



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 234**

51 Int. Cl.:

**C07D 263/58** (2006.01) **C07D 261/20** (2006.01)  
**C07D 277/68** (2006.01) **C07D 275/04** (2006.01)  
**C07D 237/26** (2006.01) **C07D 249/18** (2006.01)  
**A61K 31/416** (2006.01) **A61K 31/4184** (2006.01)  
**A61K 31/423** (2006.01) **A61K 31/428** (2006.01)  
**A61K 31/4192** (2006.01) **A61P 31/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01271365 .7**

96 Fecha de presentación : **18.12.2001**

97 Número de publicación de la solicitud: **1353911**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.10.2003**

54

Título: **Agentes antivirales.**

30

Prioridad: **18.12.2000 AU PR2137**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**27.07.2011**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**27.07.2011**

73

Titular/es:  
**BIOTA SCIENTIFIC MANAGEMENT Pty. Ltd.**  
**Unit 10, 585 Blackburn Road**  
**Notting Hill VIC 3168, AU**

72

Inventor/es: **Watson, Keith;**  
**Krippner, Guy;**  
**Stanislawski, Pauline y**  
**McConnell, Darryl**

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 363 234 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

## Agentes antivirales

5 Esta invención se relaciona con agentes antivirales, en particular con compuestos útiles en el tratamiento de infecciones causadas por *Picornaviridae*, tales como rinovirus humano (HRV) y con métodos para su preparación. La invención también se relaciona con el uso de estos compuestos en el tratamiento de infecciones por picornavirus. Los compuestos de la invención son especialmente adecuados para uso en el tratamiento de HRV y, en consecuencia será conveniente describir la invención en relación con estos virus. Sin embargo, debe entenderse que la invención puede ser aplicada también a otros virus de la familia Picornavirus.

10 Los rinovirus humanos son miembros del género *Rinovirus* de la familia de picornavirus y se cree que son responsables por entre 40 y 50 % de las infecciones del resfriado común. Los rinovirus humanos comprenden un grupo de más de 100 virus serotípicamente distintos y, en consecuencia se considera que la actividad antiviral para múltiples serotipos y la potencia son factores igualmente importantes en el diseño de fármacos.

15 Se han identificado dos receptores celulares con los cuales se enlazan casi todos los HRV clasificados. El grupo principal, que comprende 91 de los más de 100 serotipos clasificados, se enlaza con la molécula-1 de adhesión intracelular (ICAM-1) mientras que el grupo menor, que comprende el resto de serotipos clasificados con la excepción de HRV87, que se enlaza con la familia de receptores de lipoproteína de baja densidad de las proteínas.

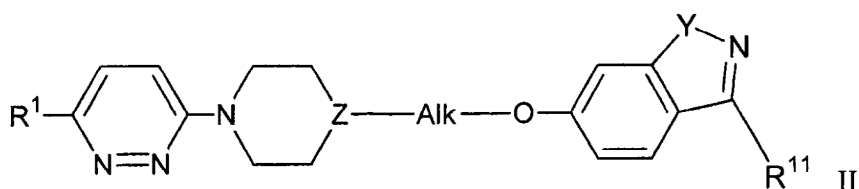
20 Otro género de la familia *Picornaviridae* está representado por los Enterovirus. Este género incluye a los poliovirus 1 - 3, los coxsackievirus A (23 serotipos) y B (6 serotipos), los echovirus (31 serotipos) y los enterovirus numerados 68 - 71. Los síndromes clínicos causados por enterovirus incluyen poliomieltis, meningitis, encefalitis, pleurodinia, herpangina, enfermedad de manos, pies y boca, conjuntivitis, miocarditis y enfermedades neonatales tales como enfermedades respiratorias y enfermedades febriles. La superficie de la cápside contiene "cañones" que rodean cada uno de los ejes icosaédricos plegados cinco veces y se cree que los receptores celulares se unen a residuos sobre el fondo del cañón.

25 Un bolsillo hidrófobo se encuentra por debajo del cañón dentro del cual una cantidad de compuestos antivirales son capaces de unirse, algunas veces con los consecuentes cambios conformacionales. Algunos de estos compuestos han mostrado que inhiben la pérdida de la envoltura de los HRV y, para algunos de los virus principales del grupo receptor, también se ha demostrado la inhibición del enlazamiento del receptor celular. También se ha demostrado que cuando un compuesto está enlazado dentro del bolsillo hidrófobo de la cápside, los HRV son más estables a la desnaturalización por calor o por ácidos.

30 Los ejemplos de compuestos virales antipicornico que se cree que actúan por medio del enlazamiento dentro de los bolsillos hidrófobos de la cápside del picornavirus están descritos en las Patentes Estadounidenses Nos. 4.857.539, 4.992.433, 5.026.848, 5.051.515, 5.100.893, 5.112.825, 5.070.090, y la Patente Australiana No. 628172. Un compuesto que ha sido objeto de recientes ensayos clínicos en humanos es el etil 4-[2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]-etoxi]benzoato, también conocido como "Pirodavir". ("Intranasal Pirodavir (R77.975) Treatment of Rhinovirus Colds" F. G. Hayden, et al., *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 290 - 294, 1995).

35 Se ha descubierto ahora una nueva clase de compuestos antivirales que se ha encontrado que exhiben propiedades antipicornavirales particularmente favorables.

En consecuencia la presente invención proporciona en un aspecto un compuesto de fórmula II:



40 en donde:

R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>, halo, hidroxilo, mercapto, trifluorometilo, amino, mono o di(alquilo C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>)amino, ciano, formilo, -CH=NO-alquilo C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>, haloalcoxi C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>, ariloxi, alquiltio C<sub>1</sub>-<sub>4</sub>, o arilo;

Y es O, S, NH o NMe;

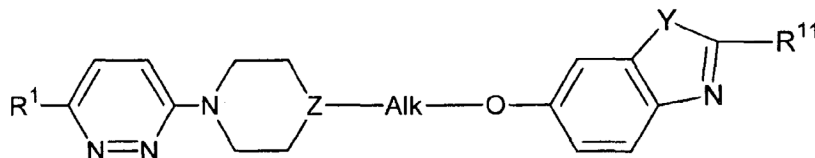
Z es CH o N;

Alk es alquileo C<sub>1-6</sub>; y

R<sup>11</sup> es OR<sup>10</sup> o SR<sup>10</sup>, donde R<sup>10</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

5 La presente invención provee en otro aspecto un compuesto de fórmula III:



III

en donde:

R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub>, halo, hidroxilo, mercapto, trifluorometilo, amino, mono o di(alquilo C<sub>1-4</sub>)amino, ciano, formilo, -CH=NO-alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi C<sub>1-4</sub>, ariloxi, alquiltio C<sub>1-4</sub>, o arilo;

10 Y es O, S, NH o NMe;

Z es CH o N;

Alk es alquileo C<sub>1-6</sub>; y

R<sup>11</sup> es OR<sup>10</sup> o SR<sup>10</sup>, donde R<sup>10</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

15 En algunas modalidades preferidas de la invención aplica una o más de las siguientes definiciones:

R<sup>1</sup> es hidrógeno, metilo, etilo, cloro, metoxi o trifluorometilo; y

Y es O o S.

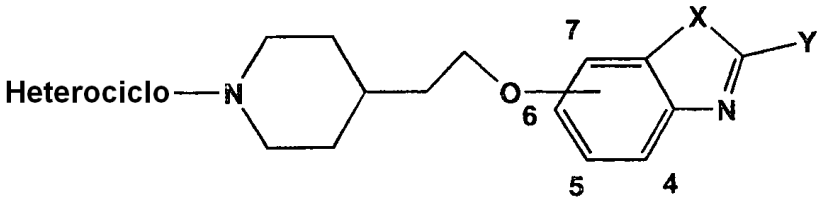
20 Como se lo utiliza aquí el término "alquilo C<sub>1-6</sub>" ya sea utilizado solo o como parte de un grupo tal como "di(alquil C<sub>1-6</sub>)amino" se refiere a grupos alquilo de cadena recta, ramificada o cíclica que tienen de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, ciclopentilo y ciclohexilo. En forma similar alquilo C<sub>1-4</sub> se refiere a grupos tales que tienen de 1 a 4 átomos de carbono.

Como se lo utiliza aquí el término "halo" ya sea utilizado solo o como parte de un grupo se refiere a grupos flúor, cloro, bromo y yodo.

25 Como se lo utiliza aquí los términos "alcoxi C<sub>1-6</sub>" y "alquilo C<sub>1-6</sub>" se refieren a grupos alcoxi de cadena recta o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de alcoxi C<sub>1-6</sub> incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, y los diferentes isómeros butoxi.

Los ejemplos de compuestos específicos dentro del alcance de la presente invención son mostrados en las Tablas 1 a 3 a continuación.

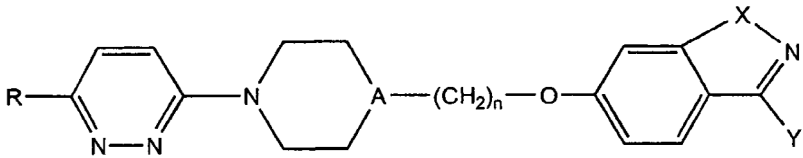
Tabla 1



Compuesto No.	Heterociclo	Posición del enlace con al anillo benz-azol	Grupo X	Sustituyente Y
4	6-Me-3-Piridazinilo	6	O	Metilitio
5	6-Me-3-Piridazinilo	6	O	Etoxi
6	6-Cl-3-Piridazinilo	6	O	Metilitio
7	6-Me-3-Piridazinilo	6	O	Etiltio
8	6-Cl-3-Piridazinilo	6	O	Etiltio
11	6-Me-3-Piridazinilo	6	O	n-Propoxi
12	6-Me-3-Piridazinilo	6	O	Metoxi
13	6-Cl-3-Piridazinilo	6	O	Etoxi
14	6-Me-3-Piridazinilo	6	S	Metoxi
15	6-Me-3-Piridazinilo	6	S	Etoxi
16	6-Me-3-Piridazinilo	5*/6	NMe	Etiltio

\* no hace parte de la presente invención

Tabla 2



Compuesto Número	Sustituyente R	Grupo A	Longitud n de la cadena de alquileo	Átomo X	Grupo Y
35	Metilo	CH	2	O	Etoxi
37	Cloro	CH	2	O	Etoxi
38	Metilo	CH	2	O	n-Propoxi

(continuación)

Compuesto Número	Sustituyente R	Grupo A	Longitud n de la cadena de alquileo	Átomo X	Grupo Y
40	Metilo	CH	2	S	Etoxi
41	Cloro	CH	3	O	Etoxi
42	Metilo	N	2	O	Etoxi

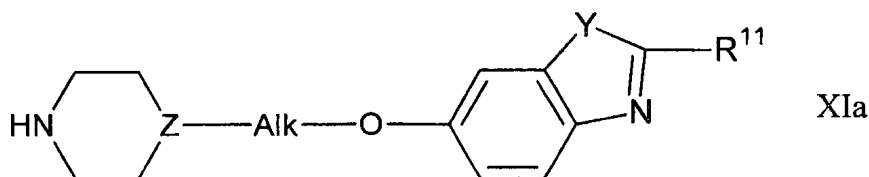
Tabla 3

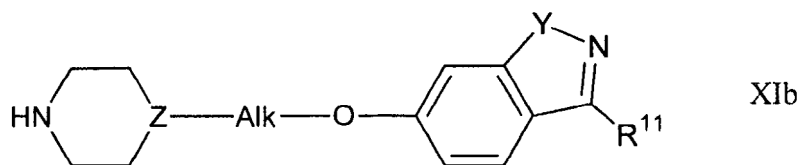
Compuesto Número	Estructura
47	
48	

5

Los compuestos de la presente invención pueden ser preparados utilizando métodos análogos a aquellos descritos en el estado del arte. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden ser preparados utilizando metodología análoga a la e los procesos descritos en las patentes Estadounidenses No. 4.992.433, 5.112.825 y 5.100.893.

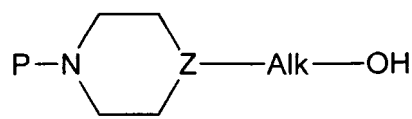
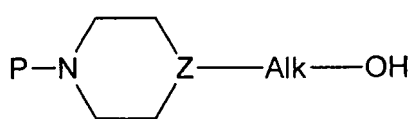
10 En un método los compuestos de la presente invención son preparados a través de un compuesto intermedio de fórmula XIa o XIb:



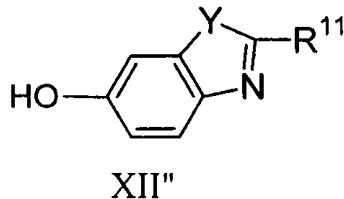
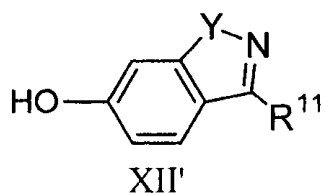


donde Z, Alk, Y y R<sup>11</sup> son como se describe más arriba.

- 5 Este compuesto intermedio puede ser preparado utilizando metodología similar a aquella descrita en la Patente Estadounidense No. 5.231.184. En un ejemplo los compuestos intermedios de fórmula XIa o XIb se preparan por medio de la reacción de compuestos de la fórmula XIVa o XIVb:



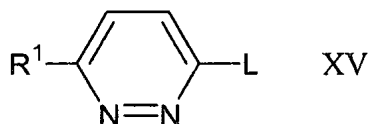
con compuestos hidroxí aromáticos de fórmula XII' o XII''.



- 10 donde Y y R<sup>11</sup> son como se define más arriba, P es H o un grupo protector, y L es un grupo saliente. La remoción del grupo protector P en el producto de reacción produce los compuestos intermedios reactivos de fórmula XIa o XIb.

Los ejemplos de grupos de protección adecuados P en compuestos de fórmula XIVa o XIVb incluyen estructuras funcionales bencilo o acilo que pueden ser introducidas y removidas por medio de métodos estándar (ver "Protective Groups in Organic Synthesis" Theodora Green, Wiley Interscience, 1981).

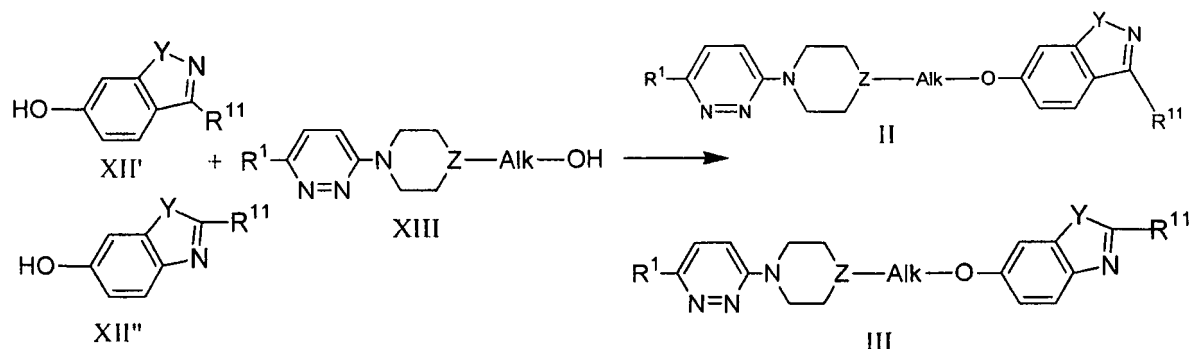
El compuesto intermedio de fórmula XIa o XIb puede reaccionar con un compuesto de fórmula XV:



- 15 donde R<sup>1</sup> es como se define más arriba y L es un grupo saliente adecuado para producir un compuesto de fórmula II o III. Para llevar a cabo la reacción descrita más arriba puede ser necesario proteger uno o más sustituyentes sobre grupos tales como R<sup>11</sup>.

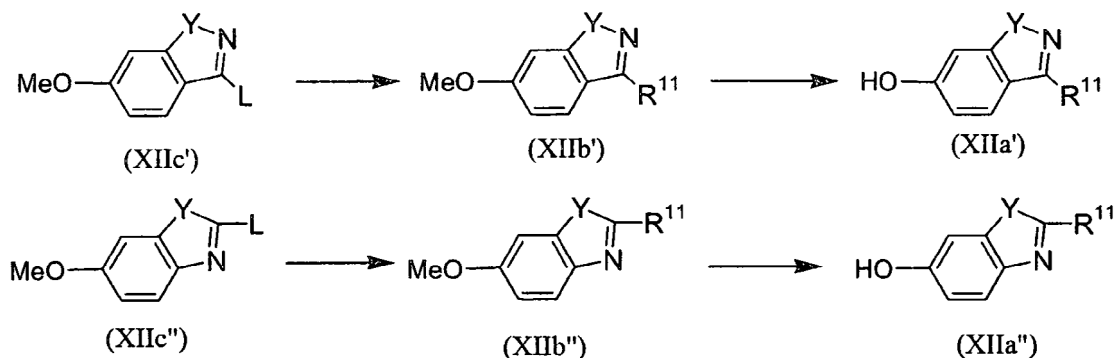
- 20 Los ejemplos de grupos salientes adecuados incluyen grupos halógeno, tales como flúor, cloro, bromo y yodo, y grupos tipo halógeno tales como p-toluenosulfoniloxi y metanosulfoniloxi.

Un método adicional para preparar ciertos compuestos de la invención de fórmula II o III involucra la condensación de un compuesto de fórmula XIII con un precursor adecuado de fórmula XII' o XII'':



- 5 utilizando las condiciones de Reacción de Mitsunobu (ver Chemical Syntheses, Vol. 42, p 335, 1992) y donde R<sup>1</sup>, Z, Alk, Y y R<sup>11</sup> son como se definió para la fórmula II ó III.

Los compuestos intermedios de fórmula XII' o XII'' pueden a menudo ser preparados a partir de formas protegidas del compuesto hidroxilo. Por ejemplo se pueden elaborar los compuestos de fórmula XII' o XII'' a partir de los correspondientes compuestos que tienen un sustituyente alcoxi o benciloxi que puede ser convertido a OH por medio de reactivos de desprotección de rutina incluido HBr o BBr<sub>3</sub>.



10

15

La literatura química contiene muchas referencias a la preparación de compuestos de fórmula (XIIb') y (XIIb'') incluyendo por ejemplo la Patente Estadounidense No. 5.919.807 y J. Org. Chem., 61, 3289 (1996). Los compuestos de fórmula (XIIb') o (XIIb'') pueden ser preparados generalmente a partir de los correspondientes compuestos (XIIc') o (XIIc'') que tienen un grupo saliente L disponible para ser desplazado por R<sup>11</sup> cuando R<sup>11</sup> es OR<sup>10</sup> o SR<sup>10</sup>. Existen varias referencias en la literatura para la preparación de ejemplos de compuestos de fórmula general (XIIc') o (XIIc'') por ejemplo en las Patentes Estadounidenses Nos. 5.919.807, 5.747.498 y en J. Med. Chem., 24, 93 (1981). Diferentes referencias, incluidas las Patentes Estadounidenses Nos. 5.112.825 y 5.242.924 describen métodos para la preparación de diferentes compuestos de fórmula XIII.

20

Los compuestos de la presente invención son útiles en la prevención o el tratamiento de infecciones por picornavirus en mamíferos, particularmente en humanos. En consecuencia en un aspecto adicional la invención provee un compuesto de fórmula II o III para uso en el tratamiento o profilaxis de una infección por picornavirus en un mamífero.

25

La infección por picornavirus puede ser causada por cualquier virus de la familia *Picornaviridae*. Los miembros representativos de la familia incluyen rinovirus humanos, poliovirus, enterovirus incluidos coxsackievirus y echovirus, hepatovirus, cardiovirus, aptovirus, hepatitis A y otros picornavirus aún no asignados a un genero particular, incluidos uno o más de los serotipos de estos virus. Preferiblemente se usa la invención en la prevención o el tratamiento de infecciones provocadas por uno o más serotipos de rinovirus.

Sin querer estar limitado por la teoría, se cree que los heteroátomos en la estructura funcional heterocíclica fusionada del compuesto de fórmula II o III pueden estar involucrados en puentes de hidrógeno con un residuo de

- 5 asparagina generalmente presente cerca de la abertura del bolsillo hidrófobo y que esta interacción mejora el enlazamiento de los compuestos en el bolsillo de la cápsida, con relación a los compuestos del estado del arte. Se cree además que la estructura funcional heterocíclica fusionada puede ser más resistente a hidrólisis y a la actividad de la esterasa que el enlace éster del pirodovir, y que esto puede permitir más flexibilidad en los métodos de administración del compuesto a los sitios de actividad, que la disponibilidad por el pirodovir fácilmente hidrolizable. En particular puede permitir la administración oral de los compuestos o reducir el metabolismo en la mucosa nasal después de administración tópica.
- 10 Las sales de los compuestos de fórmula II y III son preferiblemente farmacéuticamente aceptables, pero se apreciará que las que no son farmacéuticamente aceptables también caen dentro del alcance de la presente invención, ya que estas son útiles como intermediarias en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de estos compuestos, que pueden formarse, por ejemplo a partir de ácidos o bases orgánicos o inorgánicos. Los ejemplos de tales sales de adición ácida incluyen, pero no se limitan a, aquellas formadas con ácidos farmacéuticamente aceptables tales como ácido acético, propiónico, cítrico, láctico, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, ascórbico, clorhídrico, ortofosfórico, sulfúrico y bromhídrico. Las sales básicas incluyen, pero no se limitan a, aquellas formadas con cationes farmacéuticamente aceptables, tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio. También, se pueden cuaternizar grupos que contienen nitrógeno básico con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo, y butilo; sulfatos de dialquilo como dimetil y dietil sulfato; y otros.
- 20 Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina o como solvatos (por ejemplo hidratos) y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. Los métodos de solvatación son generalmente conocidos en el arte.
- 25 Se apreciará que algunos derivados del compuesto de fórmula II o III pueden tener un centro asimétrico, y por lo tanto son capaces de existir en más de una forma estereoisomérica. La invención se extiende a cada una de estas formas individualmente y a mezclas de las mismas, incluidos racematos. Los isómeros pueden ser convencionalmente separados por medio de métodos cromatográficos o utilizando un agente de resolución. Alternativamente se pueden preparar isómeros individuales por medio de síntesis asimétrica utilizando compuestos intermedios quirales.
- 30 La invención también prevé el uso de un compuesto de fórmula II o III en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una infección por picornavirus.
- Aunque es posible que, para uso en terapia, se puede administrar un compuesto de la invención como el producto químico puro, es preferible presentar el ingrediente activo como una formulación farmacéutica.
- En vista de la naturaleza lipofílica general de los compuestos, son particularmente adecuados para formas orales de administración, sin embargo están previstas también otras formas de administración.
- 35 Si la invención provee por lo tanto otras formulaciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un derivado de la misma junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables de las mismas y, opcionalmente, otros ingredientes terapéuticos y/o profilácticos. El(los) portador(es) debe(n) ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formación y no perjudiciales para el destinatario de los mismos.
- 40 Los compuestos de esta invención pueden también ser útiles en combinación con agentes anti-virales o anti-retrovirales conocidos u otros compuestos farmacéuticos utilizados en el tratamiento de infecciones virales. Ejemplos representativos de estos compuestos farmacéuticos adicionales incluyen agentes inmunomoduladores, inmunoestimuladores, antibióticos y anti-inflamatorios. Los ejemplos de agentes anti-virales incluyen zanamivir, rimantidina, amantidina, ribavirin, AZT, 3TC, (-) FTC, aciclovir, famciclovir, penciclovir, ddl, ddC, ganciclovir, saquinavir, loviride, otros inhibidores no nucleótidos de transcriptasa inversa (RT) e inhibidores de proteasa, anticuerpos antivirales y antirreceptores y análogos de receptores, tales como ICAM-1. Los ejemplos de inmunomoduladores e inmunoestimuladores incluyen diferentes interleuquinas, citoquinas y preparaciones de anticuerpo. Los ejemplos de antibióticos incluyen agentes contra los hongos y antibacterianos. Los ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen glucocorticoides y compuestos antiinflamatorios no esteroideos.
- 45
- 50 Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluida bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluida intramuscular, subcutánea e intravenosa) o en una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación. Los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, portador, o diluyente convencional, pueden ser colocados por lo tanto en la forma de composiciones farmacéuticas y dosis unitarias las mismas, y en tal forma pueden ser empleados como sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas, o 55 líquidos tales como soluciones, suspensiones, emulsiones, elixires, o cápsulas rellenas con los mismos, todo para



5 uso oral, en la forma de supositorios para administración rectal; o en la forma de soluciones estériles inyectables para uso parenteral (incluido subcutáneo). Tales composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden contener ingredientes convencionales en proporciones convencionales, con o sin compuestos o principios activos adicionales, y tales formas de dosificación unitarias pueden contener cualquier cantidad efectiva del ingrediente activo en forma proporcional con el rango de dosis diaria que se pretende emplear. Las formulaciones que contienen diez (10) miligramos de ingrediente activo o, de manera más amplia, 0,1 a doscientos (200) miligramos, por tableta, son por lo tanto formas de dosificación unitaria representativas adecuadas. Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados en una gran variedad de formas de dosificación orales y parenterales. Para aquellas personas capacitadas en el arte será obvio que las siguientes formas de dosificación pueden contener, como componente activo, ya sea un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

15 Para la preparación de composiciones farmacéuticas de los compuestos de la presente invención, los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser ya sea sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, tabletas, pastillas, cápsulas, supositorios, y gránulos dispersables. Un portador sólido puede ser una o más sustancias que pueden actuar también como diluyentes, agentes saborizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, al obrantes, preservantes, agentes para desintegración de tabletas, o un material de encapsulación.

En polvos, el portador es un sólido finamente dividido que está en una mezcla con el componente activo finamente dividido.

20 En tabletas, se mezcla el componente activo con el portador que tiene la capacidad necesaria de aglutinación en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño deseados.

25 Los polvos y las tabletas contienen preferiblemente de cinco o diez hasta aproximadamente setenta por ciento del compuesto activo. Los portadores adecuados son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación del compuesto activo con material de encapsulación como portador que provee una cápsula en la cual el componente activo, con o sin portadores, está rodeada por un portador, que está por lo tanto asociado con él. En forma similar, están incluidas cápsulas y pastillas. Se pueden utilizar tabletas, polvos, cápsulas, pastillas, y píldoras como formas sólidas adecuadas para administración oral.

30 Para la preparación de supositorios, se funde primero una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácido graso o manteca de cacao, y se dispersa el componente activo en forma homogénea allí, como por medio de agitación. La mezcla homogénea fundida es luego vertida en moldes de tamaño adecuado, se permite que se enfríen, y por lo tanto que solidifiquen.

35 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o aerosoles que contienen además del ingrediente activo portadores tales como los que se conocen en el arte como apropiados.

Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones, y emulsiones, por ejemplo, agua o soluciones de agua - propilén glicol. Por ejemplo, se pueden formular preparaciones líquidas para la inyección parenteral como soluciones en una solución acuosa de polietilén glicol.

40 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden por lo tanto ser formulados para administración parenteral (por ejemplo por medio de una inyección, por ejemplo inyección de bolo o una infusión continua) y pueden ser presentados en forma de dosis unitaria en ampolletas, jeringas precargadas, infusión en un volumen pequeño o en contenedores de dosis múltiples con la adición de un preservante. Las composiciones pueden tener formas tales como suspensiones, soluciones, o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo, obtenido por medio de aislamiento aséptico de un sólido estéril o por medio de liofilización de una solución, para reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes de su utilización.

50 Las soluciones acuosas adecuadas para uso oral se pueden preparar por disolución del componente activo en agua y la adición de agentes colorantes, saborizantes, estabilizantes y espesantes, según se desee. Las suspensiones acuosas adecuadas para uso oral se pueden elaborar por dispersión del componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, u otros agentes conocidos de suspensión.

También se incluyen preparaciones en forma sólida que se pretende sean convertidas, justo antes de ser utilizadas, el preparaciones en forma líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones,

y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, agentes colorantes, saborizantes, estabilizadores, amortiguadores, edulcorantes naturales y artificiales, dispersantes, espesantes, de solubilización, y similares.

5 Para administración tópica a la epidermis, se pueden formular los compuestos de acuerdo con la invención como ungüentos, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Los ungüentos y las cremas pueden, por ejemplo, ser formulados con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las lociones pueden ser formuladas con una base acuosa u oleosa y en general contendrán también uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes.

10 Las formulaciones adecuadas para administración tópica en la boca incluyen grageas que contienen agente activo en una base saborizada, usualmente sacarosa y acacia o tragacanto; pastillas que contienen al ingrediente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que contienen al ingrediente activo en un portador líquido adecuado.

15 Las soluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo con un gotero, pipeta o atomizador. Las formulaciones pueden ser suministradas en forma de dosis sencillas o en dosis múltiples. En el último caso de un gotero o pipeta, esto se puede lograr por medio de la administración al paciente de un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un atomizador, esto se puede lograr por ejemplo por medio de una bomba dosificadora para atomización en aerosol. Para mejorar el suministro nasal y la retención de los compuestos de acuerdo con la invención pueden ser encapsulados con ciclodextrinas, o formulados con los agentes que se espera que mejoren el suministro y la retención en la mucosa nasal.

20 La administración al tracto respiratorio puede ser lograda también por medio de una formulación en aerosol en la cual se suministra el ingrediente activo en un empaque presurizado con un propelente adecuado tal como un clorofluorocarbono (CFC) por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono, u otro gas adecuado.

25 El aerosol puede contener convenientemente también un tensoactivo tal como lecitina. La dosis del fármaco puede ser controlada por medio de la disposición de una válvula dosificadora.

30 Alternativamente, se pueden suministrar los ingredientes activos en la forma de un polvo seco, por ejemplo una mezcla en polvo del compuesto en una base en polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropil metilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP).

Convenientemente el portador en polvo formara un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo puede ser presentada en forma de dosis unitaria por ejemplo en cápsulas o cartuchos, por ejemplo, de gelatina, o empaques blíster a partir de los cuales se puede administrar el polvo por medio de un inhalador.

35 En formulaciones para administración al tracto respiratorio, incluidas formulaciones intranasales, el compuesto generalmente tendrá un tamaño de partícula pequeño por ejemplo del orden de 1 a 10 micrones o menor. Tal tamaño de partícula puede ser obtenido por medios conocidos en el arte, por ejemplo por micronización.

Cuando se desee, se pueden emplear formulaciones adaptadas para producir una liberación sostenida de ingrediente activo.

40 Las preparaciones farmacéuticas están preferiblemente en formas de dosificación unitaria. En tal forma, la preparación está subdividida en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación empacada, conteniendo el empaque cantidades discretas de la preparación, tales como tabletas, cápsulas, y polvos empacadas en viales o ampollitas. También, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, tableta, pastilla, o gragea en sí mismas, o puede ser la cantidad apropiada de cualquiera de éstas en forma empacada.

45 Las composiciones preferidas son líquidos o polvos para administración intranasal, tabletas o cápsulas para administración oral y líquidos para administración intravenosa.

Se describirá ahora la invención con referencia a los siguientes ejemplos que ilustran algunos aspectos preferidos de la presente invención. Sin embargo, debe entenderse que la minuciosidad de la siguiente descripción de la invención no es para sustituir la generalidad de la descripción anterior de la invención.

## Ejemplos

### Ejemplo 1: Preparación de 6-{2-[1-(6-Metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-2-metiltiobenzoxazol (Compuesto 4 de la Tabla 1)

(a) Preparación de 2-mercapto-6-hidroxibenzoxazol (ver también J. Org. Chem., 19, 758)

- 5 Se disolvió una mezcla de clorhidrato de aminoresorcinol (1,1 g), etil xantato de potasio (1,2 g) y carbonato de potasio (1,0 g) en etanol/agua (1:1, 20ml) y (bajo un globo de argón) calentado a reflujo durante 3 horas. Se enfrió la solución de color amarillo pálido hasta RT y luego se añadió ácido acético (2 ml) para volver la solución ligeramente ácida (evolución de gas). Se formó rápidamente un precipitado cremoso y se mantuvo el recipiente sellado en el refrigerador durante la noche. Se recogió el sólido cremoso por medio de filtración y se utilizó inmediatamente el producto húmedo (0,9 g) en la siguiente etapa.

(b) Preparación de 6-hidroxi-2-metiltiobenzoxazol

- 15 Se disolvió una mezcla de 6-hidroxi-2-mercaptobenzoxazol (165 mg), bicarbonato de sodio (84 mg) y dimetil sulfato (94 ml) en agua (2 ml) con agitación y bajo una atmósfera de argón. Se agitó la mezcla de reacción a RT durante la noche y la HPLC mostró que había desaparecido todo el material de partida. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad para producir un sólido de color marrón oscuro (también se puede extraer la mezcla de reacción con cloroformo para producir el producto crudo). La cromatografía sobre gel de sílice utilizando acetato de etilo al 10% /hexano produjo el producto puro como un sólido cristalino casi blanco (45 mg, 25%).

(c) Preparación de 2-Metiltio-6-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil-4-etoxi]benzoxazol (Compuesto 4)

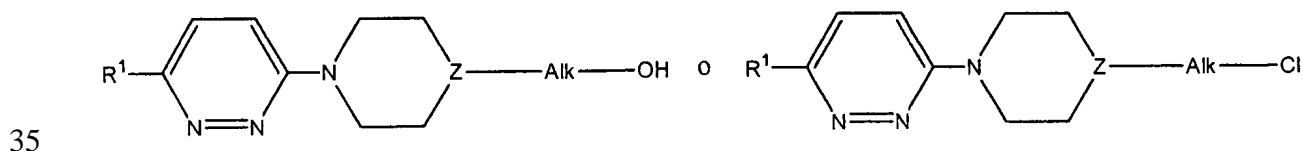
- 20 Se calentó una mezcla de 6-hidroxi-2-metiltiobenzoxazol (100 mg), 3-(4-(2-cloroetil)-1-piperidinil)-6-metilpiridazina (130 mg) y carbonato de potasio (100 mg) y agitó en DMF (3 ml) a 90 - 100° bajo atmósfera de argón durante 20 h. La TLC mostró que la reacción estaba virtualmente completa y se removió el DMF a presión reducida y se repartió el residuo entre agua y cloroformo. Se evaporaron los extractos en cloroformo y se sometió el residuo a cromatografía sobre sílice/cloroformo para producir el producto como un sólido cremoso pálido (110 mg, 50%). El espectro de RMN de <sup>1</sup>H está resumido en la Tabla 4 más abajo.

### 25 Ejemplo 2 Preparación de 2-Etoxi-6-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}benzoxazol (Compuesto No 5)

- 30 Se disolvió sodio metálico (100 mg) en etanol (5 ml) y se añadió la solución a una solución del metiltiobenzoxazol (compuesto No. 4) (74 mg) en THF (2 ml). Se agitó la solución resultante a RT durante 24 h cuando HPLC indicó que todo el material de partida había desaparecido. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se repartió el residuo entre agua y diclorometano. Se purificó el producto orgánico crudo por cromatografía sobre sílice/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> para producir el Compuesto No. 5 como un sólido cremoso pálido (46 mg). Los datos de RMN de <sup>1</sup>H y MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

### Ejemplo 3

Se prepararon los compuestos Nos. 6, 7 y 8 por reacción del compuesto apropiado de fórmula:



con el 6-hidroxibenzazol requerido sustituido en 2 (benzoxazol, benzotiazol o bencimidazol) de acuerdo con condiciones similares a aquellas descritas en el Ejemplo 1 parte (c). Los datos de RMN de <sup>1</sup>H y/o MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

### Ejemplo 4

- 40 Se prepararon los derivados de 2-alcoxibenz-azol, los Compuestos Nos. 11, 12, 13, 14 y 15 a partir de los correspondientes 2-metiltio o 2-etiltiobenzoxazol o benzotiazol por reacción con el alcóxido de sodio apropiado

esencialmente de acuerdo con las mismas condiciones descritas en el Ejemplo 2. Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y/o MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

**Ejemplo 5: Preparación de una mezcla de 2-Etiltio-3-Metil-6-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}bencimidazol (Compuesto No 16) y 2-Etiltio-3-Metil-5-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}bencimidazol (no hace parte de la presente invención)**

La metilación de 2-etiltio-5-hidroxibencimidazol produjo una mezcla aproximadamente 1:1 de 2-etiltio-3-metil-5-hidroxibencimidazol y 2-etiltio-3-metil-6-hidroxibencimidazol que no puede ser fácilmente separada. La reacción de esta mezcla de compuestos hidroxil con 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metilpiridazina, siguiendo el método descrito en el Ejemplo 1, produjo una mezcla 1:1 de productos isoméricos (Compuesto No 16).

**10 Ejemplo 6: Preparación de 6-{2-[1-(6-Metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-3-etoxi-1,2-bencisoxazol (Compuesto 35 de la Tabla 3)**

(a) Preparación del ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzohidroxámico

De acuerdo con el procedimiento de la literatura Chem. Ber. 100, 954 - 960 (1967)

15 Se prepare una solución de hidroxilamina por medio de la adición de hidróxido de sodio acuoso (393 mg, 9,82 mmol)/agua (1,6 ml) a una solución agitada de clorhidrato de hidroxilamina (292 mg, 4,21 mmol) en agua (3,5 ml). Inmediatamente después se añadió lentamente una solución de metil-2-hidroxi-4-metoxibenzoato (511 mg, 2,81 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml). Se agitó la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente durante 18 horas, bajo atmósfera de argón. Se concentró la mezcla de reacción sobre un evaporador rotatorio hasta la mitad del volumen original, y se precipitó el producto por medio de la adición de ácido clorhídrico concentrado, manteniendo el  
20 recipiente frío en un baño de hielo. Se filtró la suspensión para producir ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzohidroxámico (476 mg, 92%) como un sólido de color marrón pálido.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 3.72 (s, 3H); 6.36 (m, 2H); 7.41 (d, 1H).

(b) Preparación de 3-hidroxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol

25 Se añadió una solución de carbonil diimidazol (1,07 g, 6,57 mmol) en THF anhidro (8 ml) a una solución agitada en ebullición del ácido hidroxámico (602 mg, 3,29 mmol) en THF (6 ml). Se calentó la solución resultante a reflujo aproximadamente durante 8 - 10 horas, luego se permitió que se enfriara hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche bajo una atmósfera de argón. La cromatografía en capa delgada (TLC) (sílice; hexano/acetato de etilo en proporción 1:1) mostró mínimo material de partida y nuevo material no polar. Se evaporó la solución sobre un evaporador rotatorio para producir un aceite de color anaranjado. Se añadió agua (6 ml), y se enfrió el contenido  
30 (baño de hielo) y se aciduló hasta pH 2 con ácido clorhídrico concentrado. El 3-hidroxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol húmedo crudo precipitó como un sólido cremoso de color anaranjado (645 mg).

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 3.82 (s, 3H); 6.73 (fd, 1H); 6.80 (dd, 1H); 7.52 (d, 1H).

LCMS (ESI) 166 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>

(c) Preparación de 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol

35 Se disolvieron el bencisoxazol de la parte (b) (193 mg, 1,17 mmol), etanol (75 ml, 1,29 mmol) y trifenilfosfina (460 mg, 1,75 mmol) en THF anhidro (4 ml) y se enfrió (0°). Se añadió lentamente diisopropilazodicarboxilato (345 ml, 1,75 mmol) y después de 10 - 15 min se removió el recipiente de reacción del baño de hielo y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de argón. Se evaporó la solución hasta sequedad y se pre-absorbió el residuo sobre sílice, y se lo sometió a cromatografía sobre sílice (19 g); eluyente:  
40 hexano (300 ml), 10 - 30% de acetato de etilo/hexano para producir 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol (101 mg, 44%) como cristales de color blanco.

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.50 (t, 3H); 3.87 (s, 3H); 4.47 (q, 2H); 6.86 (m, 2H), 7.47 (d, 1H).

LCMS (ESI) 194 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>

(d) Preparación de 3-etoxi-6-hidroxi-1,2-bencisoxazol

Se añadió tribromuro de boro (solución 1 M en diclorometano; 1,39 ml, 1,39 mmol) a una solución agitada y enfriada a  $-78^{\circ}$  de bencisoxazol de la parte (c) (179 mg, 928 mmol) en diclorometano (4 ml) bajo una atmósfera de argón. Se calentó gradualmente la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente aproximadamente durante 2 horas, y se agitó durante la noche. La TLC (sílice, hexano/acetato de etilo en proporción 2:1) mostró nuevo material polar así como material de partida no reaccionado. La reacción se desarrolló por medio de la adición de agua (5 ml) y hielo. Se neutralizó la fase acuosa por medio de la adición de una solución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , y se la saturó con  $\text{NaCl}$ . Se extrajo la fase acuosa en diclorometano (3 x 60 ml), luego los extractos orgánicos combinados y se lavó con salmuera (10 ml) y secó ( $\text{NaSO}_4$ ). Se purificó el producto por medio de cromatografía sobre sílice (18 g; eluyente 2,5%, 5%, luego 15% de acetato de etilo /hexano). El primer compuesto que eluyó fue 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol no reaccionado, (46 mg), seguido por 3-etoxi-6-hidroxi-1,2-bencisoxazol 108 mg (65%).

Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1.45 (t, 3H); 4.40 (q, 2H); 6.74 (m, 2H); 7.38 (m, 1H).

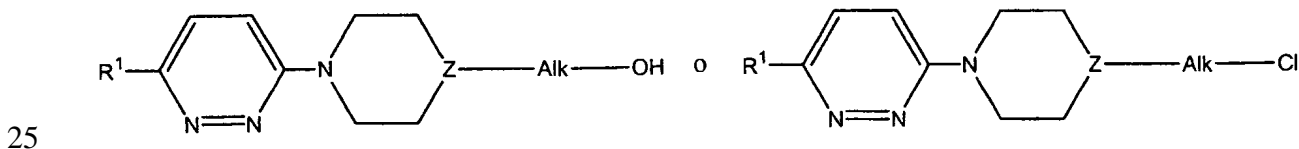
LCMS (ESI) 180 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>

#### (e) Preparación del Compuesto 35

Se enfrió una mezcla de 2-[-1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etanol (42 mg, 188 mmol), bencisoxazol de la parte (d) (28 mg, 156 mmol) y trifenilfosfina soportada sobre polímero (145 mg, 234 mmol) en THF anhidro (3 ml) a ( $0^{\circ}$ ) y se agitó bajo una atmósfera de argón. Se añadió lentamente diisopropilazodicarboxilato puro (46 ml, 234 mmol) y se permitió que se calentara la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se filtró la mezcla de reacción, luego se pre-adsorbió sobre sílice y se la sometió a cromatografía sobre sílice (aproximadamente 5 g); utilizando primeramente hexano/acetato de etilo en proporción 2:1 como eluyente, luego incrementando gradualmente hasta 70% de acetato de etilo/hexano para producir el Compuesto 35 (44mg; 73%) como un polvo de color blanco. Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

#### Ejemplo 7

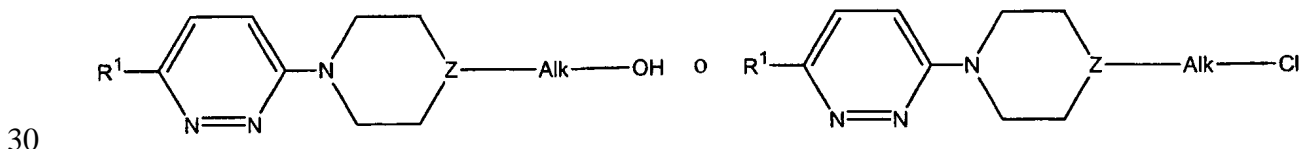
Se prepararon los Compuestos Nos 37, 38, 40, 41 y 42 por medio de la reacción del compuesto apropiado de fórmula:



con el 6-hidroxi-1,2-benzisoxazol requerido sustituido en 3 (ó 1,2-bencisotiazol) de acuerdo a condiciones similares a aquellas descritas en el Ejemplo 6. Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y/o MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

#### Ejemplo 8

Se prepararon los Compuestos Nos 47 y 48 por medio de la reacción del compuesto apropiado de fórmula:



con 2-etoxi-6-hidroxi-benzoxazol de acuerdo con condiciones similares a aquellas descritas en el Ejemplo 1, parte (c) o el Ejemplo 6 parte (e). Los datos de RMN de  $^1\text{H}$  y/o MS están registrados en la Tabla 4 más abajo.

#### Ejemplo 9

35 Los compuestos de la invención que están enlistados en las Tablas 1 a 3 fueron generalmente purificados por cromatografía sobre gel de sílice y fueron aislados como sólidos y caracterizados por medio de RMN de  $^1\text{H}$  y espectroscopía de masas. Por conveniencia los datos de RMN y ms están registrados en la Tabla 4 a continuación.

Compuesto No.	Datos de MS (ESI)	Datos de RMN: Desplazamiento Químico del Protón d en ppm (CDCl <sub>3</sub> a menos que se indique otra cosa)
35	383 (M+1) <sup>+</sup>	1.34 (m, 1H); 1.50 (t, 3H); 1.80 - 1.95 (m, 6H); 2.74 (s, 3H); 3.05 (m, 2H); 4.08 (t, 2H); 4.40 (m, 2H); 4.46 (q, 2H); 6.85 (m, 2H); 7.24 (bd, 1H); 7.37 (bd, 1H); 7.47 (d, 1H)
37	403 (M+1) <sup>+</sup>	1.37 (m, 1H), 1.50 (t, 3H), 1.91 (m, 4H), 3.03 (bt, 2H), 4.08 (t, 2H), 4.39 (bd, 2H), 4.46 (q, 2H), 6.82 - 6.86 (m, 2H), 6.97 (bd, 1H), 7.21 (bd, 1H), 7.47 (d, 1H)
38	397 (M+1) <sup>+</sup>	1.06 (t, 3H), 1.34 (m, 3H), 1.81 - 1.97 (m, 6H), 2.72 (s, 3H), 3.12 (m, 2H), 4.08 (t, 2H), 4.36 (t, 2H), 6.84 (m, 2H), 7.24 (m, 1H), 7.41 - 7.49 (m, 2H)
40	399 (M+1) <sup>+</sup>	1.36 (m, 2H), 1.48 (t, 3H), 1.79 - 1.91 (m, 5H), 2.60 (s, 3H), 2.97 (dt, 2H), 4.11 (t, 2H), 4.36 (m, 2H), 4.56 (q, 2H), 6.95 (dd, 1H), 6.99 (bd, 1H), 7.14 (fd, 1H), 7.16 (bd, 1H), 7.76 (bd, 1H)
41	No registrado	1.30 - 1.34 (m, 2H), 1.48 (t, 3H), 1.60 - 1.70 (m, 1H), 1.84 - 1.91 (m, 4H), 3.04 (t, 2H), 4.01 (t, 2H), 4.39 - 4.49 (m, 4H), 6.82 - 6.86 (m, 2H), 6.99 (d, 1H), 7.23 (d, 1H), 7.47 (d, 1H)
42	384 (M+1) <sup>+</sup>	1.43 (t, 3H), 2.46 (s, 3H), 2.76 (t, 4H), 2.93 (t, 2H), 3.62 (t, 4H), 4.18 (t, 2H), 4.38 (q, 2H), 6.8 (m, 2H), 6.89 (d, 1H), 7.09 (d, 1H), 7.42 (d, 1H)
47	No registrado	1.50 (t, 3H), 1.55 - 1.89 (m, 5H), 2.99 (t, 2H), 3.96 (t, 3H), 4.35 - 4.39 (m, 2H), 4.56 (q, 2H), 6.79 (dd, 1H), 6.91 - 6.96 (m, 2H), 7.21 (d, 1H), 7.35 (d, 1H)
48	384 (M+1) <sup>+</sup>	1.49 (t, 3H), 2.54 (s, 3H), 2.81 (m, 4H), 2.95 (t, 2H), 3.71 (m, 4H), 4.21 (t, 2H), 4.58 (q, 2H), 6.84 (dd, 1H), 6.86 (d, 1H), 6.95 (fd, 1H), 7.09 (bd, 1H), 7.34 (bd, 1H)

### Ejemplo 10

#### Actividad anti-HRV en ensayos de cultivos de células de mamífero

#### 5 Inhibición del efecto citopático viral (CPE) y medición de la citotoxicidad

La habilidad de los compuestos para suprimir la replicación del virus y por lo tanto proteger las células del CPE inducido por el HRV fue medida utilizando pulmón embrionario humano (células MRC-5 infectadas con HRV tipo 1A). Se utilizaron células cultivadas en placas para cultivo de tejido de 96 pozos utilizando medio de cultivo convencional para tejido de mamífero (tal como medio esencial mínimo) suplementado con suero fetal de ternera en un ensayo esencialmente similar a aquel descrito por Sidwell y Huffman (Applied Microbiology, 22, 797 - 801 (1971)). Se disolvieron los compuestos de prueba en dimetil sulfóxido 100% anhídrido y se diluyó en forma serial en medio de cultivo para tejido. Se evaluó la potencia antiviral de los compuestos de prueba por exposición de replicas de los pozos de cultivo de tejido a una serie de diluciones seleccionadas entre 6 y 7 concentraciones del compuesto en presencia de suficiente virus de prueba para invocar un CPE significativo en el transcurso del ensayo. Las células de control fueron expuestas también a concentraciones idénticas de compuestos en ausencia de virus o fueron infectadas con virus bajo las mismas condiciones pero en ausencia de compuestos. Se evaluaron los compuestos de eficacia anti-HRV establecida (enviroxima, ribavirina y pirodavidir) por medio de procedimientos idénticos en paralelo a los compuestos de prueba. Los medios de cultivo de tejido fueron suplementados en forma idéntica para mantener la viabilidad celular y soportar el crecimiento viral mientras se suprime el crecimiento bacteriano durante el tiempo que dura el ensayo (suplementos: suero fetal de ternera al 2%, bicarbonato de sodio al 0,01 %, 50 µg/ml de gentamicina, cloruro de magnesio 5 µM, 10 mM de cloruro de zinc). Se incubaron los ensayos a 37°C en una atmósfera al 5% de CO<sub>2</sub> hasta que se observó un CPE significativo por medio de examen microscópico de las células de control no tratadas infectadas con HRV (generalmente entre 5 y 8 días). En este momento se examinaron todos los cultivos

5 infectados en forma visual utilizando un microscopio de luz y se anotó el CPE en una escala de 0 (sin CPE) a 4 (CPE máximo). Los cultivos no infectados tratados fueron calificados en forma similar por los efectos citotóxicos (por ejemplo alargamiento, granulosidad, redondez, separación de las células). Estos resultados fueron utilizados para generar valores de EC<sub>50</sub> (concentración del compuesto que produce 50% de eficacia antiviral) y CC<sub>50</sub> (concentración del compuesto que produce 50% de citotoxicidad) por medio de análisis de regresión lineal a partir de los gráficos de la concentración del compuesto versus el % de CPE o el % de citotoxicidad, respectivamente. Como alternativa a un valor de CC<sub>50</sub>, se expresó en algunos casos la citotoxicidad como la Concentración Tóxica Mínima (MTC). La MTC corresponde a la concentración más baja de compuesto a la cual se observaron efectos citotóxicos.

10 En algunos casos el sistema de puntaje visual descrito anteriormente fue validado por tinción con colorante vital para medir la viabilidad de las células. La técnica de colorante vital utilizada era una modificación del método descrito por McManus (Appl. Environment. Microbiol., 31, 35 - 38, 1976). Después de haber obtenido el puntaje en forma visual con ayuda de un microscopio, se añadieron 100 ml de solución rojo neutro (NR) (NR al 0,34% en solución salina amortiguada con fosfato (PBS)) a cada pozo y se mezcló suavemente. Se retornaron los ensayos a la incubadora a 37°C durante 2 horas para facilitar la captación del NR por las células viables. Se aspiró luego la mezcla de medio/NR de la superficie de las células, que fueron lavadas dos veces con PBS. Se añadieron 0,25 ml de etanol absoluto que contenía amortiguador de citrato I de Sorensen, mezclando suavemente y se incubaron los ensayos a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos para disolver el NR. Se cuantificó luego la coloración con NR de las células viables en forma espectrofotométrica midiendo la densidad de color de la solución del NR utilizando un lector de microplacas EL-309 de BioTek con longitudes de onda duales de 540 y 405 nm. Se determinaron automáticamente las diferencias en las dos lecturas para eliminar errores de fondo. Se determinaron los valores de EC<sub>50</sub> y CC<sub>50</sub> por medio de análisis de regresión igualando la concentración del compuesto con la coloración con NR.

25 Los resultados se muestran en las Tablas 5 y 6 a continuación. Los índices de selectividad (SI) son el valor de CC<sub>50</sub> o MTC dividido por el valor de EC<sub>50</sub>. Las Tablas 5 y 6 también muestran datos de IC<sub>50</sub> para los análisis de los compuestos de la invención contra las cepas 2 y 14 del HRV. Estos resultados fueron obtenidos utilizando un método similar de CPE a aquel descrito anteriormente para HRV1A.

Tabla 5

Compuesto No.	IC <sub>50</sub> (µg/ml)		IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	HRV1A	CC <sub>50</sub>	HRV2	HRV14
4	0,006	> 1	0,099	0,047
5			0,003	0,007
6			0,067	0,146
7			0,002	0,006
8			0,008	0,020
11			0,002	0,020
12			0,159	0,099
13			0,004	0,015
14			0,024	0,006
15			0,007	0,006

Compuesto No.	IC <sub>50</sub> (µg/ml)	
	HRV2	HRV14
16	0,010	0,169
35	0,001	0,005
37	0,003	0,019
38	0,003	0,029
40	0,003	0,029
41	0,003	0,009
47	0,004	0,010
48	0,069	0,011

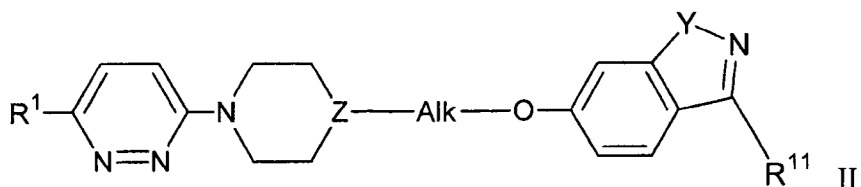
5 A lo largo de esta especificación y de las reivindicaciones que le siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprende", y variaciones tales como "incluye" y "que comprende", se deberá entender que implican la inclusión de un entero establecido o un paso o grupo de enteros o pasos pero no la exclusión de ningún otro entero o paso o grupo d enteros o pasos.

10 Aquellos capacitados en el arte se darán cuenta que la invención descrita aquí es susceptible a variaciones y modificaciones diferentes a aquellas descritas específicamente. Debe entenderse que la invención incluye todas aquellas variaciones y modificaciones. La invención también incluye todos los pasos, características, composiciones y compuestos mencionados o indicados en esta especificación, individualmente o colectivamente y todas y cada una de las combinaciones de cualquier dos o más de dichos pasos o características.



## REIVINDICACIONES

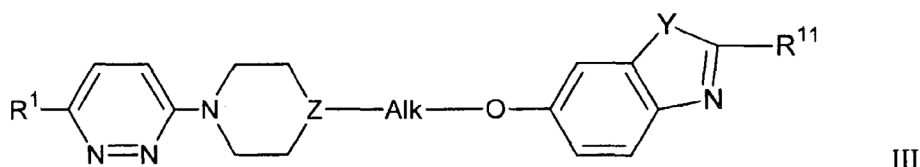
1. Un compuesto de fórmula II:



en donde:

- 5 R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub>, halo, hidroxilo, mercapto, trifluorometilo, amino, mono o di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino, ciano, formilo, -CH=NO-alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi C<sub>1-4</sub>, ariloxi, alquiltio C<sub>1-4</sub>, o arilo;
- Y es O, S, NH o NMe;
- Z es CH o N;
- Alk es alquilenos C<sub>1-6</sub>; y
- 10 R<sup>11</sup> es OR<sup>10</sup> o SR<sup>10</sup>, donde R<sup>10</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>;
- o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

2. Un compuesto de fórmula III:



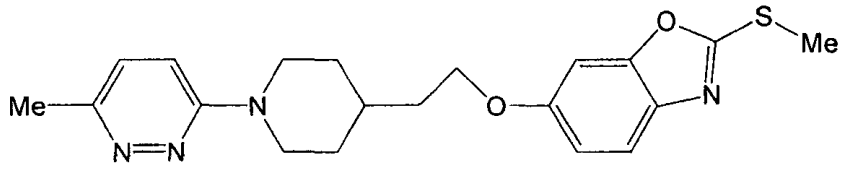
en donde:

- 15 R<sup>1</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-4</sub>, halo, hidroxilo, mercapto, trifluorometilo, amino, mono o di(alquil C<sub>1-4</sub>)amino, ciano, formilo, -CH=NO-alquilo C<sub>1-4</sub>, alcoxi C<sub>1-4</sub>, haloalcoxi C<sub>1-4</sub>, ariloxi, alquiltio C<sub>1-4</sub>, o arilo;
- Y es O, S, NH o NMe;
- Z es CH o N;
- Alk es alquilenos C<sub>1-6</sub>; y
- 20 R<sup>11</sup> es OR<sup>10</sup> o SR<sup>10</sup>, donde R<sup>10</sup> es alquilo C<sub>1-4</sub>;
- o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

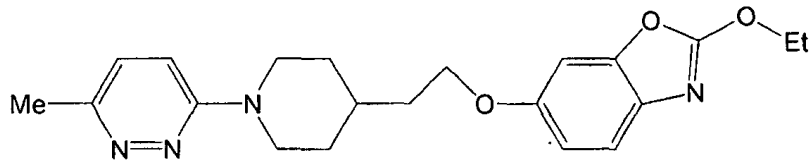
3. Un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2 en donde R<sup>1</sup> se selecciona de hidrógeno, metilo, etilo, cloro, metoxi y trifluorometilo.

4. Un compuesto de acuerdo a la reivindicación 1 ó 2 en donde Y es O o S.

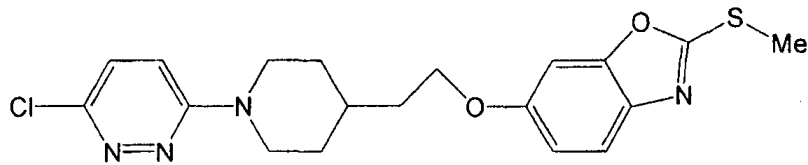
- 25 5. Un compuesto de acuerdo a cualquier reivindicación precedente que es uno de:



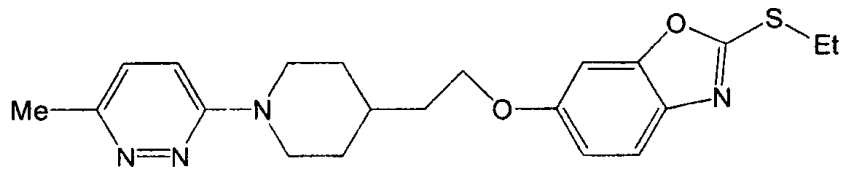
4



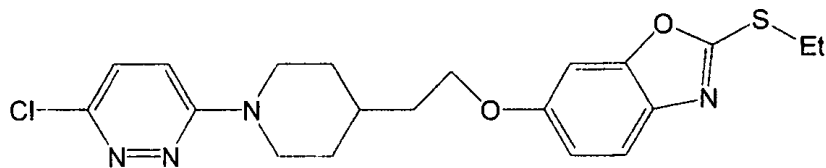
5



6

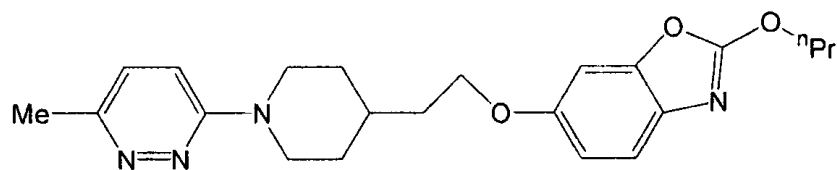


7

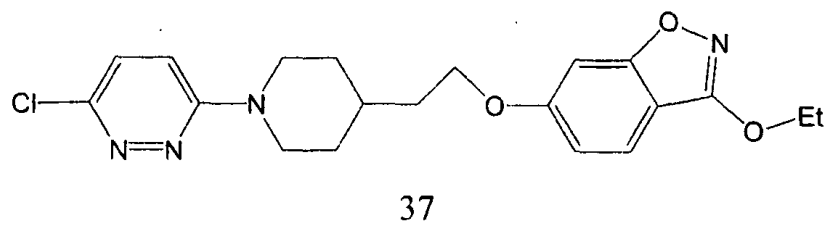
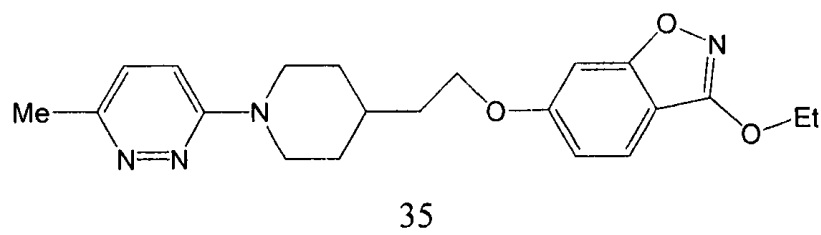
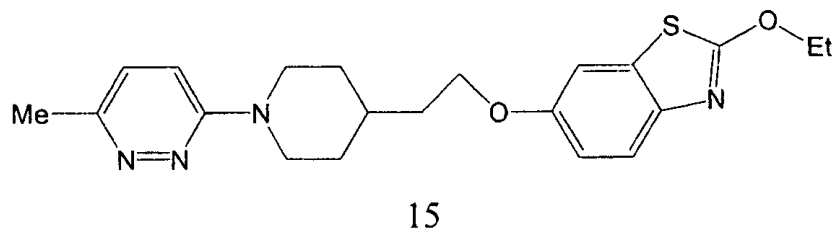
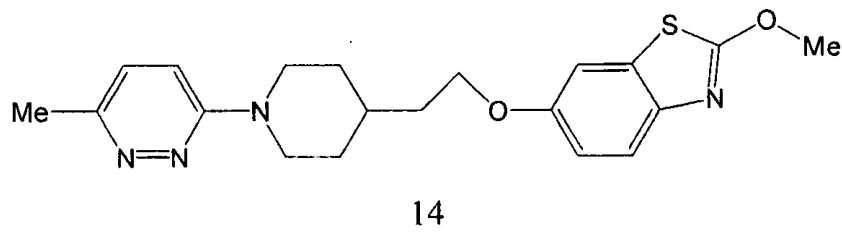
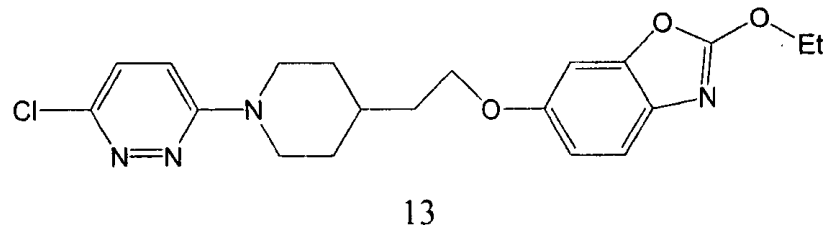
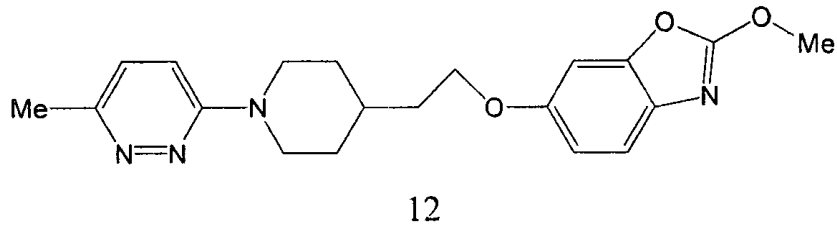


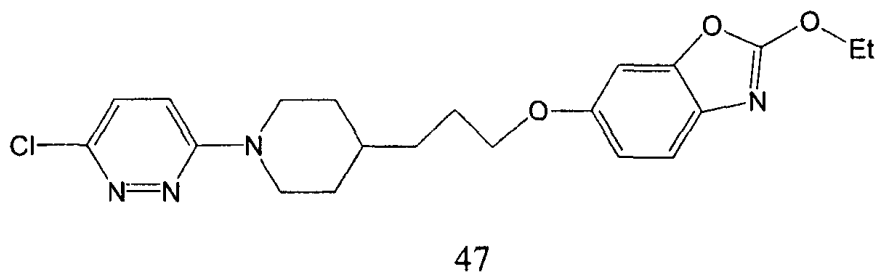
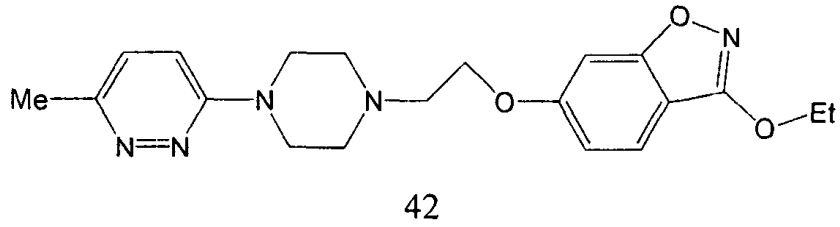
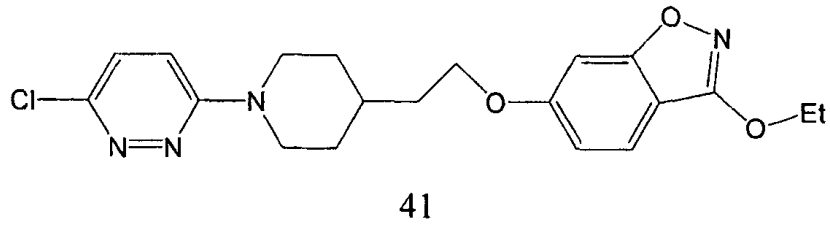
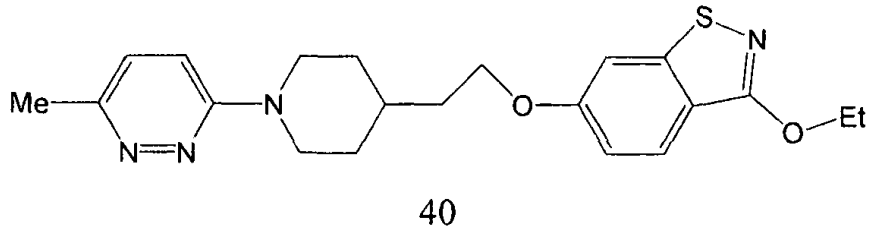
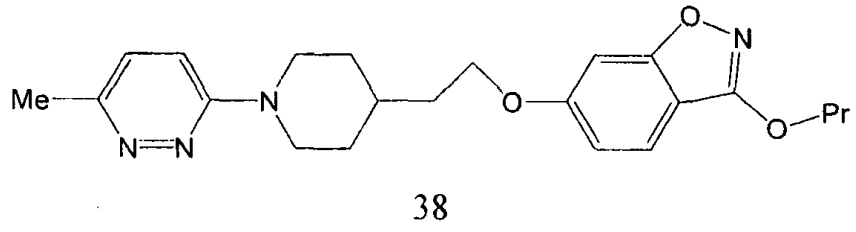
8

5



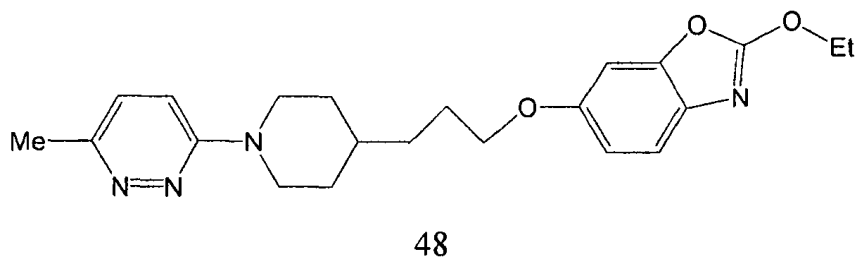
11





5

y



o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos.

6. Una composición que comprende un compuesto de fórmula II o III de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

7. Una composición de acuerdo con la reivindicación 6 que es una composición farmacéutica.

5 8. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso como un medicamento.

9. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una infección por picornavirus en un mamífero.

10. El uso de la reivindicación 9 en donde la infección por picornavirus es causada por uno o más serotipos de rinovirus.

10 11. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una infección por rinovirus humano.

12. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en el tratamiento o prevención de una infección por picornavirus.

15 13. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la infección por picornavirus es causada por uno o más serotipos de rinovirus.

14. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en el tratamiento de una infección por rinovirus humano.

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

Este listado de referencias citado por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento europeo de la patente. Aunque se ha tenido gran cuidado en la recopilación, no se pueden excluir los errores o las omisiones y la OEP rechaza toda responsabilidad en este sentido.

**5 Documentos de patente citados en la descripción**

- US 4857539 A [0006]
- US 5070090 A [0006]
- US 4992433 A [0006] [0015]
- AU 628172 [0006]
- US 5026848 A [0006]
- US 5231184 A [0017]
- US 5051515 A [0006]
- US 5919807 A [0023]

- 10
- US 5100893 A [0006] [0015]
  - US 5747498 A [0023]
  - US 5112825 A [0006] [0015] [0023]
  - US 5242924 A [0023]

**Literatura citada en la descripción que no es de patente:**

- **F. G. Hayden et al.** Intranasal Pirodavir (R77,975) Treatment of Rhinovirus Colds. *Antimicrobial Agents y Chemotherapy*, 1995, vol. 39, 290 - 294 [0006]

- 15
- **Theodora Green.** Protective Groups in Organic Synthesis. Wiley Interscience, 1981 [0018]

- *Chemical Syntheses*, 1992, vol. 42, 335 [0021]

- *J. Org. Chem.*, 1996, vol. 61, 3289 [0023]

- *J. Med. Chem.*, 1981, vol. 24, 93 [0023]

- *Chem. Ber.*, 1967, vol. 100, 954-960 [0065]

- 20
- **Sidwell; Huffman.** *Applied Microbiology*, 1971, vol. 22, 797 - 801 [0074]

- **McManus.** *Appl. Environment. Microbiol.*, 1976, vol. 31, 35 - 38 [0075]