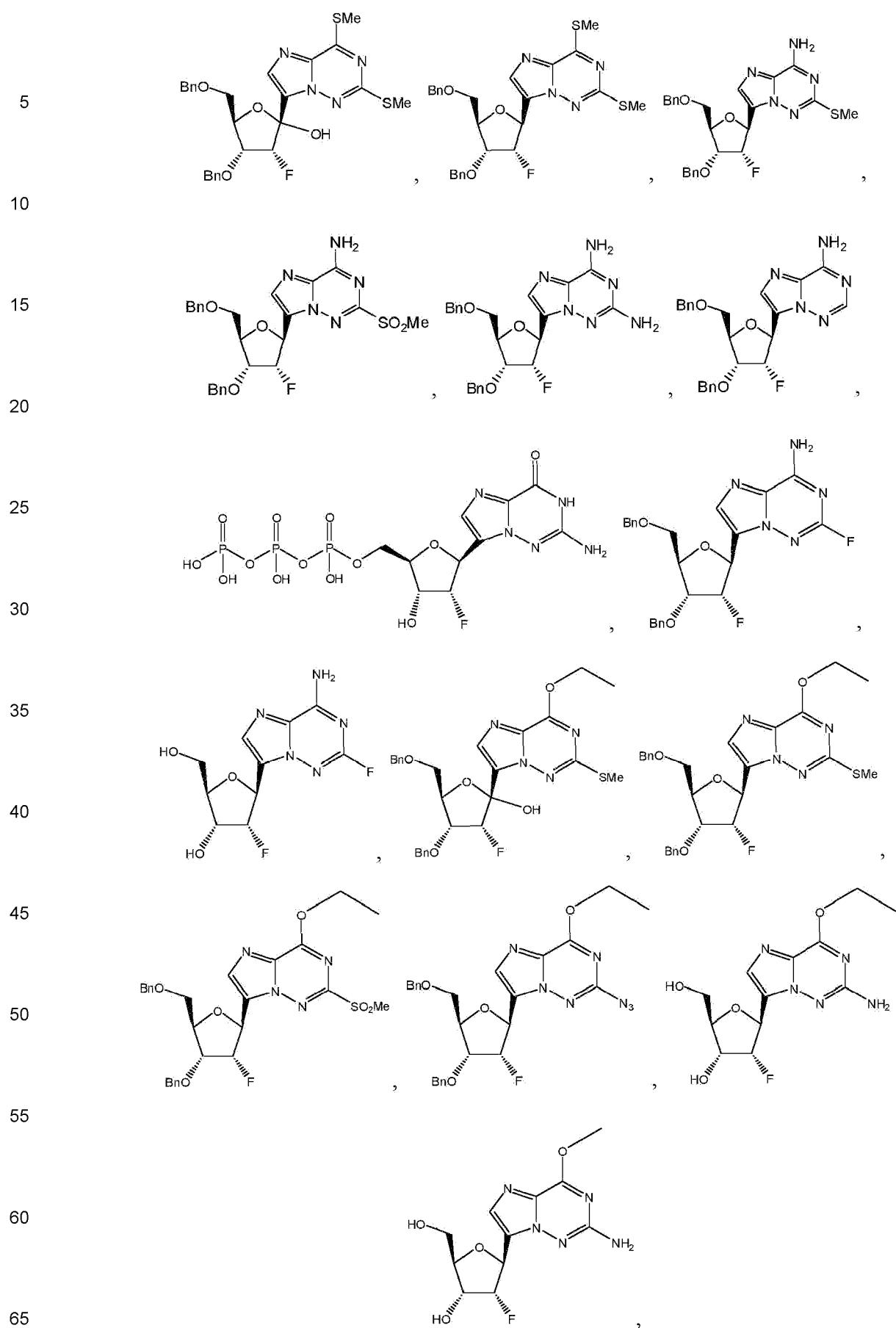
30 La coadministración incluye la administración de dosificaciones unitarias de los compuestos de Fórmula I antes o después de la administración de dosificaciones unitarias de uno o más de otros agentes terapéuticos activos, por ejemplo, la administración de los compuestos de Fórmula I en el plazo de segundos, minutos u horas de la administración de uno o más de otros agentes terapéuticos activos. Por ejemplo, puede administrarse primero una dosis unitaria de un compuesto de Fórmula I, seguido en el plazo de segundos o minutos por la administración de una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos.

35 Alternativamente, puede administrarse primero una dosis unitaria de uno o más agentes terapéuticos adicionales, seguido de la administración de una dosis unitaria de un compuesto de Fórmula I en el plazo de segundos o minutos. En algunos casos, puede ser deseable administrar primero una dosis unitaria de un compuesto de Fórmula I, seguido, después de un periodo de horas (por ejemplo, 1-12 horas), por la administración de una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos adicionales. En otros casos, puede ser deseable administrar primero una dosis unitaria de uno o más de otros agentes terapéuticos activos, seguido, después de un periodo de horas (por ejemplo, 1-12 horas), por la administración de una dosis unitaria de un compuesto de Fórmula I.

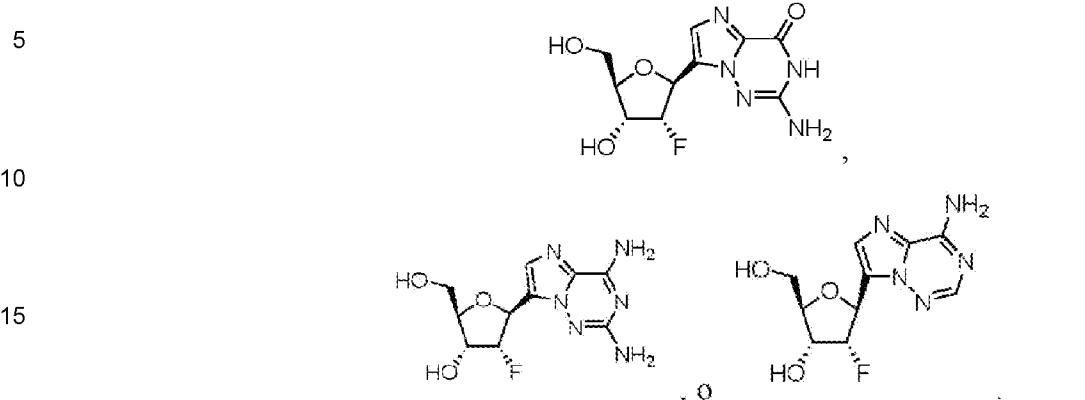
40 En la presente se describe un método para tratar una infección por *Orthomyxoviridae* en un mamífero con necesidad de ello. El método comprende el paso de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, como se ha definido anteriormente con respecto a la primera realización de la invención. En una cierta realización de la misma, el compuesto de Fórmula I está representado por la Fórmula II, como se ha definido anteriormente con respecto a la primera realización de la invención. Términos en el método descrito en la presente se definen como anteriormente con respecto a la primera realización de la invención. Las realizaciones preferidas de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> en el método descrito en la presente son iguales que para la primera realización de la invención.

45 50 Preferiblemente, el compuesto de Fórmula I es:

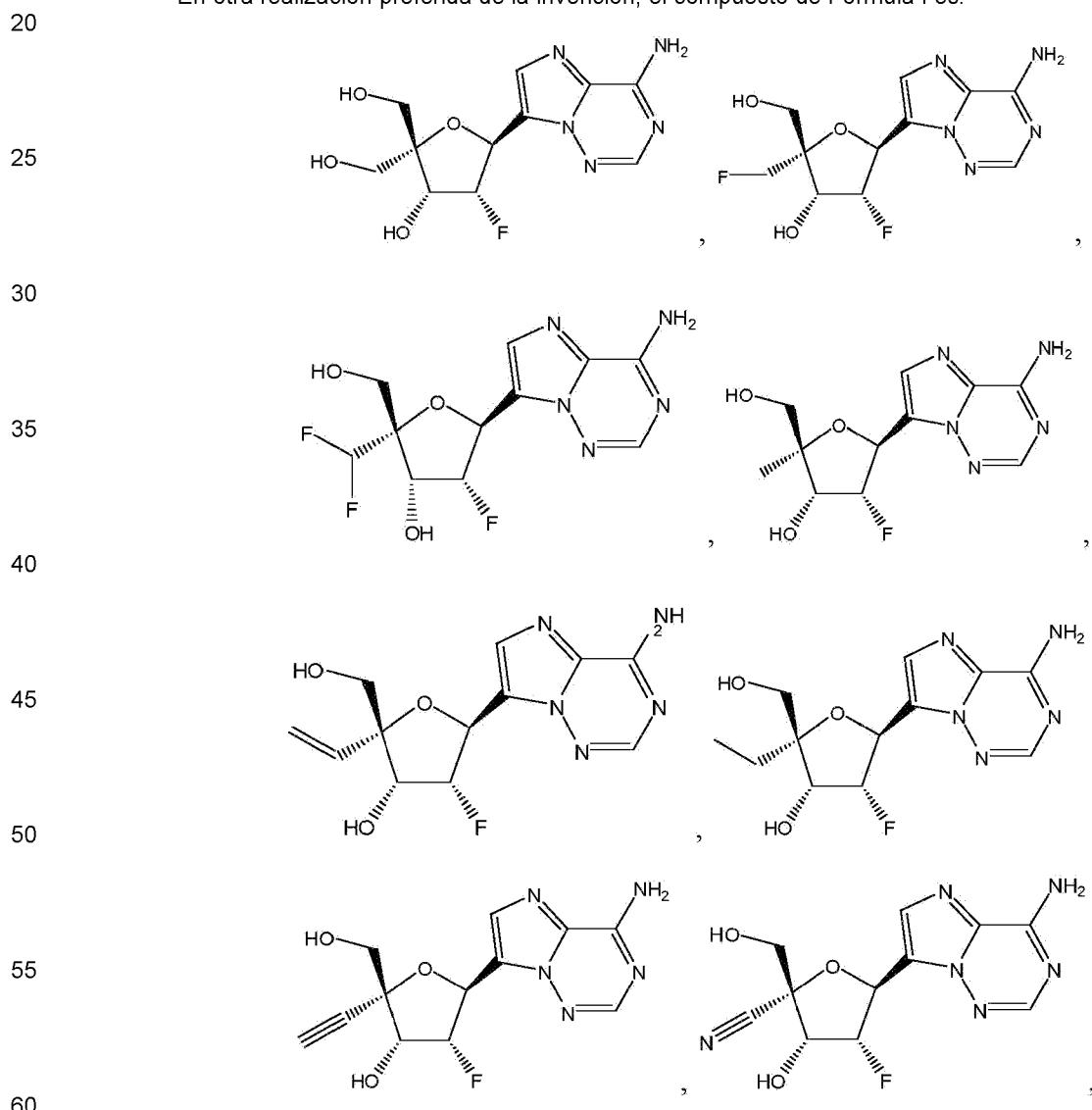


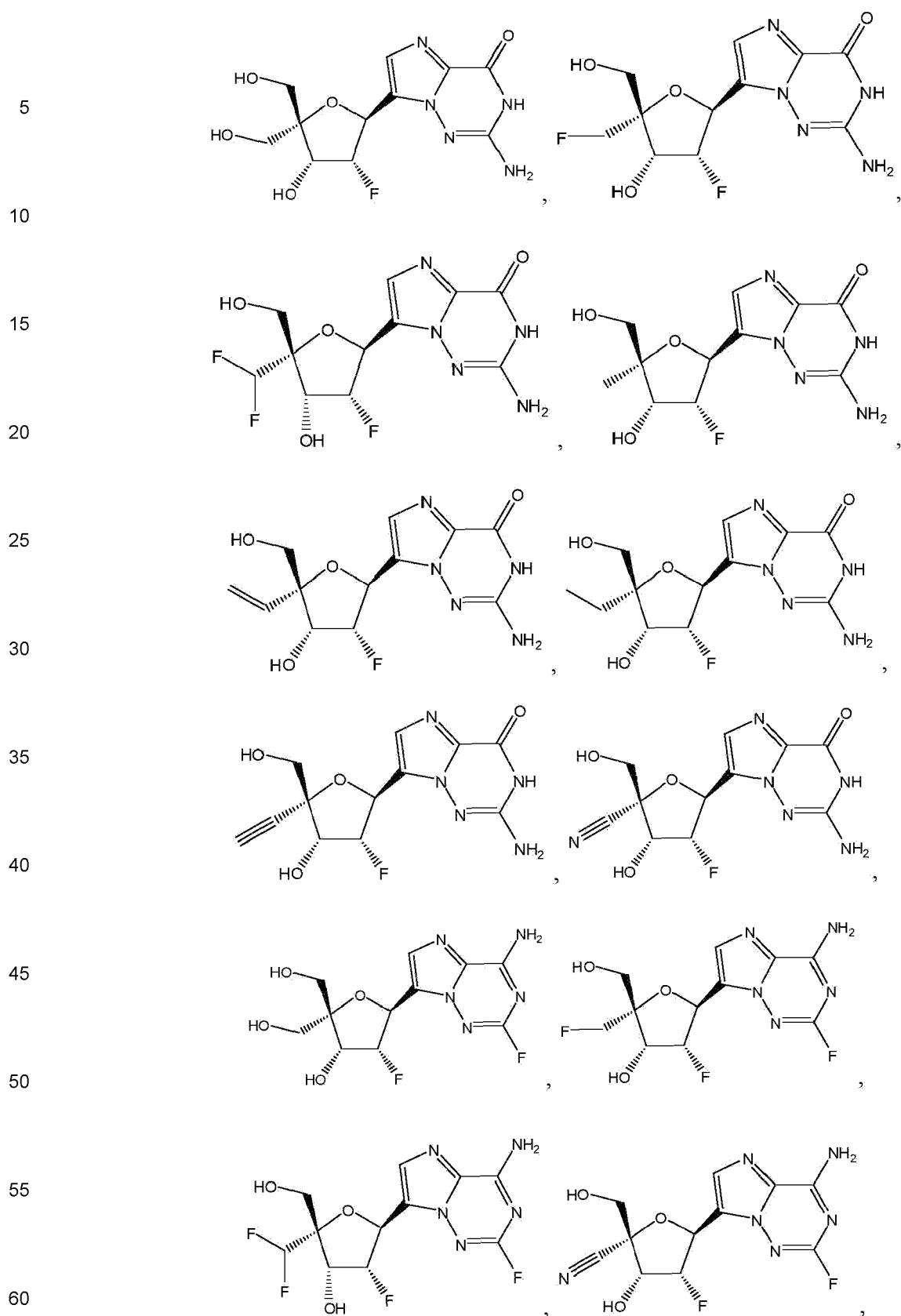


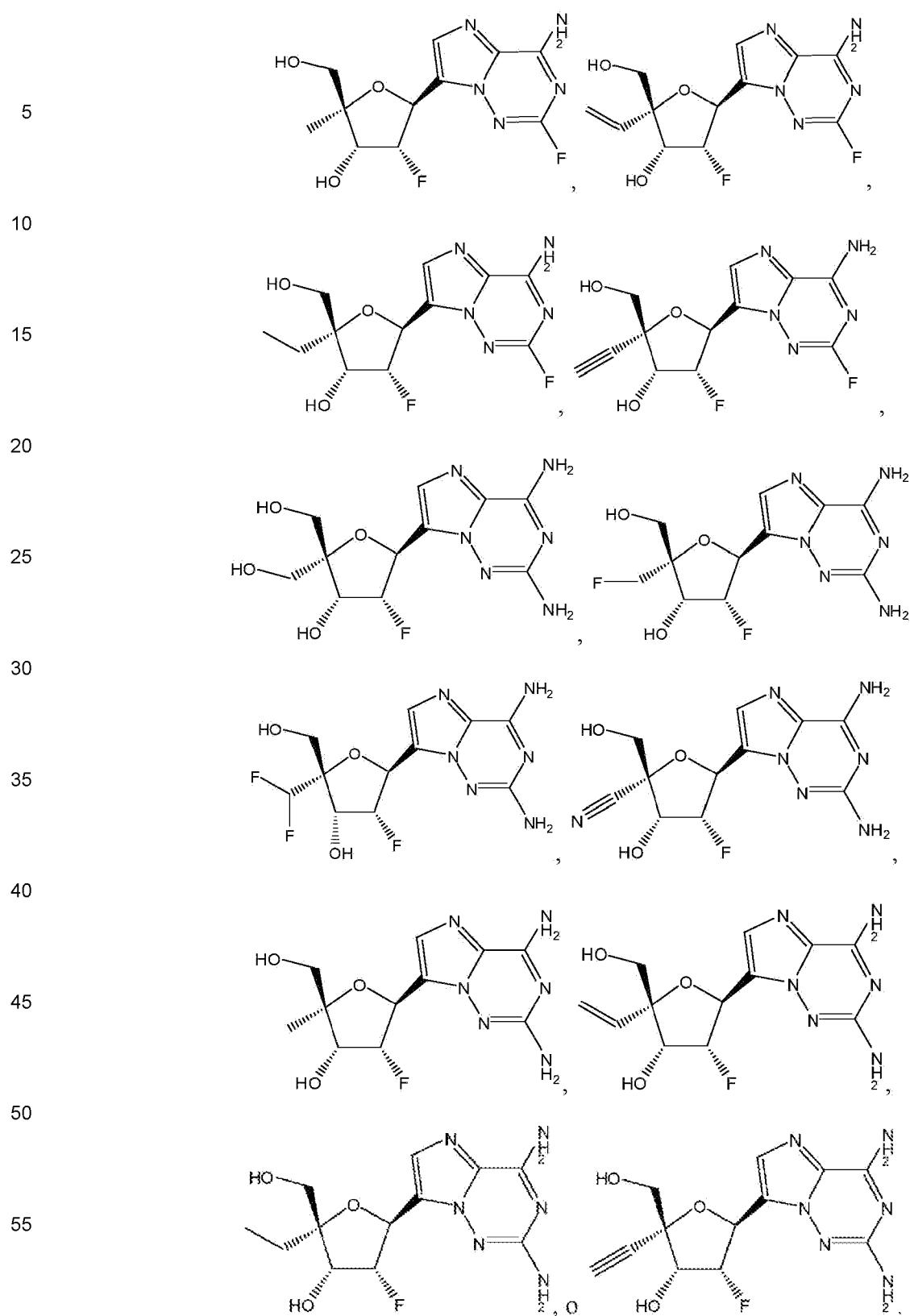
y más preferiblemente es



En otra realización preferida de la invención, el compuesto de Fórmula I es:







En otra realización del método descrito en la presente, se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de un racemato, enantiómero, diastereómero, tautómero, polimorfo, pseudopolimorfo, forma amorfía o hidrato de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a un mamífero con necesidad de ello.

65 En otra realización, se describe en la presente el uso de un compuesto de Fórmula I o una sal

farmacéuticamente aceptable del mismo para tratar una infección vírica provocada por un virus *Orthomyxoviridae*.

En otro aspecto de este método descrito, la infección por *Orthomyxoviridae* que se está tratando es una infección por el virus de la gripe A. En otro aspecto de este método descrito, la infección por *Orthomyxoviridae* es una infección por el virus de la gripe B. En otro aspecto de este método descrito, la infección por *Orthomyxoviridae* es una infección por el virus de la gripe C.

En una realización preferida, el método descrito en la presente comprende tratar una infección por *Orthomyxoviridae* en un mamífero con necesidad de ello administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o un éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el método descrito en la presente comprende tratar una infección por *Orthomyxoviridae* en un mamífero con necesidad de ello administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. Puede usarse cualquier portador o diluyente conocido en la técnica para su uso en composiciones farmacéuticas, que también sea compatible con los demás ingredientes de la formulación y fisiológicamente inocuo para el receptor de la misma. Los diluyentes adecuados incluyen, entre otros, carbonato cálcico o sódico, lactosa, fosfato cálcico o sódico.

En otra realización, el método descrito en la presente comprende tratar una infección por *Orthomyxoviridae* en un mamífero con necesidad de ello administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o un éster o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con por lo menos un agente terapéutico adicional. El agente terapéutico adicional puede ser cualquier agente terapéutico adecuado para su uso con el compuesto de Fórmula I. Por ejemplo, el agente terapéutico puede seleccionarse del grupo que consiste en inhibidores de la hemaglutinina viral, inhibidores de la neuramidasa viral, bloqueadores de los canales iónicos M2, inhibidores de las ARN polimerasas dependientes del ARN de *Orthomyxoviridae*, sialidasas y otros fármacos para el tratamiento de las infecciones por *Orthomyxoviridae*.

En otra realización más, en la presente se describen métodos para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae* en un paciente, que comprenden: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización más, en la presente se describen métodos para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae* en un paciente, que comprenden: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos un agente terapéutico activo adicional, por medio de lo cual se inhibe la *Orthomyxoviridae* polimerasa.

En otra realización más, en la presente se describen métodos para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae* en un paciente, que comprenden: administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos un agente terapéutico activo adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, un inhibidor de hemaglutinina viral, un inhibidor de neuramidasa viral, un bloqueador de canal iónico M2, un inhibidor de ARN polimerasas dependientes del ARN de *Orthomyxoviridae*, una sialidasasa, y otros fármacos para tratar infecciones por *Orthomyxoviridae*.

En otra realización más, se describe en la presente el uso de un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento para tratar una infección por *Orthomyxoviridae* en un paciente.

A continuación se divulan procesos que pueden usarse para preparar compuestos de Fórmula I.

En la presente se describen métodos de inhibición de la actividad de la *Orthomyxoviridae* polimerasa que comprenden el paso de tratar una muestra que se sospecha que contiene el virus *Orthomyxoviridae* con una composición de la invención.

Las composiciones de la invención pueden actuar como inhibidores de la *Orthomyxoviridae* polimerasa, como productos intermedios para tales inhibidores, o tener otras utilidades como se describe a continuación. Los inhibidores se unirán a ubicaciones en la superficie o en una cavidad de la *Orthomyxoviridae* polimerasa que tengan una geometría única para la *Orthomyxoviridae* polimerasa. Las composiciones que se unen a la *Orthomyxoviridae* polimerasa pueden unirse con varios grados de reversibilidad. Aquellos compuestos que se unen de manera sustancialmente irreversible son candidatos ideales para su uso en este método. Una vez marcadas, las composiciones de unión sustancialmente irreversible son útiles como sondas para la detección de la *Orthomyxoviridae* polimerasa. Por consiguiente, la invención se refiere a métodos de detección de *Orthomyxoviridae* polimerasa en una muestra que se sospecha que contiene *Orthomyxoviridae* polimerasa que comprende los pasos de: tratar una muestra que se sospecha que contiene *Orthomyxoviridae* polimerasa con una composición que comprende un compuesto de Fórmula I unido a un marcador; y observar el efecto de la muestra sobre la actividad del marcador. Los marcadores adecuados son bien conocidos en

el campo del diagnóstico e incluyen radicales libres estables, fluoróforos, radioisótopos, enzimas, grupos quimioluminiscentes y cromógenos. Los compuestos de la presente se marcan de manera convencional usando grupos funcionales como hidroxilo, carboxilo, sulfhidrilo o amino.

- 5 En el contexto de la invención, las muestras sospechosas de contener *Orthomyxoviridae* polimerasa incluyen materiales naturales o artificiales como organismos vivos; cultivos de tejidos o células; muestras biológicas como muestras de material biológico (sangre, suero, orina, líquido cefalorraquídeo, lágrimas, esputo, saliva, muestras de tejidos y similares); muestras de laboratorio; muestras de alimentos, agua o aire; muestras de bioproductos como extractos de células, en particular células recombinantes que sintetizan una glicoproteína deseada; y similares.
- 10 Típicamente, se sospechará que la muestra contiene un organismo que produce *Orthomyxoviridae* polimerasa, frecuentemente un organismo patógeno como el virus *Orthomyxoviridae*. Las muestras pueden estar contenidas en cualquier medio, incluyendo agua y mezclas de solventes orgánicos/agua. Las muestras incluyen organismos vivos, como humanos, y materiales artificiales, como cultivos celulares.
- 15 El paso de tratamiento comprende la adición de la composición de la invención a la muestra o la adición de un precursor de la composición a la muestra. El paso de adición comprende cualquier método de administración como se describe en la presente.

20 Si se desea, la actividad de la *Orthomyxoviridae* polimerasa después de la aplicación de la composición puede observarse mediante cualquier método, incluyendo métodos directos e indirectos de detección de la actividad de la *Orthomyxoviridae* polimerasa. Se contemplan métodos cuantitativos, cualitativos y semicuantitativos para determinar la actividad de la *Orthomyxoviridae* polimerasa. Típicamente se aplica uno de los métodos de cribado descritos anteriormente, sin embargo, también es aplicable cualquier otro método como la observación de las propiedades fisiológicas de un organismo vivo.

25 Los organismos que contienen *Orthomyxoviridae* polimerasa incluyen el virus *Orthomyxoviridae*. Los compuestos de esta invención son útiles en el tratamiento o profilaxis de infecciones por *Orthomyxoviridae* en animales o en el hombre.

30 En otra realización más, en la presente se describen métodos para inhibir la ARN polimerasa dependiente del ARN de *Orthomyxoviridae* en una célula, que comprenden: poner en contacto una célula infectada con el virus *Orthomyxoviridae* con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, mediante lo cual se inhibe la polimerasa de *Orthomyxoviridae*. En un aspecto de esta realización, la célula también se pone en contacto con por lo menos un agente terapéutico adicional. En ciertas realizaciones del método descrito en la presente, la ARN polimerasa dependiente del ARN de *Orthomyxoviridae* puede ser una ARN polimerasa dependiente del ARN del virus de la gripe A, una ARN polimerasa dependiente del ARN del virus de la gripe B, una ARN polimerasa dependiente del ARN del virus de la gripe C, o mezclas de las mismas.

40 En otra realización más, en la presente se describen métodos para inhibir la polimerasa DE *Orthomyxoviridae* en una célula, que comprenden: Poner en contacto una célula infectada con el virus *Orthomyxoviridae* con una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, II, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y por lo menos un agente terapéutico activo adicional seleccionado del grupo que consiste en interferones, análogos de ribavirina, inhibidores de neuramidasas víricas, inhibidores de neuramidasas víricas, bloqueadores de canales iónicos M2, inhibidores de ARN polimerasas dependientes del ARN de *Orthomyxoviridae*, sialidasas y otros fármacos usados para tratar infecciones por el virus *Orthomyxoviridae*.

45 En otro aspecto, en la presente se describen procesos y productos intermedios novedosos divulgados en la presente que son útiles para preparar compuestos de Fórmula I.

50 En otros aspectos, se describen métodos novedosos para la síntesis, el análisis, la separación, el aislamiento, la purificación, la caracterización y el ensayo de los compuestos de esta invención.

55 También se describen en la presente los productos metabólicos *in vivo* de los compuestos descritos en la presente, en la medida en que tales productos sean novedosos y no obvios con respecto al estado de la técnica. Tales productos pueden resultar, por ejemplo, de la oxidación, reducción, hidrólisis, amidación, esterificación y similares del compuesto administrado, principalmente debido a procesos enzimáticos. Por consiguiente, en la presente se describen compuestos novedosos y no obvios producidos mediante un proceso que comprende poner en contacto un compuesto de esta invención con un mamífero durante un período de tiempo suficiente para producir un producto metabólico del mismo. Tales productos se identifican típicamente preparando un compuesto radiomarcado (por ejemplo, <sup>14</sup>C o <sup>3</sup>H) de Fórmula I, administrándolo parenteralmente en una dosis detectable (por ejemplo, de más de aproximadamente 0,5 mg/kg) a un animal como rata, ratón, cobaya, mono o al hombre, dejando tiempo suficiente para que se produzca el metabolismo (típicamente de aproximadamente 30 segundos a 30 horas) y aislando sus productos de conversión de la orina, sangre u otras muestras biológicas. Estos productos se aíslan fácilmente, ya que están marcados (otros se aíslan mediante el uso de anticuerpos capaces de unir epítopos que sobreviven en el metabolito). Las estructuras de los metabolitos se determinan de manera convencional, por ejemplo, mediante análisis de MS o NMR. En general, el

análisis de los metabolitos se realiza del mismo modo que los estudios convencionales de metabolismo de fármacos bien conocidos por los expertos en la técnica. Los productos de conversión, siempre que no se encuentren de otro modo *in vivo*, son útiles en ensayos de diagnóstico para la dosificación terapéutica de los compuestos de Fórmula I, incluso si no poseen actividad inhibidora propia de la *Orthomyxoviridae* polimerasa.

5 Se conocen recetas y métodos para determinar la estabilidad de compuestos en secreciones gastrointestinales sustitutas. Los compuestos se definen en la presente como estables en el tracto gastrointestinal cuando menos del 50 por ciento molar de los grupos protegidos se desprotegen en el jugo intestinal o gástrico sustituto tras incubación durante 1 hora a 37°C. El mero hecho de que los compuestos sean estables en el tracto gastrointestinal no significa que no puedan hidrolizarse *in vivo*. Los profármacos típicamente serán estables en el sistema digestivo, pero pueden hidrolizarse sustancialmente al fármaco parental en la luz digestiva, el hígado u otro órgano metabólico, o dentro de las células en general.

## EJEMPLOS

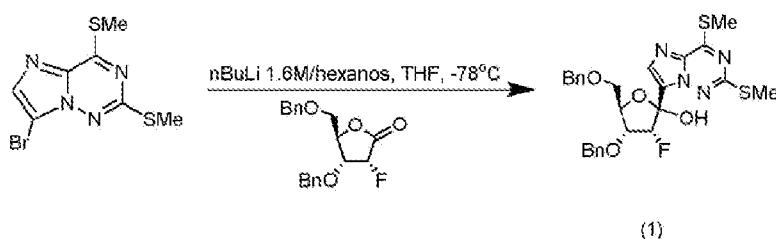
10 15 Al describir los detalles experimentales se usan ciertas abreviaturas y acrónimos. Aunque la mayoría de ellos serían comprensibles para un experto en la técnica, la Tabla 1 contiene una lista de muchas de estas abreviaturas y acrónimos.

20 25 30 35 Tabla 1. Lista de abreviaturas y acrónimos.

Abreviatura	Significado
Bn	Bencilo
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	Dimetilformamida
MCPBA	ácido metacloroperbenzoico
m/z	relación masa/carga
MS o ms	espectro de masas
THF	tetrahidrofurano
δ	partes por millón referidas al pico de solvente residual no deuterado

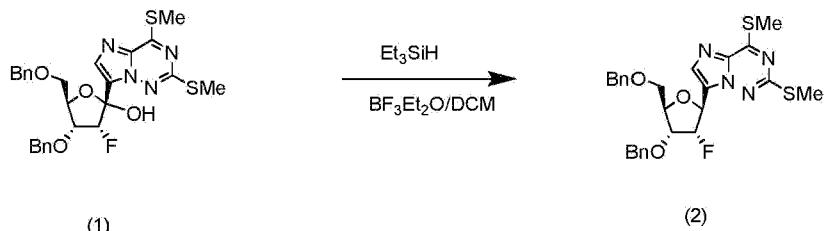
### Preparación de compuestos

35 **Compuesto 1: (2S,3R,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-2-(2,4-bis(metiltio)imidazo[1,2-*f*][1,2,4]triazin-7-*il*)-3-fluorotetrahidrofurano-2-ol**



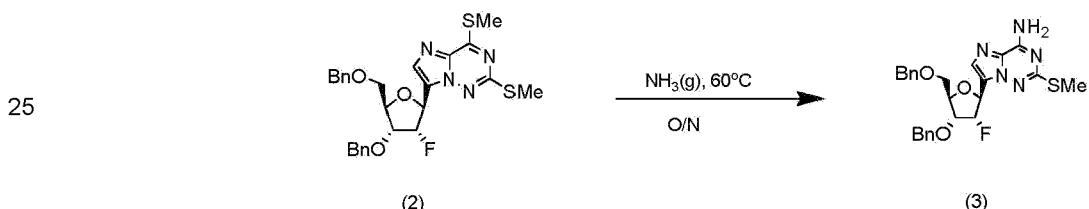
50 55 60 A una mezcla de 7-bromo-2,4-bis(metiltio)imidazo[1,2-*f*][1,2,4]triazina (2,5 g, 7,57 mmol) en THF (30 ml) a -78°C se le añadió gota a gota nBuLi (1,6 M en hexano, 6,15 ml, 9,84 mmol). Después de agitar a -78°C durante 30 minutos, se añadió gota a gota (3R,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorodihydrofuran-2(3H)-ona (2,43 g, 8,33 mmol) en THF (5 ml). Después de agitar a -78°C durante 3 horas, se dejó que la mezcla calentase hasta temperatura ambiente. Luego la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl saturado. La reacción se extrajo con acetato de etilo. Las capas se separaron y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron para proporcionar el bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con acetato de etilo/hexanos para proporcionar el compuesto deseado (2S,3R,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-2-(2,4-bis(metiltio)imidazo[1,2-*f*][1,2,4]triazin-7-*il*)-3-fluorotetrahidrofurano-2-ol (1) (2 g, 48 %) como una espuma amarilla. MS (m/z): 543.2 [M+H]<sup>+</sup>.

65 **Compuesto 2: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-*il*)-2,4-bis(metiltio)imidazo[1,2-*f*][1,2,4]triazina**



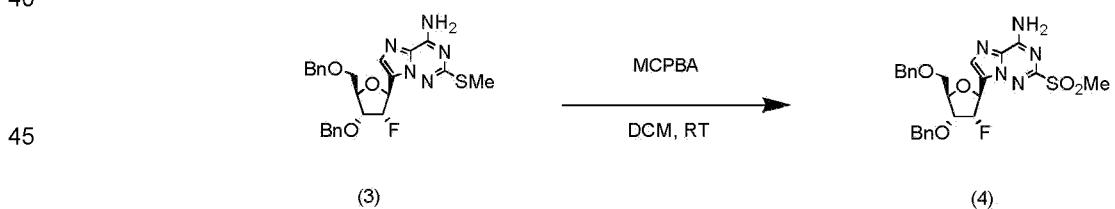
10 A una disolución de  $(2S,3R,4R,5R)$ -4-(benciloxy)-5-(benciloximetil)-2-(2,4-bis(metiltiilo)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-3-fluorotetrahidrofurano-2-ol (**1**) (300 mg, 055 mmol) en diclorometano (3 ml) a -78°C se le añadió  $\text{BF}_3\text{:OEt}_2$  (1,20 ml, 8,81 mmol) gota a gota, seguido de la adición de  $\text{Et}_3\text{SiH}$  (1,52 ml, 8,8 1mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas y luego se inactivó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado y se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas se separaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron para proporcionar el bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con acetato de etilo/hexanos para proporcionar el compuesto deseado 7-(( $2S,3S,4R,5R$ )-4-(benciloxy)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2,4-bis(metiltiilo)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (**2**) (218 mg, 75%). MS (m/z): 527.2 [M+H]<sup>+</sup>.

20 Compuesto 3: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2-(metiltio)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina



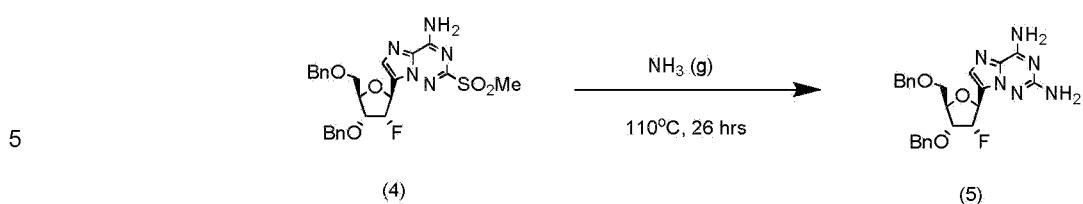
30 Se calentó 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2,4-  
 35 bis(metiltio)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (**2**) (390 mg, 0,74 mmol) en amoníaco líquido (120 ml) a 60°C en una bomba de acero durante 18 horas. La bomba se enfrió a temperatura ambiente y la reacción se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida con acetato de etilo/hexanos para proporcionar el compuesto deseado 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2-(metiltio)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (**3**) (330 mg, 89%). MS (m/z): 496.2 [M+H]<sup>+</sup>.

Compuesto 4: 7-((2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-*il*)-2-(metilsulfonil)imidazo[1,2-*f*][1,2,4]triazin-4-amina



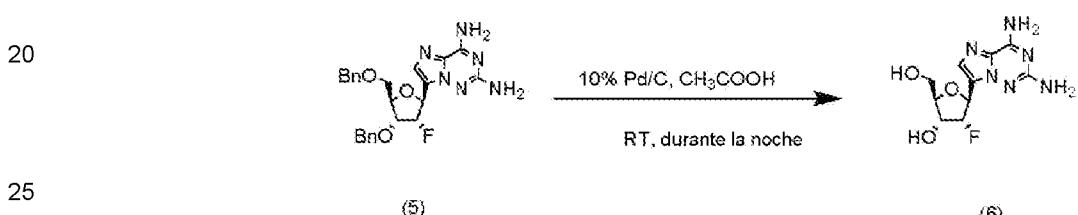
50 A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxy)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2-(metiltio)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (**3**) (300 mg, 0,57 mmol) en diclorometano (10 ml) a 0°C se le añadió ácido 3-cloroperbenzoico (MCPBA) al 77% (627 mg, 3,42 mmol) en una porción. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La reacción se inactivó con una solución al 20% de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> en H<sub>2</sub>O (15 ml) y se dejó agitar durante 20 minutos. Las capas se separaron y la solución acuosa se extrajo con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO<sub>3</sub> saturado y salmuera, y después se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron para proporcionar una mezcla bruta que se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice con acetato de etilo/diclorometano para proporcionar el producto deseado 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxy)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2-(metilsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (**4**) (276 mg, 87%) como aceite claro. MS (m/z): 528.1 [M+H]<sup>+</sup>.

Compuesto 5: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-2,4-diamina



10 Se calentó a 110°C durante 26 horas en una bomba de acero 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximethyl)-3-fluorotetrahydrofuran-2-il)-2-(metilsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (**4**) (276 mg, 0.52 mmol) en amoníaco líquido (100 ml). La bomba se enfrió a temperatura ambiente y la reacción bruta se purificó mediante chromatografía en columna ultrarrápida con acetato de etilo/diclorometano para proporcionar el compuesto deseado 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximethyl)-3-fluorotetrahydrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-2,4-diamina (**5**) (185 mg, 78%). MS (m/z): 465.3 [M+H]<sup>+</sup>.

15 **Compuesto 6: (2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-diaminoimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol**

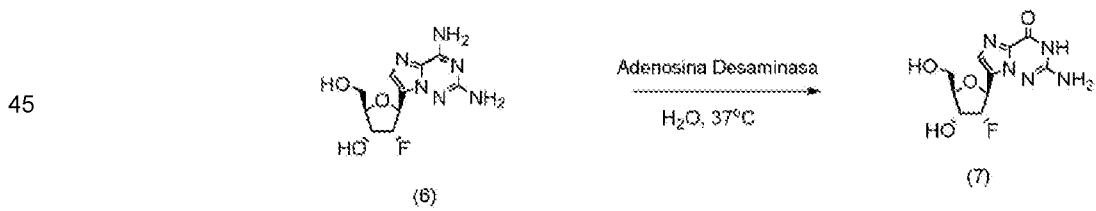


25 A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximethyl)-3-fluorotetrahydrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-2,4-diamina (**5**) (145 mg, 0,31 mmol) en ácido acético (10 ml) se le añadió Pd/C al 10% Degussa tipo E101 NE/W (290 mg). La atmósfera de reacción se intercambió por H<sub>2</sub>(g) y la reacción se agitó durante 18 horas. El catalizador se eliminó por filtración y la mezcla se concentró a presión reducida. El bruto se secó para proporcionar el producto deseado (2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-diaminoimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (**6**) (85 mg, 96%) como un sólido blanco. MS (m/z): 285.2 [M+H]<sup>+</sup>.

35 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.45 (s, 1H), 5.44-5.38 (m, 1H), 5.24-5.11 (d, J=, 1H), 4.38-4.33 (m, 1H), 3.98 (s, 1H), 3.91-3.70 (m 2H).

<sup>19</sup>F (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ (-199.86)-(-200.13) (m)

40 **Compuesto 7: 2-amino-7-(2S,3S,4R,5R)-3-fluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4(3H)-ona**

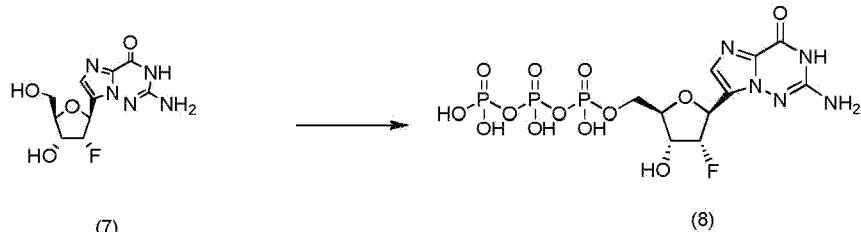


50 A una solución de (2S,3S,4R,5R)-5-(2,4-diaminoimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (**6**) (310 mg, 1.09 mmol) en 800 ml de agua se le añadió adenosina desaminasa de bazo bovino de tipo IX (Nº Cas. 9026-93-1, 205μl). La solución se colocó en un baño de agua a 37°C durante 16 horas. La solución se concentró y el compuesto final se cristalizó separado de las impurezas usando agua como solvente de cristalización. Los sólidos se recogieron y se secaron para proporcionar 2-amino-7-(2S,3S,4R,5R)-3-fluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4(3H)-ona (**7**) (246 mg, 80%) como un sólido puro blanquecino. MS (m/z): 286.2 [M+H]<sup>+</sup>.

60 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 11.27 (s, 1H), 7.41 (s, 1H), 6.24 (s, 2H), 5.43-5.42 (m, 1H), 5.26-5.20 (d, J= 22.8 Hz, 1H), 5.09-4.85 (m, 2H), 4.14-4.09 (m, 1H), 3.77 (s, 1H), 3.69 - 3.51 (m, 2H).

<sup>19</sup>F (376 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ (-196.68)-(-196.94) (m)

65 **Compuesto 8: Tetrahidrógeno trifosfato de ((2R, 3R, 4R, 5S)-5-(2-amino-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol)**

5 **f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-3-hidroxitetrahidrofurano-2-il)metilo.**

15 Se disolvió 2-amino-7-(2S,3S,4R,5R)-3-fluoro-4-hidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofurano-2-ona (**7**) (12 mg, 0,042 mmol) en trimetilfosfato (1 ml) bajo atmósfera inerte ( $N_2$ ). Se añadió oxicloruro de fósforo (58 mg, 0,378 mmol) y la mezcla se agitó a 0°C durante 2 horas y a temperatura ambiente durante 2 horas. La monitorización mediante columna analítica de intercambio iónico determinó el tiempo en el que se formó > 80% de monofosfato. La solución se enfrió a 0°C y se añadió una solución de tributilamina (0,15 ml, 0,63 mmol) y pirofosfato de triethylamonio (0,25 g, 0,55 mmol) en DMF anhidra (1 ml). La mezcla de la reacción se agitó a 0°C durante 2,5 horas y después se inactivó añadiendo una solución de bicarbonato de triethylamonio 1N en  $H_2O$  (6 ml). La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo se volvió a disolver en  $H_2O$ . La solución se sometió a cromatografía de intercambio iónico para obtener el producto deseado ((2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-3-hidroxitetrahidrofurano-2-il)metil tetrahidrógeno trifosfato (**8**) (como sal de tetraethylamonio) (11 mg, 28% de rendimiento). MS (m/z): 526.0 [M+H]<sup>+</sup>.

20 25  $^1H$  NMR (400 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  7.53 (s, 1H), 5.43-5.37 (d,  $J$  = 24.8 Hz, 1H), 5.29-5.15 (d,  $J$  = 55.2, 1H), 4.52 - 3.47 (m, 4H).

30  $^{19}F$  (376 MHz,  $D_2O$ ):  $\delta$  (-197.33)-(-197.60) (m, 1F)

35  $^{31}P$  (162 MHz,  $D_2O$ )  $\delta$  (-10.66)-(-10.78) (d,  $J$  = 48.4 Hz, 1P), (-11.070)-(-11.193) (d,  $J$  = 49.2 Hz, 1P), (-22.990)-(-23.236) (m, 1P).

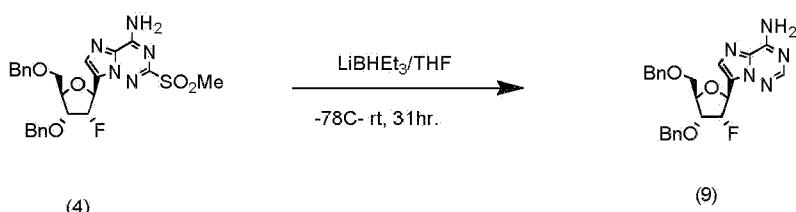
40 Intercambio iónico por HPLC: Solvente A: Agua; Solvente B: Bicarbonato de triethylamonio 1M.

45 50-50% durante 12 minutos, luego 100% durante 5 minutos, luego volver a 0% en 5 minutos.

55 Columna: Dionex, DNA Pac PA-100, 4x250mm.

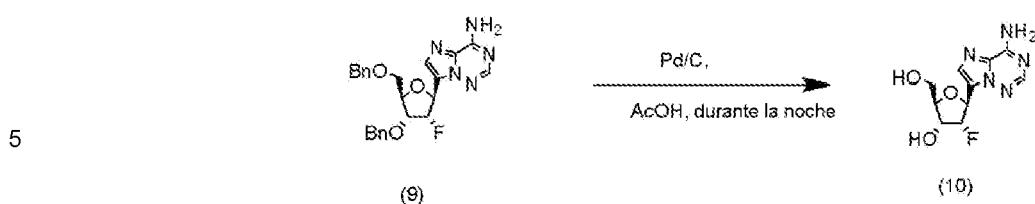
60  $T_R$  = 12.04 min

45 **Compuesto 9: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-4-amina**



55 A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-2-(metilsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (**4**) (63 mg, 0,12 mmol) en THF (Sml) a -78°C se le añadió gota a gota LiBHEt<sub>3</sub> (1,0 M en THF, 4,78 ml, 4,78 mmol). La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 31 horas. La mezcla de la reacción se inactivó con agua con hielo y se extrajo con acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con salmuera y se concentró para dar una mezcla bruta que se disolvió en  $CH_3OH$  y se concentró al vacío (3x). El bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo/diclorometano para proporcionar el producto deseado 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-4-amina (**9**) (50 mg, 95% de rendimiento). MS (m/z): [M+H]<sup>+</sup> 450.3.

60 **Compuesto 10: (2S,3S,4R,5R)-5-(4-aminoindazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofurano-3-ol**



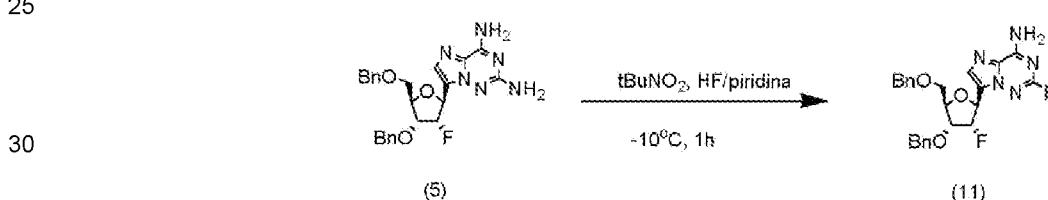
10 A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-4-amina (9) (50 mg, 0,11 mmol) en ácido acético (5 ml) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg). La atmósfera de los recipientes de reacción se cambió por hidrógeno y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se filtró a través de celite y se lavó con CH<sub>3</sub>OH. El filtrado se concentró para dar una mezcla bruta que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando CH<sub>3</sub>OH/diclorometano para proporcionar el producto deseado (2S,3S,4R,5R)-5-(4-aminoimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (10) como un sólido blanco (23 mg, 77% de rendimiento). MS (m/z): 270.2 [M+H]<sup>+</sup>.

15

10 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>): δ 8.22 (d, *J* = 26 Hz, 2 H), 8.07 (s, 1 H), 7.67 (s, 1 H), 5.50 - 5.48 (d, *J* = 6.4, 1 H), 5.42 - 5.36 (m, 1 H), 5.19 - 5.03 (m, 1 H), 4.88 - 4.85 (m, 1 H), 4.19 - 4.11 (m, 1 H), 3.83 - 3.81 (m, 1 H), 3.72 - 3.67 (m, 1 H), 3.54 - 3.50 (m, 1 H).

20 <sup>19</sup>F (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ (-196.69)-(-196.95) (m)

25 **Compuesto 11: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofuran-2-il)-2-fluoroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina**



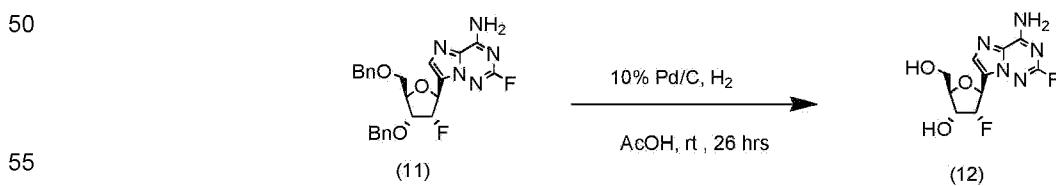
35 Se agitó 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-2,4-diamina (5) (140 mg, 0,30 mmol) en 4 ml de HF/piridina al 50% en un baño a -10°C, y se añadieron 45 µl (0,38 mmol) de nitrito de t-butilo. La reacción se agitó a baja temperatura durante 1 hora. La reacción se inactivó mediante la adición de 50 ml de H<sub>2</sub>O y la capa acuosa se extrajo con 2x 50 ml de diclorometano. Los orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron. El residuo se cromatógrafió sobre 6 g de gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofuran-2-il)-2-fluoroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-4-amina (11) (50 mg, 36%). MS (m/z): 468.2 [M+H]<sup>+</sup>.

40

40 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7.60 (s, 1 H), 7.3-7.2 (bm, 10H), 7.14 (bs, 1H), 6.37 (bs, 1H), 5.46 - 5.48 (dd, *J* = 23.2, 2.4 Hz, 1 H), 5.29 - 5.15 (m, 1 H), 4.72 (m, 1 H), 4.56 - 4.52 (m, 2H), 4.29 (m, 2H), 3.83 - 3.81 (m, 1 H), 3.65 - 3.63 (m, 1 H).

45 <sup>19</sup>F (376 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ -69.1 (s), (-197.7)-(-198.0) (m).

50 **Compuesto 12: 2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluoroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol**



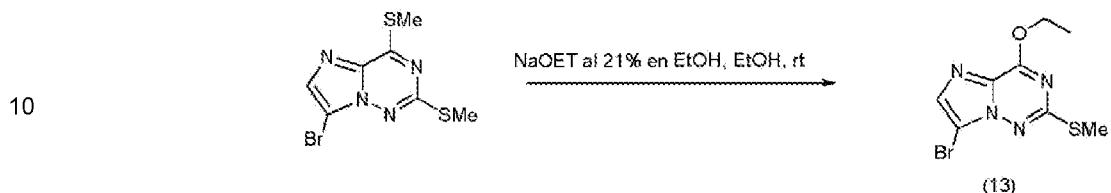
60 A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofuran-2-il)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-4-amina (11) (50 mg, 0,11 mmol) en ácido acético (8 ml), se le añadió Pd/C al 10% (100 mg). La atmósfera del recipiente de reacción se cambió por hidrógeno y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se filtró a través de celite y se lavó con ácido acético y después con CH<sub>3</sub>OH. El filtrado se concentró para dar una mezcla bruta que se purificó por HPLC de fase inversa para proporcionar el producto deseado (2R,3R,4R,5S)-5-(4-amino-2-fluoroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (12) como un sólido blanco (26 mg, 84%). MS (m/z): 288.1 [M+H]<sup>+</sup>.

65 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.66 (s, 1 H), 5.47 - 5.41 (dd, *J* = 23.6, 2.4 Hz, 1 H), 5.21 - 5.06 (m, 1 H), 4.35

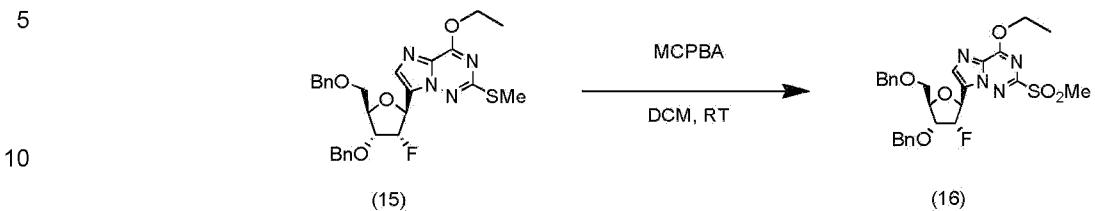
- 4.27 (m, 1 H), 3.93 (bm, 1 H), 3.88 (m, 1H), 3.68 (m, 1 H).

$^{19}\text{F}$  (376 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  -72.15(s), (-199.39)(-196.69) (m)

5 **Compuesto 13: 7-bromo-4-etoxy-2-(metiltio)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina**

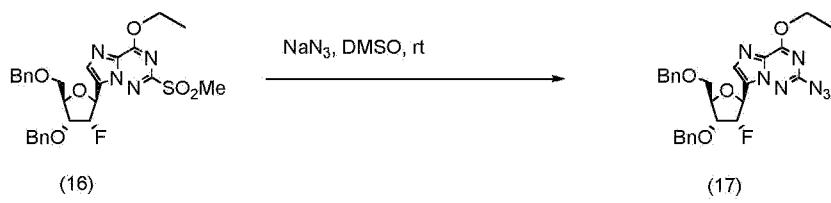


**Compuesto 16: 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxi-2-(metilsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina**



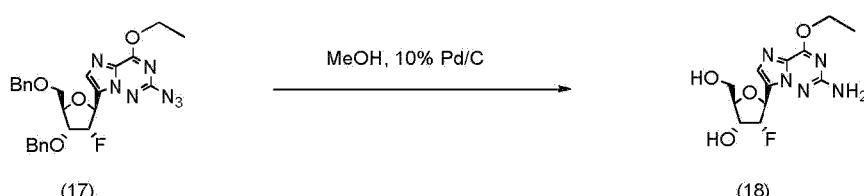
A una solución de 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxy-2-(methylsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (15) (107 mg, 0,204 mmol) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 ml) a temperatura ambiente se le añadió ácido 3-cloroperbenzoico (MCPBA) al 77% (100 mg, 0,443 mmol) en una porción. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se inactivó con una solución al 20% de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  en  $\text{H}_2\text{O}$  (5 ml) y se dejó agitar durante 20 minutos. Las capas se separaron y la solución acuosa se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron para proporcionar 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxy-2-(methylsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (16), que se llevó a cabo sin purificación. MS (m/z): 557.1  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**Compuesto 17: 2-azido-7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina**



A una solución de  $\text{NaN}_3$  (66 mgs, 1.01 mmol) en DMSO (5 ml) se le añadió 7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxy-2-(methylsulfonil)imidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (16) (113 mgs, 0,203 mmol) en una porción. Se dejó que la reacción agitase a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se repartió entre  $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$ . Los orgánicos se separaron y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , y se purificaron mediante cromatografía en gel de sílice con  $\text{EtOAc}/\text{hexanos}$  para proporcionar 2-azido-7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (17) (93 mgs, 88%) como sólido blanquecino. MS (m/z): 520.05  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**Compuesto 18: (2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol**

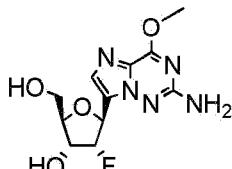


Se purgó con argón una solución de 2-azido-7-((2S,3S,4R,5R)-4-(benciloxi)-5-(benciloximetil)-3-fluorotetrahidrofurano-2-il)-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina (17) (93 mg, 0,18 mmol) en  $\text{CH}_3\text{OH}$  (5ml), y se añadió Pd/C al 10% (100 mg). Se evacuó el recipiente de reacción y se volvió a llenar con  $\text{H}_2$  tres veces. Se dejó que la mezcla de la reacción agitase bajo atmósfera de hidrógeno durante 16 horas. Los sólidos se filtraron y los orgánicos se eliminaron a presión reducida para dar material bruto que se purificó por HPLC para dar (2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofuran-3-ol (18) (27 mg, 48%) como un sólido blanco. MS (m/z): 314.10  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  7.526 (s, 1 H), 8.07 (s, 1 H), 6.55 (s, 2 H), 5.43-5.41 (d,  $J = 6.46$  Hz, 1 H), 5.33-5.27 (dd,  $J = 2.25$  and 22.69 Hz, 1 H), 5.11-4.96 (m, 1 H), 4.84 (t,  $J = 5.58$  Hz, 1 H), 4.52-4.47 (q,  $J = 7.04$  Hz, 2 H), 4.17-4.07 (m, 1 H), 3.78-3.76 (m, 1 H), 3.69-3.65 (m, 1 H), 3.511-3.45 (m, 1 H), 1.37 (t,  $J = 7.04$  Hz, 3 H).

$^{19}\text{F}$  (376 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  (-196.79)-(-197.05) (m)

Compuesto 19: (2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-metoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofurano-3-ol



15 Se preparó (2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-metoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofurano-3-ol (19) de manera directamente análoga a la usada para la preparación de (2R,3R,4R,5S)-5-(2-amino-4-etoxiimidazo[1,2-f][1,2,4]triazina-7-il)-4-fluoro-2-(hidroximetil)tetrahidrofurano-3-ol, salvo que en el primer paso de la síntesis se usó NaOMe en MeOH en lugar de NaOEt en EtOH. MS (m/z): 300.18 [M+H]<sup>+</sup>.

20 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 7.56 (s, 1H), 5.46 (dd, *J* = 24, 2.4 Hz, 1H), 5.15 (ddd, *J* = 54.8, 4.4, 2.4 Hz, 1H), 4.34 (ddd, *J* = 4.4, 8, 20.4 Hz, 1H), 4.15 (s, 3H), 3.97 (m, 1H), 3.91 (dd, *J* = 2.4, 12.4 Hz, 1H), 3.72 (dd, *J* = 4.4, 12 Hz, 1H).

25 <sup>19</sup>F (376 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ (-198.98)-(-199.25) (m).

### Ensayos antigripales

#### 25 Ensayo de inhibición de la ARN polimerasa de la gripe (IC<sub>50</sub>)

30 Se obtuvo el virus purificado de la gripe A/PR/8/34 (H1N1) se obtuvo de Advanced Biotechnologies Inc. (Columbia, MD) como suspensión en tampón de PBS. Los viriones se alteraron mediante exposición a un volumen igual de Triton X-100 al 2% durante 30 minutos a temperatura ambiente en un tampón que contenía 100 mM Tris-HCl, pH 8, 200 mM KCl, 3 mM ditiotreitol [DTT], 10% de glicerol, 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 U/ml de inhibidor de ribonucleasas RNasin y 2 mg/ml de lisolecina tipo V (Sigma, Saint Louis, MO). El lisado del virus se almacenó a -80°C en alícuotas.

35 Las concentraciones se refieren a concentraciones finales a menos que se mencione lo contrario. Los inhibidores análogos de nucleótidos se diluyeron en serie 3 veces en agua y se añadieron a la mezcla de reacción que contenía un 10% de lisado de virus (v/v), 100 mM Tris-HCl (pH 8.0), 100 mM KCl, 1 mM DTT, 10% de glicerol, 0,25% de Triton-101 (reducido), 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,4 U/ml de RNasin y 200 μM de cebador dinucleótido ApG (TriLink, San Diego CA). Las reacciones se iniciaron mediante la adición de una mezcla de sustrato de ribonucleótido trifosfato (NTP) que contenía un NTP marcado con  $\alpha$ -<sup>33</sup>P y 100 μM de los otros tres NTP naturales (PerkinElmer, Shelton, CT). El radiomarcador usado para cada ensayo correspondía a la clase de análogo de nucleótido cribado. Las 40 concentraciones para el NTP natural limitativo son 20, 10, 2 y 1 μM para ATP, CTP, UTP y GTP respectivamente. La proporción molar de NTP no radiomarcados: radiomarcados se encontraba en el intervalo de 100-400:1.

45 Las reacciones se incubaron a 30°C durante 90 minutos y luego se mancharon sobre papel de filtro DE81. Los filtros se secaron al aire, se lavaron con 0,125 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (3x), agua (1x) y EtOH (1x), y se secaron al aire antes de exponerlos a un generador de imágenes de fósforo Typhoon y se cuantificó la radiactividad en un Typhoon Trio (GE Healthcare, Piscataway NJ). Los valores IC<sub>50</sub> se calcularon para los inhibidores ajustando los datos en GraphPad Prism con una ecuación sigmoidal de dosis-respuesta con pendiente variable, fijando los valores Ymax e Ymin en 100% y 0%. Se determinó que el IC<sub>50</sub> para ((2R, 3R, 4R, 5S)-5-(2-amino-4-oxo-3,4-dihidroimidazo[1,2-f][1,2,4]triazin-7-il)-4-fluoro-3-hidroxietetrahidrofurano-2-il)metil tetrahidrógeno trifosfato (Compuesto 8) era de 2,8 μM.

#### 50 Ensayo de infección por gripe en células epiteliales bronquiales/traqueales humanas normales (EC<sub>50</sub>)

55 Se siembran células epiteliales bronquiales/traqueales humanas normales (Lonza, Basilea Suiza) en placas de 384 pocillos a una densidad de 4000 células por pocillo en medio BEGM suplementado con factores de crecimiento (Lonza, Basilea Suiza). Al día siguiente se retira el medio y las células se lavan tres veces con 100 μl de RPMI+ 1% de BSA (RPMI-BSA). A continuación, se añaden 30 μl de RPMI-BSA a las células. Los compuestos se diluyen 3 veces en serie en DMSO, y se estampán en las placas 0,4 μl de diluciones de compuestos. El virus de la gripe A HK/8/68 (Advanced Biotechnology Inc, Columbia, MD, 13,5 MOI), PC/1/73 (ATCC Manassas, VA, 0,3 MOI) y el virus de la gripe B B/Lee/40 ((ATCC Manassas, VA, 10 MOI) se añaden a las células en 10 μl de medio RPMI-BSA suplementado con 8 μg/ml de tripsina (Worthington, Lakewood, NJ). Después de una incubación de cinco días, se añaden a las células 40 μl de tampón que contiene 66 mM Mes pH 6,5, 8mM CaCl<sub>2</sub>, 0,5% de NP-40 y 100 μM de sustrato de neuramidasa (hidrato de sal sódica de ácido 2'-(4-metilumbeliferil)- $\alpha$ -D-N-acetylneuramínico, Sigma Aldrich, St. Luis, MO). La fluorescencia del producto de la hidrólisis se lee usando la excitación a 360 nm y la emisión a 450 nm después de una incubación de 1 hora a 37°C. Los valores de EC<sub>50</sub> se calculan mediante regresión no lineal de múltiples conjuntos de datos.

# ES 3 005 115 T3

La siguiente tabla resume las EC<sub>50</sub>s determinadas por este ensayo:

Compuesto	EC <sub>50</sub> de PC/1/73 de Gripe A	EC <sub>50</sub> de Lee/40 de Gripe B
<b>19</b>	30µM	36µM
<b>18</b>	>200µM	>200µM
<b>12</b>	>100µM	>100µM
<b>10</b>	0,9µM	0,9µM
<b>7</b>	27µM	37µM
<b>6</b>	21µM	51µM

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

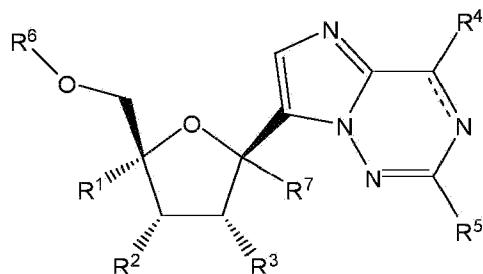
55

60

65

## REIVINDICACIONES

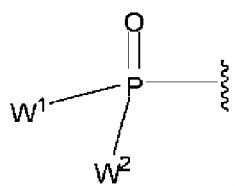
1. Un nebulizador que comprende una composición farmacéutica para nebulización y administración al espacio endobronquial, en donde el nebulizador es capaz de transformar en aerosol la composición farmacéutica en partículas con un diámetro aerodinámico mediano de la masa (MMAD) predominantemente entre 1  $\mu\text{m}$  y 5  $\mu\text{m}$ , en donde la composición farmacéutica comprende un compuesto de Fórmula I:



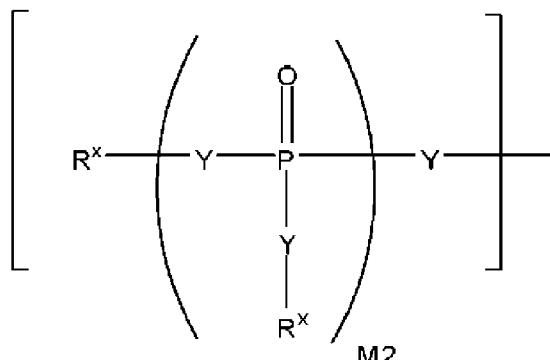
Formula I

- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;  
en donde:

25 cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>7</sup> es independientemente H, halógeno, OR<sup>a</sup>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo, CN, N<sub>3</sub>, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo sustituido, (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquenilo sustituido, (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo o (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>)alquinilo sustituido,  
en donde el sustituyente se selecciona del grupo que consiste en X, -R<sup>b</sup>, -OH, =O, -OR<sup>b</sup>, -SR<sup>b</sup>, -S<sup>-</sup>, -NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -N<sup>+</sup>R<sup>b</sup><sub>3</sub>,  
=NR<sup>b</sup>, -CX<sub>3</sub>, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO<sub>2</sub>, =N<sub>2</sub>, -N<sub>3</sub>, -NHC(=O)R<sup>b</sup>, -OC(=O)R<sup>b</sup>, -NHC(=O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -  
S(=O)<sub>2</sub>, -S(=O)<sub>2</sub>OH, -S(=O)<sub>2</sub>R<sup>b</sup>, -OS(=O)<sub>2</sub>OR<sup>b</sup>, -S(=O)<sub>2</sub>NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -S(=O)R<sup>b</sup>, -OP(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(OR<sup>b</sup>)<sub>2</sub>, -P(=O)(O-)<sub>2</sub>, -  
P(=O)(OH)<sub>2</sub>, -P(O)(OR<sup>b</sup>)(O<sup>-</sup>), -C(=O)R<sup>b</sup>, -C(=O)X, -C(S)R<sup>b</sup>, -C(O)OR<sup>b</sup>, -C(O)O<sup>-</sup>, -C(S)OR<sup>b</sup>, -C(O)SR<sup>b</sup>, -C(S)SR<sup>b</sup>, -  
C(O)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(S)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, -C(=NR<sup>b</sup>)NR<sup>b</sup><sub>2</sub>, donde cada X es independientemente un halógeno: F, Cl, Br o I; y cada R<sup>b</sup>  
30 es independientemente H, alquilo, cicloalquilo, arilo, arilalquilo o heterociclo;  
R<sup>2</sup> es OR<sup>a</sup>;  
R<sup>3</sup> es halógeno o N<sub>3</sub>;  
cada R<sup>a</sup> es independientemente H, arilo, arilalquilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)alquilo, o (C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)cicloalquilo;  
35 cada uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es independientemente H, =O, OR<sup>a</sup>, N(R<sup>a</sup>)<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, CN, S(O)<sub>n</sub>R<sup>a</sup>, halógeno, (C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub>)haloalquilo, o  
(C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>)halocicloalquilo;  
n es 0, 1 o 2; y  
R<sup>6</sup> es H, arilo, arilalquilo, o



40 en donde W<sup>1</sup> y W<sup>2</sup> son cada uno, independientemente, OR<sup>a</sup> o un grupo de la Fórmula Ia:

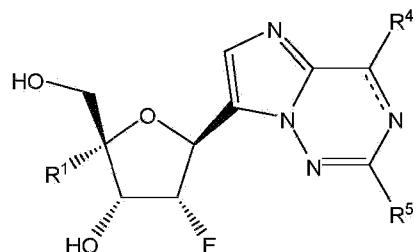


Formula Ia

- 65 en donde:

cada Y es independientemente un enlace u O;  
M2 es 0, 1 o 2; y  
cada R<sup>x</sup> es H, halógeno u OH.

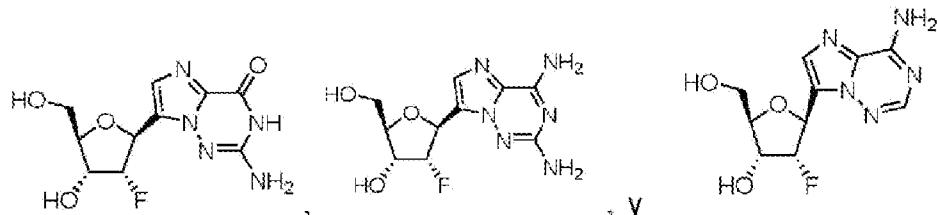
5 2. El nebulizador de la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula I está representado por la Fórmula II:



## Formula II.

20 3. El nebulizador de la reivindicación 2, en donde en el compuesto de Fórmula II, R<sup>1</sup> es H.

4. El nebulizador de la reivindicación 3, en donde el compuesto de Fórmula II se selecciona del grupo que consiste en



5. El nebulizador de la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula I se selecciona entre:

