

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 381 890**

51 Int. Cl.:
C07D 471/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04815224 .3**
96 Fecha de presentación: **21.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1706403**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2006**

54 Título: **Compuesto de imidazo[4,5-c]piridina y métodos de tratamiento antiviral**

30 Prioridad:
22.12.2003 US 532292 P
02.01.2004 US 533963 P
26.07.2004 US 591069 P
26.07.2004 US 591024 P
26.07.2004 US 590989 P
26.07.2004 US 590990 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.06.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.06.2012

73 Titular/es:
**K.U.LEUVEN RESEARCH & DEVELOPMENT
GROOT BEGIJNHOF, BENEDENSTRAAT 59
3000 LEUVEN, BE;
Puerstinger, Gerhard y
GILEAD SCIENCES, INC.**

72 Inventor/es:
**PUERSTINGER, Gerhard;
BONDY, Steven, S.;
DOWDY, Eric, Davis;
KIM, Choung, U.;
OARE, David, A.;
NEYTS, Johan y
ZIA, Vahid**

74 Agente/Representante:
de Elzaburu Márquez, Alberto

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).

ES 2 381 890 T3

DESCRIPCIÓN

Compuestos de imidazo[4,5-c]piridina y métodos de tratamiento antiviral

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a una serie de compuestos de imidazo[4,5-c]piridina nuevos, a procedimientos para su preparación, a su uso para tratar o prevenir las infecciones virales y a su uso en la fabricación de un medicamento para tratar o prevenir infecciones virales, en particular las infecciones por virus que pertenecen a la familia de Flaviviridae y Picornaviridae, y más preferiblemente las infecciones por el virus de la hepatitis C (HCV).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

- 10 La familia de los Flaviviridae consiste en 3 géneros, los pestivirus, los flavivirus y los hepacivirus, y contiene además el virus de la hepatitis G (HGV/GBV-C), que todavía no se ha asignado a un género. Los pestivirus tales como el virus de la peste porcina clásica (CSFV), el virus de la diarrea vírica bovina (BVDV) y el virus de la enfermedad de la frontera (BDV) provocan infecciones en el ganado doméstico (cerdos, ganado bovino y ovejas, respectivamente), y son responsables de pérdidas económicas significativas en todo el mundo. BVDV, el representante prototípico del género de los pestivirus, se encuentra en todo el mundo y provoca una diversidad de manifestaciones clínicas, que incluyen abortos, teratogénesis, problemas respiratorios, enfermedad consuntiva crónica, disfunción del sistema inmunitario y predisposición a infecciones virales y bacterianas secundarias, y también puede provocar una enfermedad aguda mortal. Los fetos del ganado bovino se pueden infectar persistentemente con BVDV, y estos animales continúan siendo virémicos durante toda su vida y actúan como una fuente continua para la propagación del virus en los rebaños.

- 20 Las vacunas se usan en algunos países con diferentes grados de eficacia para controlar la enfermedad por pestivirus. En otros países se utiliza el sacrificio selectivo de animales para contener los brotes de enfermedades por pestivirus.

- 25 La Organización Mundial de la Salud estima que 170 millones de personas en todo el mundo (el 3% de la población mundial) están infectadas de manera crónica por HCV. Estos portadores crónicos corren el riesgo de desarrollar cirrosis y/o cáncer de hígado. En estudios con un seguimiento de 10 a 20 años, se desarrolló cirrosis en un 20 - 30% de los pacientes, un 1 al 5% de los cuales pueden desarrollar cáncer de hígado durante los diez años siguientes. La única opción de tratamiento disponible actualmente es el uso del interferón α -2 (o su forma pegilada) solo o combinado con ribavirina. Sin embargo, solamente se observa una respuesta prolongada en alrededor del 40% de los pacientes, y el tratamiento está asociado a efectos adversos graves. Así, existe la necesidad urgente de inhibidores potentes y selectivos de la replicación del HCV para tratar las infecciones por HCV. Además, el estudio de los inhibidores específicos de la replicación del HCV se ha visto dificultado por el hecho de que no es posible propagar HCV (de manera eficaz) en un cultivo celular. Debido a que el HCV y los pestivirus pertenecen a la misma familia de virus y comparten muchas similitudes (organización del genoma, productos génicos análogos y ciclo de replicación), los pestivirus se han adoptado como modelo y sustitutos para el HCV. Por ejemplo, BVDV está estrechamente relacionado con el virus de la hepatitis C (HCV), y se usa como virus sustituto en el desarrollo de fármacos para la infección por HCV.

- 30 Se ha informado que el compuesto 3-(((2-dipropilamino)etil)tio)-5H-1,2,4-triazino[5,6-b]indol inhibe de manera selectiva la replicación de BVDV y otros pestivirus (Baginski SG et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 5 de Julio de 2000; 97(14):7951-6). Actualmente, no existe una estrategia de tratamiento disponible para controlar las infecciones provocadas por los pestivirus.

- 40 Los virus Coxsackie pertenecen al grupo de los enterovirus, familia de los Picornaviridae. Provocan un grupo heterogéneo de infecciones que incluyen la herpangina, la meningitis aséptica, un síndrome similar al resfriado común, un síndrome similar a la poliomielitis no paralítica, pleurodinia epidémica (una enfermedad infecciosa febril aguda que se da generalmente en epidemias), síndrome de mano-pie-boca, pancreatitis pediátrica y adulta, y miocarditis grave.

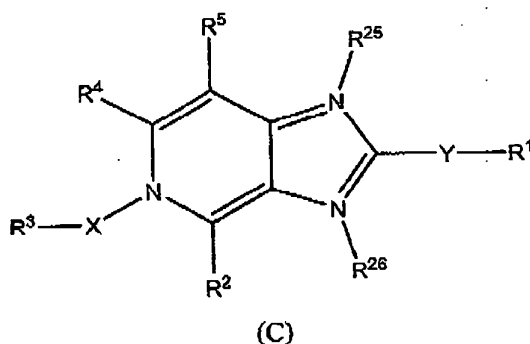
- 45 Actualmente solamente se ha estudiado clínicamente el pleconaril (3-13,5-dimetil-4-[[3-metil-5-isoxazolil]propil]fenil]-5-(trifluorometil-1,2,4-oxadiazol)) y enviroxima (2-amino-1-(isopropilsulfonil)-6-bencimidazol fenil cetoxima) para el tratamiento de infecciones por enterovirus. Pleconaril es un "inhibidor de la función de la cápside"; enviroxima impide la formación del intermedio replicativo de ARN. Enviroxima dio como resultado solamente un pequeño beneficio clínico y virológico en algunos estudios, y no proporcionó beneficios en otros. Se ha observado una respuesta clínica con pleconaril en algunos estudios, pero el compuesto no ha sido aprobado por la Food and Drug Administration (vista del 18 de marzo de 2002).

- 50 Las descripciones relevantes incluyen las patentes de EE.UU. n.ºs 4.914.108; 4.988.707; 4.990.518; 5.137.896; 5.208.242; 5.227.384; 5.302.601; 5.374.638; 5.405.964; 5.438.063; 5.486.525; 6.479.508; y la Publicación de Patente de EE.UU. N.º US2003/0108862 A1, la Patente Canadiense N.º 2423800 A1, las Patentes Alemanas N.º 4211474 A1, 4236026, 4309969, 4318813, las Patentes Europeas N.ºs EP 0138 552 A2, EP 0 706 795 A2, EP 1 132

- 381 A1, la Patente de Gran Bretaña N° 2158440 A, las Publicaciones de Patentes PCT N°s WO 00/20416, WO 00/39127, WO 00/40583, WO 03/007945 A1, WO 03/010140 A2, WO 03/010141 A2, WO 93/02080, WO 93/14072, WO 96/11192, WO 96/12703, WO 99/27929, Akamatsu, et al., "New Efficient Route for Solid-Phase Synthesis of Benzimidazole Derivatives", 4:475-4.83, *J. COMB. CHEM.*, 2002, Cleve et al., "Derivate des Imidazo[4.5-b]- und Imidazo[4.5-c]pyridins", 747:158-171, *JUSTUS LIEBIGS ANNALEN DER CHEMICA*, 1971, Kiyama, et al., "Synthesis and Evaluation of Novel Nonpeptide Angiotensin II Receptor Antagonists: Imidazo[4,5-c]pyridine Derivatives with an Aromatic Substituent", 43(3):450-60, *CHEM PHARM BULL.*, 1995, Mederski et al., "Synthesis and Structural Assignment of Some N-substituted Imidazopyridine Derivatives", 48(48):10549-58, *TETRAHEDRON*, 1992, Yutilov et al., 23(1):56-9, *KHIMIKO-FARMATSEVTICHESKII ZHURNAL*, 1989.
- 10 Existe la necesidad de compuestos que tengan propiedades deseables antivirales y de otro tipo, tales como biodisponibilidad, eficacia, atoxicidad, eliminación óptima, potencia y similares. En particular, existe la necesidad de compuestos que tengan una actividad selectiva contra virus que pertenecen a la familia de Flaviviridae, que incluyen el virus de la hepatitis C, y contra virus que pertenecen a la familia de Picornaviridae. Estos y otros objetivos de esta invención serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la consideración de esta memoria descriptiva en su totalidad.

SUMARIO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos que tienen la fórmula (C),



en la que:

- 20 R^1 es arilo, o heterociclo aromático, en el que cada uno está sustituido con 1, 2, o 3 R^6 ;
- Y es un enlace simple;
- R^2 y R^4 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , halógeno, -OH, -CN, -NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo, haloalquilo, -C(=O)R⁹, -C(=S)R⁹, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilalquilo, hidroxialquilo C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquiltio C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , o heterociclo;
- 25 X se selecciona de alquilenilo C_{1-10} , alquenilenilo C_{2-10} o alquinilenilo C_{2-10} , en el que cada uno incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de O, S, o N, con tal de que dicho heteroátomo no esté adyacente al N en el anillo de imidazopiridilo;
- R^3 es un heterociclo aromático sustituido con 1 o más R^{17} ;
- 30 R^5 se selecciona de hidrógeno; alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , halógeno, -OH, -CN, -NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo, haloalquilo, -C(=O)R⁹, -C(=O)OR⁹, -C(=S)R⁹, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilalquilo, hidroxialquilo C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquiltio C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , o heterociclo;
- 35 R^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , alquilsulfóxido C_{1-18} , alquilsulfona C_{1-18} , halo-alquilo C_{1-18} , halo-alquenilo C_{2-18} , halo-alquinilo C_{2-18} , halo-alcoxi C_{1-18} , halo-alquiltio C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , halógeno, OH, CN, cianoalquilo, -CO₂R¹⁸, NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo C_{1-18} , C(=O)R¹⁸, C(=S)R¹⁸, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfóxido, arilsulfona, arilsulfonamida, aril-alquilo (C_{1-18}), aril-alquilo (C_{1-18}), aril-alquiltio (C_{1-18}), heterociclo y hidroxialquilo C_{1-18} , en los que cada uno está sustituido opcionalmente con 1 o más R^{19} ;
- 40 R^7 y R^8 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{1-18} , arilo, cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , heterociclo, -C(=O)R¹², -C(=S)R¹², un residuo de aminoácido unido por medio de un grupo carboxilo del mismo, o R^7 y R^8 junto con el nitrógeno forman un heterociclo;

R⁹ y R¹⁸ se seleccionan independientemente de hidrógeno, OH, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₈, -NR¹⁵R¹⁶, arilo, un residuo de aminoácido unido por medio del grupo amino del aminoácido, CH₂OCH(=O)R^{9a}, o CH₂OC(=O)OR^{9a} en los que R^{9a} es alquilo C₁₋₁₂, arilo C₆₋₂₀, alquilarilo C₆₋₂₀ o aralquilo C₆₋₂₀;

- 5 R¹⁰ y R¹¹ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, arilo, -C(=O)R¹², heterociclo, o un residuo de aminoácido;

R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, arilo, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, o un residuo de aminoácido;

- 10 R¹⁵ y R¹⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, alquinilo C₂₋₁₈, arilo, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, o un residuo de aminoácido;

R¹⁷ es arilo sustituido con 1, 2, o 3 R¹⁹;

- 15 R¹⁹ se selecciona de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, alquinilo C₂₋₁₈, alcoxi C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, alquinilo C₂₋₁₈, alquiltio C₁₋₁₈, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, cicloalquinilo C₄₋₁₀, halógeno, -OH, -CN, cianoalquilo, -NO₂, -NR²⁰R²¹, haloalquilo C₁₋₁₈, haloalquiloxi C₁₋₁₈, -C(=O)R¹⁸, -C(=O)OR¹⁸, -O-alquenil-C(=O)OR¹⁸, -O-alquil-C(=O)NR²⁰R²¹, -O-alquil-OC(=O)R¹⁸, -C(=S)R¹⁸, SH, -C(=O)N(alquil C₁₋₆), -N(H)S(O)(O)(alquil C₁₋₆), arilo, heterociclo, alquilsulfona C₁₋₁₈, arilsulfóxido, arilsulfonamida, aril-alquiloxi (C₁₋₁₈), ariloxi, aril(alquil C₁₋₁₈)oxi, ariltio, aril-alquiltio (C₁₋₁₈) o aril-alquilo (C₁₋₁₈), en los que cada uno está opcionalmente sustituido con 1 o más =O, NR²⁰R²¹, CN, alcoxi C₁₋₁₈, heterociclo, haloalquilo C₁₋₁₈, heterociclo alquilo, heterociclo conectado a R¹⁷ por medio de alquilo, alcocalcoxi o halógeno;

- 20 R²⁰ y R²¹ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alquenilo C₂₋₁₈, alquinilo C₂₋₁₈, arilo, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₄₋₁₀, -C(=O)R¹², o -C(=S)R¹²;

en los que heterociclo significa un sistema de anillo simple o de anillos fusionados de 4, 5, 6, 7, 8, o 9 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N o S;

- 25 en los que arilo significa un hidrocarburo aromático que contiene 1 o más anillos con 4 a 6 átomos de carbono en cada uno; y

las sales, tautómeros, estereoisómeros y solvatos de los mismos.

Una realización de la presente invención proporciona compuestos de la fórmula (C) en los que Y es un enlace simple, y R¹ es arilo.

- 30 Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que X es alquilenilo C₁₋₁₀, alquenilenilo C₂₋₁₀ o alquinilenilo C₂₋₁₀.

Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que R³ es un heterociclo.

Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que R³ es un heterociclo sustituido con R¹⁷ en el que Q es un enlace y M es arilo.

- 35 Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que Y es un enlace simple, y R¹ es fenilo.

Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que R³ es isoxazol sustituido con R¹⁷ en el que Q es un enlace y M es arilo.

Otra realización de la presente invención proporciona compuestos de fórmula (C) en los que R³ es isoxazol sustituido con R¹⁷ en el que Q es un enlace y M es fenilo.

40 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- 45 "Alquilo" significa un resto de hidrocarburo saturado en el que el resto puede ser acíclico, cíclico o una combinación de porciones acíclicas y cíclicas. La porción acíclica puede contener 1 a 3 átomos de carbono, y cada anillo puede contener 3 a 6 átomos de carbono (por ejemplo, 3-metilciclohexilo). En esta definición, el término "cicloalquilo" se refiere a los restos de hidrocarburo saturados que son cíclicos. Los ejemplos de "alquilo" incluyen metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-metil-1-propil(i-Bu), 2-butilo (s-Bu) 2-metil-2-propilo (t-Bu), 1-pentilo (n-pentilo), 2-pentilo, 3-pentilo, 2-metil-2-butilo, 3-metil-2-butilo, 3-metil-1-butilo, 2-metil-1-butilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, 2-metil-2-pentilo, 3-metil-2-pentilo, 4-metil-2-pentilo, 3-metil-3-pentilo, 2-metil-3-pentilo, 2,3-dimetil-2-butilo, 3,3-dimetil-2-butilo, ciclopentilo, ciclobutilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, cicloheptilo, ciclooctilo y similares, o un radical hidrocarburo saturado policíclico C₇₋₁₀ que tiene de 7 a 10 átomos de carbono tal como, por ejemplo, norbornilo, fenchilo, trimetiltricioheptilo o adamantilo.

"Alquenilo" significa un resto de hidrocarburo con al menos un sitio de insaturación con enlace doble en el que el resto puede ser acíclico, cíclico o una combinación de porciones acíclicas y cíclicas. La porción acíclica puede contener 1 a 3 átomos de carbono, y cada porción cíclica puede contener 3 a 6 átomos de carbono. Un sitio de insaturación con enlace doble puede estar en una porción acíclica o en una porción cíclica. En el caso de un resto que tiene una combinación de porciones acíclicas y cíclicas, puede haber un sitio de insaturación con enlace doble en cada una de las porciones. En esta definición, el término "cicloalquenilo" se refiere a los restos de hidrocarburo insaturados con doble enlace que son cíclicos. Los ejemplos del término "alquenilo" incluyen, pero sin limitación, etileno o vinilo ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), alilo ($-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), ciclopentenilo ($-\text{C}_5\text{H}_7$), 5-hexenilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 1-ciclopent-1-enilo, 1-ciclopent-2-enilo, 1-ciclopent-3-enilo, 1-ciclohex-1-enilo, 1-ciclohex-2-enilo, y 1-ciclohex-3-enilo. El enlace doble está opcionalmente en la configuración cis o trans.

"Alquinilo" significa un resto de hidrocarburo con al menos un sitio de insaturación con enlace triple en el que el resto puede ser acíclico, cíclico o una combinación de porciones acíclicas y cíclicas. La porción acíclica puede contener 1 a 3 átomos de carbono, y cada porción cíclica puede contener 7 o más átomos de carbono. En esta definición, el término "cicloalquinilo" se refiere a restos de hidrocarburo insaturados con enlace triple que son cíclicos. Los ejemplos del término "alquinilo" incluyen, pero sin limitación, $-\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}$ -ciclohexilo, o $-\text{CH}_2$ -cicloheptenilo.

El sufijo "-eno" usado junto con grupos alquilo, alquenilo y alquinilo se refiere a dichos grupos con al menos 2 sitios de sustitución. Tales radicales de hidrocarburo polivalentes incluyen, pero sin limitación, metileno ($-\text{CH}_2-$), 1,2-etileno ($-\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,3-propileno ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,4-butileno ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$), 1,2-etileno ($-\text{CH}=\text{CH}-$), $-\text{C}\equiv\text{C}-$, propargilo ($-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$), y 4-pentinilo ($-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}-$).

"Ariilo" significa un hidrocarburo aromático que contiene 1 o más anillos, en general 1, 2 ó 3, con 4 a 6 átomos de carbono en cada uno, normalmente 5 ó 6 átomos de carbono.

"Ariilalquilo", "ariilalquenilo" y "ariilalquinilo" significa un radical alquilo, alquenilo o alquinilo, respectivamente, en el que uno de los átomos de hidrógeno, normalmente un átomo de carbono terminal o sp^3 , está sustituido con un radical ariilo. Los grupos ariilalquilo típicos incluyen, pero sin limitación, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo y similares.

Tal como se indica, los carbociclos se hallan opcionalmente en forma de anillos simples o de sistemas de anillos múltiples. Normalmente, los hidrocarburos de los compuestos de fórmula (A) son anillos simples. Los carbociclos monocíclicos tienen en general 3 a 6 átomos en el anillo, aún más en general 5 ó 6 átomos en el anillo. Los carbociclos bicíclicos tienen en general 7 a 12 átomos en el anillo, p.ej. dispuestos en forma de un sistema biciclo [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o 9 ó 10 átomos en el anillo dispuestos en forma de un sistema biciclo [5,6] o [6,6].

Si el número de átomos de carbono no se especifica para un hidrocarburo, en general el número de átomos de carbono oscilará de 1 a 18, excepto en que el número de carbonos oscilará en general de 2 a 18 para los hidrocarburos insaturados y de 6 a 10 para ariilo.

"Heterocíclico" o "heterociclo" significa cualquier sistema de anillo simple o de anillos fusionados de 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N o S. Los heterociclos son opcionalmente completamente aromáticos, completamente saturados, o contienen 1 o más sitios de insaturación dentro del anillo, normalmente enlaces dobles. Los anillos heterocíclicos múltiples (uno o más de los cuales contiene un heteroátomo) tienen una estructura en puente o spiro. En general, los anillos heterocíclicos serán aromáticos, y normalmente son anillos simples. Los ejemplos de heterociclos incluyen oxazacicloalquilo, morfolinilo, dioxacicloalquilo, tiacicloalquenilo, piridilo, dihidropiridilo, tetrahidropiridilo (piperidilo), tiazolilo, tetrahidrotiofenilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, piranilo, pirazolilo, pirazolidinilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofuranilo, tianaftalenilo, indolilo, indolenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, 2-pirrolidonilo, pirrolinilo, tetrahidrofuranilo, bis-tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo, bis-tetrahidropiranilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, octahidroisoquinolinilo, azocinilo, triazinilo, 6H-1,2,5-tiadiazinilo, 2H,6H-1,5,2-ditiazinilo, tiantrenilo, piranilo, isobenzofuranilo, cromenilo, xantenilo, fenoxatinilo, 2H-pirrolilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, isoxazolilo, oxazolilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, indolizínilo, isoindolilo, 3H-indolilo, 1H-indazolilo, purinilo, 4H-quinolizínilo, isoquinolilo, quinolilo, ftalazinilo, naftiridinilo, quinoxalínilo, quinazolinilo, cinnolinilo, pteridinilo, 4aH-carbazolilo, carbazolilo, β -carbolinilo, fenantridinilo, acridinilo, pirimidinilo, fenantrolinilo, fenazinilo, fenotiazinilo, furazanilo, fenoxazinilo, isocromanilo, cromanilo, imidazolidinilo, imidazolinilo, pirazolidinilo, pirazolinilo, piperazinilo, indolinilo, isoindolinilo, quinuclidinilo, oxazolidinilo, benzotriazolilo, bencisoxazolilo, oxindolilo, benzoxazolinilo, benzotienilo, benzotiazolilo e isatinilo. Otros heterociclos adecuados se ejemplifican en Rigaudy et al., Nomenclature of Organic Chemistry, Secciones A-H (1979) en las págs. 53-76 y Fletcher et al., Nomenclature of Organic Compounds, Adv. Chem. Ser. 126 (1974) en las págs. 49-64.

La localización en el heterociclo que proporciona el punto de unión(es) al resto del compuesto de esta invención no es crítica, pero los expertos en la técnica reconocerán los sitios de sustitución que son óptimos para la estabilidad del compuesto y/o la sencillez de la síntesis. Los heterociclos unidos a carbonos están unidos en general en la posición 2, 3, 4, 5, o 6 de una piridina, la posición 3, 4, 5, o 6 de una piridazina, la posición 2, 4, 5, o 6 de una

pirimidina, la posición 2, 3, 5, o 6 de una pirazina, la posición 2, 3, 4, o 5 de un furano, tetrahidrofurano, tiofurano, tiofeno, pirrol o tetrahidropirrol, la posición 2, 4, o 5 de un oxazol, imidazol o tiazol, la posición 3, 4, o 5 de un isoxazol, pirazol, o isotiazol, la posición 2 ó 3 de una aziridina, la posición 2, 3, o 4 de una azetidina, la posición 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 de una quinolina o la posición 1, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 de una isoquinolina. Aún más en general, los heterociclos unidos a carbono incluyen 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 5-piridilo, 6-piridilo, 3-piridazinilo, 4-piridazinilo, 5-piridazinilo, 6-piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, 6-pirimidinilo, 2-pirazinilo, 3-pirazinilo, 5-pirazinilo, 6-pirazinilo, 2-tiazolilo, 4-tiazolilo, o 5-tiazolilo.

Los heterociclos que contienen nitrógeno se unen en el nitrógeno o un carbono, en general en un átomo de carbono. Estos incluyen, por ejemplo, la posición 1 de aziridina, 1-aziridilo, 1-azetidilo, 1-pirrolilo, 1-imidazolilo, 1-pirazolilo, 1-piperidinilo, 2-pirrolina, 3-pirrolina, 2-imidazolina, 3-imidazolina, 9-carbazol, 4-morfolina, 9-alfa o β -carbolina, 2-isoindol, 2-pirazolina y 3-pirazolina, y, análogamente, azetidina, pirrol, pirrolidina piperidina, piperazina, indol, pirazolina, indolina, imidazol, imidazolidina, 1H-indazol e isoindolina. Estos y otros heterociclos que contienen N son muy conocidos para los expertos en la técnica, y sus sitios de unión se dejan a su criterio.

Los heterociclos que contienen azufre se unen por medio de carbono o azufre. Estos incluyen los estados oxidados tales como $-S(=O)(=O)-$. En general, están unidos en los compuestos de fórmula (A) de manera análoga a los heterociclos que contienen N.

"Alcoxi", "cicloalcoxi", "ariloxi", "arilalquilo", "oxi heterociclo", "tioalquilo", "tiocicloalquilo", "ariltio", y "arilalquiltio" significa sustituyentes en los que un alquilo, cicloalquilo, arilo, o arilalquilo, respectivamente, están unidos a un átomo de oxígeno o un átomo de azufre por medio de un enlace simple, tal como, pero sin limitación, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi, tioetilo, tiometilo, feniloxi, benciloxi, mercaptobencilo y similares.

"Halógeno" significa cualquier átomo seleccionado del grupo que consiste en flúor, cloro, bromo y yodo.

Cualquier designación de sustituyente que se halle en más de un sitio en un compuesto de esta invención se deberá seleccionar de manera independiente.

Cuando se indica que un grupo está sustituido con "uno o más" de otro grupo, esto significa en general 1 a 3 sustituyentes, normalmente 1, 2 ó 3 sustituyentes.

Los expertos en la técnica reconocerán también que los compuestos de la invención pueden existir en muchos estados de protonación diferentes, dependiendo, entre otras cosas, del pH de su medio. Aunque las fórmulas estructurales proporcionadas en la presente memoria representan los compuestos solamente en uno de varios estados de protonación posibles, se entenderá que estas estructuras son ilustrativas únicamente, y que la invención no se limita a ningún estado de protonación particular; todas y cada una de las formas protonadas de los compuestos pretenden estar incluidas en el alcance de la invención.

Aminoácidos

"Aminoácido" se refiere a un radical derivado de una molécula que tiene la fórmula química $H_2N-CHR^{28}-COOH$, en la que R^{28} es un grupo lateral de un aminoácido natural o sintético conocido. Los aminoácidos están sustituidos opcionalmente con un hidrocarburo en general de 1 a 8 carbonos en uno o más grupos carboxilo o amino, ya estén esos grupos en la cadena lateral o estén libres tras la unión del aminoácido al resto del compuesto de esta invención.

De manera opcional, el residuo de aminoácido es un residuo hidrófobo tal como aminoácidos de mono- o di-alquilo o arilo, aminoácidos de cicloalquilo y similares. Opcionalmente, el residuo no contiene un sustituyente de sulfhidrilo o guanidino.

Los residuos de aminoácidos naturales son los residuos hallados de manera natural en vegetales, animales o microbios, especialmente en las proteínas de los mismos. Los polipéptidos típicamente estarán compuestos de manera sustancial por tales residuos de aminoácidos naturales. Estos aminoácidos son glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, serina, treonina, cisteína, metionina, ácido glutámico, ácido aspártico, lisina, hidroxilisina, arginina, histidina, fenilalanina, tirosina, triptófano, prolina, asparagina, glutamina e hidroxiprolina. Además, también están incluidos los aminoácidos que no son naturales, por ejemplo, valanina, fenilglicina y homoarginina.

En general, solamente uno de cualquiera de los sitios de la molécula original está sustituido con un aminoácido, aunque está dentro del alcance de esta invención introducir aminoácidos en más de un sitio permitido. En general, el grupo α -amino o α -carboxilo del aminoácido está unido al resto de la molécula, es decir, los grupos carboxilo o amino en las cadenas laterales del aminoácido no se usan en general para formar los enlaces amida con el compuesto original (aunque puede ser necesario proteger estos grupos durante la síntesis de los conjugados).

Los ésteres de los aminoácidos opcionalmente son hidrolizables *in vivo* o *in vitro* en condiciones ácidas (pH <3) o básicas (pH >10). Opcionalmente, son sustancialmente estables en el tracto gastrointestinal de los seres humanos, pero se hidrolizan enzimáticamente en la sangre o en el medio intracelular.

R²⁸ es normalmente alquilo C₁-C₆ o alquilo C₁-C₆ sustituido con amino, carboxilo, amida, carboxilo (así como los ésteres, tal como se indicó anteriormente), hidroxilo, arilo C₆-C₇, guanidinilo, imidazolilo, indolilo, sulfhidrilo, sulfóxido, y/o alquilfosfato. R²⁸ también es nitrógeno para formar un residuo de prolina junto con el aminoácido α-. Sin embargo, R²⁸ es generalmente el grupo lateral del aminoácido natural descrito anteriormente, por ejemplo H, -CH₃, -CH(CH₃)₂, -CH₂-CH(CH₃)₂, -CHCH₃-CH₂-CH₃, -CH₂-C₆H₅, -CH₂CH₂-S-CH₃, -CH₂OH, -CH(OH)-CH₃, -CH₂-SH, -CH₂-C₆H₄OH, -CH₂-CO-NH₂, -CH₂-CH₂-CO-NH₂, -CH₂-COOH, -CH₂-CH₂-COOH, -(CH₂)₄-NH₂ y -(CH₂)₃-NH-C(NH₂)-NH₂. R²⁸ también incluye 1-guanidinoprop-3-ilo, bencilo, 4-hidroxibencilo, imidazol-4-ilo, indol-3-ilo, metoxifenilo y etoxifenilo.

Realizaciones Ejemplares

10 R¹ es generalmente arilo o heterociclo aromático sustituido con 1, 2 ó 3 R⁶ en el que R⁶ es halógeno, alcoxi C₁₋₁₈; o haloalquilo C₁₋₁₈. En general, R¹ es fenilo sustituido con 1, 2 ó 3 halógenos, normalmente fluoro.

Y es generalmente un enlace simple, O, alquilenilo C₁₋₆, alquilenilo C₂₋₆, alquilenilo C₂₋₆ o uno de dichos grupos que contiene 1 a 3, normalmente 1, heteroátomos seleccionados de O, S o NR¹¹. Los ejemplos incluyen -O(CH₂)₁₋₅-, -(CH₂)₁₋₄-O-(CH₂)₁₋₄-, -S-(CH₂)₁₋₅-, -(CH₂)₁₋₄-S-(CH₂)₁₋₄-, -NR¹¹-(CH₂)₁₋₅-, -(CH₂)₁₋₄-NR¹¹-(CH₂)₁₋₄ o cicloalquilideno C₃₋₁₀. En general, Y es -OCH₂-, -CH₂O-, alquilenilo C₁₋₂, alquilenilo C₂₋₃, alquilenilo C₂₋₃, O o un enlace, pero normalmente es un enlace.

En general, YR¹ no es ninguno de H, un cicloalquilo C₃₋₁₀ sin sustituir o alquilo C₁₋₆. En general, YR¹ es halógeno o fenilo sustituido con halometilo (en general trihalometilo) (y normalmente 1 a 2 sustituyentes en orto o meta).

20 X normalmente es alquilenilo, alquinileno o alquenileno, en general alquilenilo, o dichos hidrocarburos que tienen un heteroátomo dentro de la cadena, en general O o S. Los ejemplos incluyen $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{O}-(\text{CH}_2)_{2-4}-$, $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{S}-(\text{CH}_2)_{2-4}-$, $-(\text{CH}_2)_{2-4}-\text{NR}^{10}-(\text{CH}_2)_{2-4}-$, cicloalquilideno C_{3-10} , alquenileno C_{2-6} (tal como $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$) y alquinileno C_{2-6} . Normalmente, X es metileno.

25 R³ es generalmente arilo o un heterociclo, generalmente un heterociclo aromático. El heterociclo contendrá en general 1, 2 ó 3 átomos de N, S o O en el anillo, normalmente está unido a X por medio de un átomo de carbono del anillo y generalmente contiene 4 a 6, normalmente 5, átomos en el anillo en total. El arilo o heterociclo R³ normalmente está sustituido con 1, 2 ó 3, normalmente 1, R¹⁷. R³ opcionalmente no es indolilo.

Quando R^3 está substituído com R^{17} , R^{17} es generalmente arilo o un heterociclo substituído adicionalmente con 1 o más, normalmente 1, 2 ó 3. R^{19} .

30 R¹⁷ es M-Q en algunas realizaciones de la invención. M es un anillo. Esto significa cualquier estructura orgánica cíclica, carbocíclica o heterocíclica, y ya sea saturada, insaturada o aromática o un sistema de anillo simple o anillos fusionados. M se elige de los anillos que son estructuralmente estables en los sistemas biológicos. En general, M es un anillo o heterociclo aromático en el que el heterociclo se definió anteriormente.

Q es un grupo espaciador, y no es crítico. Normalmente no es cíclico, y contiene de 0 a 3 átomos, en general C, O o S, normalmente C u O.

35 R¹⁷ se selecciona en general del grupo que consiste en cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalquenilo C₃₋₁₀, cicloalquinilo C₇₋₁₀,
halógeno, arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfóxido, arilsulfona, arilsulfonamida, arilalquilo; arilalquiloxi (opcionalmente un
benciloxi); arilalquiltio (opcionalmente un benciltio); un heterociclo; hidroxialquilo C₁₋₁₈, pero en general es un arilo o
un heterociclo, y en el que cada uno de dichos arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfóxido, arilsulfona, arilsulfonamida,
40 arilalquilo, arilalquiloxi, arilalquiltio, o heterociclo está opcionalmente sustituido con 1 o más R¹⁹. R¹⁷ está colocado
generalmente de manera distal respecto de X. Opcionalmente, R¹⁷ no es C(O)R¹⁸.

R^9 y R^{18} generalmente son H, OH o alquilo. R^{18} opcionalmente no es $NR^{15}R^{16}$.

R^5 es generalmente H.

R⁶ es generalmente halógeno. Opcionalmente, R⁶ no es C(O)R¹⁸.

$R^7, R^8, R^{10}, R^{11}, R^{13}, R^{14}, R^{15}, R^{16}, R^{20}, R^{21}, R^{23}$ y R^{24} en general son independientemente H o alquilo C_{1-18} .

45 R^{12} y R^{22} en general son independientemente OH o alquilo.

R¹⁹ es normalmente H; alquilo C₁₋₁₈; alqueno C₂₋₁₈; alquino C₂₋₁₈; alcoxi C₁₋₁₈; alquenoalcoxi; alquinoalcoxi; alquiltio C₁₋₁₈; cicloalquilo C₃₋₁₀; cicloalqueno C₄₋₁₀; cicloalquino C₄₋₁₀; halógeno; OH; CN; cianoalquilo; NO₂; NR²⁰R²¹; haloalquilo; haloalquiloalcoxi; C(=O)R¹⁸, C(=O)OR¹⁸, O-alquenoil-C(=O)OR¹⁸, -O-alquilo-C(=O)NR²⁰R²¹, arilo; heterociclo; -O-alquilo-C(=O)R¹⁸; C(=O)N(alquilo C₁₋₆), N(H)S(O)(O)(alquilo C₁₋₆); arilalquiloalcoxi; ariloalcoxi; arilalquiloalcoxi; y arilalquilo; cada uno de los cuales está sin sustituir o sustituido con 1 o más =O; NR²⁰R²¹; CN; alcoxi; heterociclo; heterociclo sustituido con haloalquilo o alquilo; heterociclo unido a R¹⁷ mediante alquilo; alcocalcoxi o halógeno. R¹⁸ como sustituyente aquí en general no es H. R¹⁹ en general es independientemente halógeno, N(R²⁰R²¹), alcoxi o alquilo o alcoxi sustituido con

halógeno.

R²⁵ y R²⁶ normalmente no están presentes, pero si lo están son ciclopentilo o ciclohexilo. Si el compuesto está sustituido en R²⁵ o R²⁶, R² o R⁴ se selecciona de (=O), (=S), y (=NR²⁷), normalmente =O.

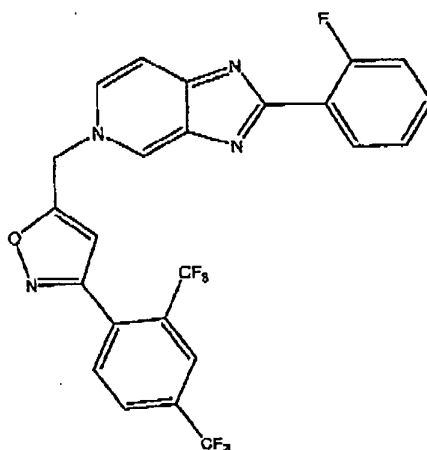
5 M es generalmente un anillo aromático, normalmente simple o dos anillos fusionados, y contiene 4 a 10 átomos. Normalmente, M es hidrocarburo, pero también comprende opcionalmente 1 a 3 heteroátomos de N, O y/o S.

Q normalmente es una cadena de hidrocarburo, en general un alquileo normal o secundario, que comprende opcionalmente al menos un oxi- o tio-éster. Q es generalmente 1 a 6 átomos, normalmente 1 a 3. Q generalmente no está sustituido con R¹⁹, pero si lo está entonces está sustituido generalmente con un R¹⁹. R¹⁹ sustituido en Q es normalmente halógeno, nitro o ciano. Los sustituyentes se designan opcionalmente con o sin enlaces.

10 Independientemente de las indicaciones de los enlaces, si un sustituyente es polivalente (basándose en su posición en la estructura mencionada), se consideran todas y cada una de las orientaciones posibles del sustituyente.

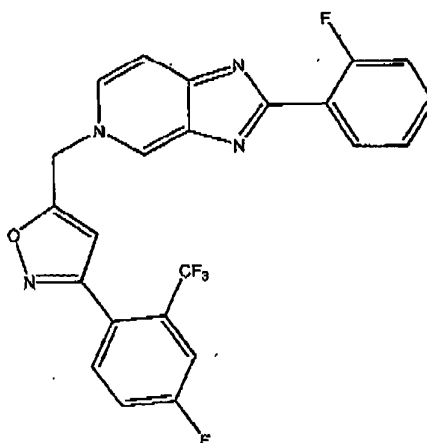
Haloalquilo o haloalquiloxi son generalmente -CF₃ o -OCF₃.

La presente invención proporciona un compuesto de la siguiente estructura,



15 que tiene actividad antiviral tal como se determina siguiendo los procedimientos enseñados a lo largo de la memoria descriptiva, tal como en la Parte B "Metodología para la Determinación de la Actividad Antiviral y Citostática" en la Sección de Ejemplos. La preparación de este compuesto se enseña a lo largo de la memoria descriptiva, tal como en el Ejemplo 6.

La presente invención proporciona además un compuesto de la siguiente estructura,



20 que tiene actividad antiviral tal como se determina siguiendo los procedimientos enseñados a lo largo de la memoria descriptiva, tal como en la Parte B "Metodología para la Determinación de la Actividad Antiviral y Citostática" en la Sección de Ejemplos. La preparación de este compuesto se enseña a lo largo de la memoria descriptiva, tal como en el Ejemplo 8A.

Los compuestos de la invención se emplean para el tratamiento o la profilaxis de infecciones virales tales como el virus de la fiebre amarilla, virus del Dengue, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis G, virus de la peste porcina clásica o el virus de la enfermedad de la frontera, pero más en particular infecciones flavivirales o picornavirales, en particular, HCV y BVDV.

- 5 El/los compuesto(s) terapéutico(s) de esta invención se administran a un sujeto mamífero (que incluye un ser humano) mediante cualquier medio conocido en la técnica, es decir, de manera oral, intranasal, subcutánea, intramuscular, intradérmica, intravenosa, intraarterial, parenteral o mediante cateterización. La cantidad terapéuticamente eficaz de el/los compuesto(s) es una cantidad que inhibe el crecimiento flaviviral o picornaviral. Más preferiblemente, es una cantidad que inhibe la replicación flaviviral o picornaviral o una cantidad que inhibe una
10 enzima flaviviral o picornaviral de los compuestos de fórmula (A). Se cree que esto corresponde a una cantidad que asegura un nivel plasmático de entre alrededor de 1 µg/ml y 100 mg/ml, opcionalmente de 10 mg/ml. Esto se consigue opcionalmente mediante la administración de una dosis en el intervalo de 0,001 mg a 60 mg, preferiblemente 0,01 mg a 10 mg, preferiblemente 0,1 mg a 1 mg por día por kg de peso corporal para seres humanos. Estos son los puntos de partida para la determinación de la dosis óptima de los compuestos de esta
15 invención. La cantidad real dependerá de muchos factores conocidos para el técnico, que incluyen la biodisponibilidad del compuesto, si contiene una función de profármaco, su metabolismo y distribución en el sujeto y su potencia, entre otros. En general es necesario determinar la dosis adecuada en el entorno clínico, y esto está dentro del conocimiento del técnico habitual. La cantidad terapéuticamente eficaz de el/los compuesto(s) de esta invención se divide opcionalmente en varias subunidades por día, o se administra a intervalos diarios o de más de
20 un día, dependiendo del estado patológico a tratar, el estado del paciente y la naturaleza del compuesto de esta invención.

- Tal como es convencional en la técnica, se puede realizar la evaluación de un efecto sinérgico en una combinación de fármacos analizando la cuantificación de las interacciones entre los fármacos individuales, mediante el uso del principio del efecto mediano descrito por Chou et al. en *Adv. Enzyme Reg.* (1984) 22:27 o pruebas tales como, pero
25 sin limitación, el método de isoblograma, tal como describió previamente Elion et al. en *J. Biol. Chem.* (1954) 208:477-488 y Baba et al. en *Antimicrob. Agents Chemother.* (1984) 25:515-517, mediante el uso de la CE₅₀ para calcular la concentración inhibitoria fraccionaria.

- Los agentes antivirales adecuados para la inclusión en combinación en composiciones antivirales o para la coadministración en un curso de terapia incluyen, por ejemplo, interferón alfa, ribavirina, un compuesto que se halla
30 dentro del alcance de la descripción de los documentos EP1162196, WO 03/010141, WO 03/007945 y WO 03/010140, un compuesto que se halla dentro del alcance de la descripción del documento WO 00/204425, y otras patentes o solicitudes de patente dentro de sus familias de patentes, en cantidades del 1 al 99,9% en peso de compuesto de esta invención, preferiblemente del 1 al 99% en peso, más preferiblemente del 5 al 95% en peso, tal como puede determinar fácilmente un experto en la técnica. Tales agentes co-administrados no necesitan estar
35 formulados en la misma forma farmacéutica que el compuesto de la invención. Opcionalmente se administran simplemente al sujeto en el curso de tratamiento junto con un curso de tratamiento con un compuesto de fórmula (A).

- La presente invención proporciona además composiciones veterinarias que comprenden al menos un ingrediente activo como se definió anteriormente junto con un vehículo veterinario, por ejemplo en el tratamiento de BVDV. Los
40 vehículos veterinarios son materiales útiles para el propósito de administrar la composición y son excipientes que por otra parte son inertes o aceptables en la técnica veterinaria y que son compatibles con el compuesto de esta invención. Estas composiciones veterinarias se pueden administrar de manera oral, parenteral o mediante cualquier otra vía deseada.

Sales

- El término "sales farmacéuticamente aceptables", tal como se usa en la presente memoria, significa las formas
45 salinas atóxicas terapéuticamente activas formadas por los compuestos de fórmula (A). Tales sales pueden incluir aquellas derivadas mediante la combinación de cationes adecuados tales como iones de metales alcalinos y alcalinotérreos o amonio e iones amino cuaternarios con un resto aniónico ácido, generalmente un ácido carboxílico.

- Los compuestos de la invención pueden albergar múltiples cargas positivas o negativas. La carga neta de los compuestos de la invención puede ser positiva o negativa. Cualquier contraión asociado viene dictado generalmente
50 por los métodos de síntesis y/o aislamiento mediante los cuales se obtienen los compuestos. Los contraiones típicos incluyen, pero sin limitación, amonio, sodio, potasio, litio, haluros, acetato, trifluoroacetato, etc., y las mezclas de los mismos. Se entenderá que la identidad de cualquier contraión asociado no es una característica crítica de la invención, y que la invención abarca los compuestos en asociación con cualquier tipo de contraión. Además, debido a que los compuestos pueden existir en una diversidad de formas diferentes, la invención pretende abarcar no
55 solamente las formas de los compuestos que están en asociación con contraiones (p.ej., sales secas), sino también las formas que no están en asociación con contraiones (p.ej., disoluciones acuosas u orgánicas).

Las sales de metales se preparan en general haciendo reaccionar el hidróxido de metal con un compuesto de esta invención. Los ejemplos de sales de metales que se preparan de esta manera son las sales que contienen Li⁺, Na⁺,

Ca⁺² y Mg⁺² y K⁺. Una sal de metal menos soluble se puede precipitar de la disolución de una sal más soluble mediante la adición del compuesto de metal adecuado. Además, las sales se pueden formar a partir de la adición de ciertos ácidos orgánicos e inorgánicos a centros básicos, en general aminas, o a grupos ácidos. Los ejemplos de tales ácidos adecuados incluyen, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrohálógenos, p.ej. ácido clorhídrico o bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propanoico, hidroxiaético, benzoico, 2-hidroxipropanoico, 2-oxopropanoico, láctico, fumárico, tartárico, pirúvico, maléico, malónico, málico, salicílico (es decir, 2-hidroxibenzoico), p-aminosalicílico, isetiónico, lactobiónico, succínico, oxálico y cítrico; ácidos sulfónicos orgánicos, tales como ácidos metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico y p-toluenosulfónico; y ácidos inorgánicos, tales como ácidos clorhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico, alquil C1-C6-sulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclohexanosulfámico, y similares. Las sales preferidas incluyen mesilato y HCl.

Los compuestos de esta invención incluyen los solvatos formados con los compuestos de fórmula (A) y sus sales, tales como, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares. Las composiciones de la presente memoria comprenden compuestos de la invención en su forma sin ionizar, así como la forma zwitteriónica, y las combinaciones con cantidades estequiométricas de agua como en los hidratos.

También están incluidas dentro del alcance de esta invención las sales de los compuestos de fórmula (A) con uno o más aminoácidos como se describió anteriormente. El aminoácido generalmente es uno que alberga una cadena lateral con un grupo básico o ácido, p.ej., lisina, arginina o ácido glutámico, o un grupo neutro tal como glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina, o leucina.

Las sales de ácidos o bases que no son fisiológicamente aceptables también pueden tener utilidad, por ejemplo, en la preparación o la purificación de un compuesto de fórmula (A). Todas las sales, deriven o no de un ácido o base fisiológicamente aceptable, están dentro del alcance de la presente invención.

Isómeros

El término "isómeros", tal como se usa en la presente memoria, significa todas las formas isoméricas posibles, que incluyen las formas tautoméricas y estereoquímicas, que los compuestos de fórmula (A) pueden poseer, pero no incluye los isómeros de posición. En general, las estructuras mostradas en la presente memoria ejemplifican solamente una forma tautomérica o de resonancia de los compuestos, pero también se contemplan las configuraciones alternativas correspondientes. A menos que se indique de otra manera, la designación química de los compuestos indica la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isoméricas posibles, y dichas mezclas contienen todos los diastereómeros y enantiómeros (ya que los compuestos de fórmula (A) pueden tener uno o más centros quirales), así como los isómeros estereoquímicamente puros o enriquecidos. Más en particular, los centros estereogénicos pueden tener la configuración R o S, y los enlaces dobles o triples están opcionalmente en la configuración cis o trans.

Las formas isoméricas enriquecidas de un compuesto de esta invención se definen como un isómero simple sustancialmente exento de otros enantiómeros o diastereómeros del compuesto. En particular, el término "estereoisoméricamente enriquecido" o "quiralmente enriquecido" se refiere a compuestos que tienen una proporción estereoisomérica simple de al menos alrededor del 80% (es decir, al menos un 90% de un isómero y como máximo un 10% de los otros isómeros posibles), preferiblemente al menos un 90%, más preferiblemente al menos un 94% y lo más preferiblemente al menos un 97%. Las expresiones "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" contienen niveles indetectables de cualquier otro isómero.

La separación de estereoisómeros se lleva a cabo mediante métodos habituales conocidos para los expertos en la técnica. Un enantiómero de un compuesto de la invención se puede separar sustancialmente exento de su enantiómero opuesto mediante un método tal como la formación de diastereómeros con el uso de agentes de resolución ópticamente activos ("Stereochemistry of Carbon Compounds", (1962) de E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C. H., (1975) J. Chromatogr., 113:(3) 283-302). La separación de isómeros en una mezcla se puede llevar a cabo mediante cualquier método adecuado, que incluye: (1) formación de sales diastereoméricas iónicas con compuestos quirales y separación mediante cristalización fraccionada u otros métodos, (2) formación de compuestos diastereoméricos con reactivos derivatizantes quirales, separación de los diastereómeros, y conversión en los enantiómeros puros, o (3) los enantiómeros se pueden separar directamente en condiciones quirales. En el método (1), las sales diastereoméricas se pueden formar mediante la reacción de bases quirales enantioméricamente puras tales como brucina, quinina, efedrina, estricnina, α-metil-β-feniletilamina (anfetamina), y similares con compuestos asimétricos que albergan una función ácida, tales como ácido carboxílico y ácido sulfónico.

Las sales diastereoméricas se inducen opcionalmente para que se separen mediante cristalización fraccionada o cromatografía iónica. Para la separación de los isómeros ópticos de compuestos amino, la adición de ácidos carboxílicos o sulfónicos quirales, tales como ácido canforsulfónico, ácido tartárico, ácido mandélico, o ácido láctico puede dar como resultado la formación de las sales diastereoméricas. De manera alternativa, mediante el método (2), el sustrato a resolver se puede hacer reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral para formar un par diastereomérico (Eliel, E. y Wilen, S. (1994). Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., pág.

322). Los compuestos diastereoméricos se pueden formar haciendo reaccionar compuestos asimétricos con reactivos derivatizantes quirales enantioméricamente puros, tales como derivados de mentilo, seguido de la separación de los diastereómeros e hidrólisis para proporcionar el xanteno libre, enantioméricamente enriquecido. Un método para determinar la pureza óptica implica producir ésteres quirales, tales como un éster de mentilo o éster de Mosher, acetato de α -metoxi- α -(trifluorometil)fenilo (Jacob III. (1982) J. Org. Chem. 47:4165), de la mezcla racémica, y analizar el espectro de RMN en busca de la presencia de los dos diastereómeros atropisoméricos. Los diastereómeros estables se pueden separar y aislar mediante cromatografía en fase normal y en fase inversa siguiendo los métodos de separación de las naftil-isoquinolinas (Hoye, T., documento WO 96/15111). En el método (3), se separa una mezcla racémica de dos enantiómeros asimétricos mediante cromatografía con el uso de una fase estacionaria quiral. Las fases estacionarias quirales adecuadas son, por ejemplo, polisacáridos, en particular derivados de celulosa o amilosa. Las fases estacionarias quirales basadas en polisacáridos disponibles comercialmente son ChiralCel™ CA, OA, OB5, OC5, OD, OF, OG, OJ y OK, y Chiralpak™ AD, AS, OP(+) y OT(+). Los eluyentes o fases móviles adecuadas para el uso en combinación con dichas fases estacionarias quirales de polisacáridos son hexano y similares, modificados con un alcohol tal como etanol, isopropanol y similares. ("Chiral Liquid Chromatography" (1989) W. J. Lough, Ed. Chapman y Hall, Nueva York; Okamoto, (1990). "Optical resolution of dihydropyridine enantiomers by High-performance liquid chromatography using phenylcarbamates of polysaccharides as a chiral stationary phase", J. of Chromatogr. 513:375-378).

Formulaciones

Los compuestos de la invención se formulan opcionalmente con vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales, que se seleccionarán de acuerdo con la práctica habitual. Los comprimidos contendrán excipientes, deslizantes, rellenos, aglutinantes y similares. Las formulaciones acuosas se preparan en forma estéril, y cuando se destinan a la administración por otra vía distinta de la oral en general serán isotónicas. Las formulaciones contienen opcionalmente excipientes tales como los expuestos en "Handbook of Pharmaceutical Excipients" (1986) e incluyen ácido ascórbico y otros antioxidantes, agentes quelantes tales como EDTA, carbohidratos tales como dextrina, hidroxialquilcelulosa, hidroxialquilmeltilcelulosa, ácido esteárico y similares.

Posteriormente, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en la presente memoria, significa cualquier material o sustancia con la que el ingrediente activo se formula para facilitar su aplicación o disseminación al lugar a tratar, por ejemplo disolviendo, dispersando o difundiendo dicha composición, y/o para facilitar su almacenamiento, transporte o manipulación sin alterar su eficacia. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un sólido o un líquido o un gas que se ha comprimido para formar un líquido, es decir, las composiciones de esta invención se pueden usar de manera adecuada en forma de concentrados, emulsiones, soluciones, granulados, polvos, pulverizados, aerosoles, suspensiones, pomadas, cremas, comprimidos, esferas o polvos.

Los vehículos farmacéuticos adecuados para el uso en dichas composiciones farmacéuticas y su formulación son muy conocidos para los expertos en la técnica, y no existen restricciones particulares para su selección en la presente invención. También pueden incluir aditivos tales como agentes humectantes, agentes dispersantes, adherentes, adhesivos, agentes emulsionantes, disolventes, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos (por ejemplo fenol, ácido sórbico, clorobutanol), agentes isotónicos (tales como carbohidratos o cloruro sódico) y similares, con tal de que los mismos sean coherentes con la práctica farmacéutica, es decir, vehículos y aditivos que no crean daños permanentes a los mamíferos. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar de cualquier manera conocida, por ejemplo mezclando homogéneamente, revistiendo y/o moliendo los ingredientes activos, en un procedimiento de una etapa o de múltiples etapas, con el material de vehículo seleccionado y, cuando sea adecuado, los otros aditivos, tales como agentes tensioactivos, se pueden preparar también mediante micronización, por ejemplo para obtenerlos en forma de microesferas que tienen normalmente un diámetro de alrededor de 1 a 10 μm , concretamente para la fabricación de microcápsulas para la liberación controlada o mantenida de los ingredientes activos.

Los agentes tensioactivos adecuados, también conocidos como emulgentes o emulsionantes, a usar en las composiciones farmacéuticas de la presente invención son materiales no iónicos, catiónicos y/o aniónicos que tienen buenas propiedades emulsionantes, dispersantes y/o humectantes. Los tensioactivos aniónicos adecuados incluyen tanto jabones hidrosolubles como agentes tensioactivos sintéticos hidrosolubles. Los jabones adecuados son sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, sales de amonio sin sustituir o sustituidas de ácidos grasos superiores (C_{10} - C_{22}), p.ej. las sales de sodio o de potasio de ácido oleico o esteárico, o de mezclas de ácidos grasos naturales obtenibles de aceite de coco o de aceite de sebo. Los tensioactivos sintéticos incluyen las sales de sodio o de calcio de ácidos poliacrílicos; sulfonatos y sulfatos grasos; derivados de bencimidazol sulfonados y alquilarylsulfonatos. Los sulfonatos o sulfatos grasos están normalmente en forma de sales de metales alcalinos o alcalinotérreos, sales de amonio sin sustituir o sales de amonio sustituidas con un radical alquilo o acilo que tiene de 8 a 22 átomos de carbono, p.ej. la sal de sodio o de calcio del ácido lignosulfónico o ácido dodecilsulfónico o una mezcla de sulfatos de alcoholes grasos obtenidos de ácidos grasos naturales, sales de metales alcalinos o alcalinotérreos de ésteres de ácido sulfúrico o sulfónico (tales como lauril sulfato sódico) y ácidos sulfónicos de aductos de alcohol graso/óxido de etileno. Los derivados de bencimidazol sulfonados adecuados preferiblemente contienen 8 a 22 átomos de carbono.

Los ejemplos de alquilarilsulfonatos son las sales de sodio, calcio o alcoholamina del ácido dodecibenceno sulfónico o ácido dibutil-naftalenosulfónico o un producto de condensación de ácido naftaleno-sulfónico/formaldehído. También son adecuados los fosfatos correspondientes, p.ej. las sales de éster de ácido fosfórico y un aducto de p-nonilfenol con óxido de etileno y/o propileno, o fosfolípidos. Los fosfolípidos adecuados para este fin son los fosfolípidos naturales (originados a partir de células animales o vegetales) o sintéticos de tipo cefalina o lecitina, tales como, p.ej., fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilglicerina, lisolecitina, cardiolipina, dioctanilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina y sus mezclas.

Los tensioactivos no iónicos adecuados incluyen derivados polietoxilados y polipropoxilados de alquilfenoles, alcoholes grasos, ácidos grasos, aminas alifáticas o amidas que contienen al menos 12 átomos de carbono en la molécula, alquilarenosulfonatos y dialquilsulfosuccinatos, tales como derivados de poliglicol éter de alcoholes alifáticos y cicloalifáticos, ácidos grasos saturados e insaturados y alquilfenoles, y dichos derivados contienen preferiblemente 3 a 10 grupos de glicol éter y 8 a 20 átomos de carbono en el resto de hidrocarburo (alifático) y 6 a 18 átomos de carbono en el resto alquilo del alquilfenol. Los tensioactivos no iónicos adecuados adicionales son aductos hidrosolubles de poli(óxido de etileno) con polipropilén glicol, etilendiaminopolipropilén glicol que contiene 1 a 10 átomos de carbono en la cadena alquilo, cuyos aductos contienen 20 a 250 grupos de etilenglicol éter y/o 10 a 100 grupos de propilenglicol éter. Tales compuestos contienen normalmente de 1 a 5 unidades de etilenglicol por unidad de propilenglicol. Los ejemplos representativos de tensioactivos no iónicos son nonilfenol - polietoxietanol, éteres poliglicólicos de aceite de ricino, aductos de poli(óxido de propileno)/poli(óxido de etileno), tributilfenoxipolietoxietanol, polietilenglicol y octilfenoxipolietoxietanol. Los ésteres de ácidos grasos de polietilén sorbitán (tales como trioleato de polioxietilén sorbitán), glicerol, sorbitán, sacarosa y pentaeritritol también son tensioactivos no iónicos adecuados.

Los tensioactivos catiónicos adecuados incluyen las sales de amonio cuaternarias, en particular haluros, que tienen 4 radicales de hidrocarburo opcionalmente sustituidos con halógeno, fenilo, fenilo sustituido o hidroxilo; por ejemplo, las sales de amonio cuaternarias que contienen como sustituyente en N al menos un radical alquilo C8C22 (p.ej. cetilo, laurilo, palmitilo, miristilo, oleilo y similares) y, como sustituyentes adicionales, radicales alquilo inferior, bencilo y/o hidroxilo-alquilo inferior sin sustituir o halogenados.

Una descripción más detallada de los agentes tensioactivos adecuados para este propósito se puede hallar, por ejemplo, en "McCutcheon's Detergents and Emulsifiers Annual" (MC Publishing Corp., Ridgewood, Nueva Jersey, 1981), "Tensid-Taschenbuch", 2ª ed. (Hanser Verlag, Viena, 1981) y "Encyclopaedia of Surfactants, (Chemical Publishing Co., Nueva York, 1981).

Los compuestos de la invención y sus sales fisiológicamente aceptables (denominadas en conjunto ingredientes activos más adelante en la presente memoria) se pueden administrar mediante cualquier vía adecuada para la afección a tratar, y las vías adecuadas incluyen la vía oral, rectal, nasal, tópica (que incluye ocular, bucal y sublingual), vaginal y parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). La vía preferida de administración puede variar, por ejemplo, con la condición del receptor.

Aunque es posible administrar los ingredientes activos por sí solos, se prefiere presentarlos como formulaciones farmacéuticas. Las formulaciones, tanto para uso veterinario como para uso en seres humanos, de la presente invención comprenden al menos un ingrediente activo, como se describió anteriormente, junto con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El/los vehículo(s) de manera óptima son "aceptables" en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudiciales para el receptor de los mismos. Las formulaciones incluyen las adecuadas para la administración oral, rectal, nasal, tópica (que incluye bucal y sublingual), vaginal o parenteral (que incluye subcutánea, intramuscular, intravenosa, intradérmica, intratecal y epidural). Las formulaciones se pueden presentar de manera conveniente en una forma farmacéutica unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Tales métodos incluyen la etapa de asociar el ingrediente activo con el vehículo que constituye uno o más ingredientes secundarios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la presente invención adecuadas para la administración oral se pueden presentar en forma de unidades discretas tales como cápsulas, sobres o comprimidos, y cada una contiene una cantidad predeterminada del ingrediente activo; en forma de un polvo o gránulos; en forma de una disolución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión líquida aceite en agua o una emulsión líquida agua en aceite. El ingrediente activo se puede presentar también en forma de una inyección rápida, electuario o pasta.

Se puede producir un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes secundarios. Los comprimidos producidos mediante compresión se pueden preparar comprimiendo en un aparato adecuado el ingrediente activo en una forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un agente aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden producir moldeando en un aparato adecuado una mezcla del compuesto pulverizado humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos se pueden revestir opcionalmente o marcar con una

muesca, y se pueden formular para proporcionar una liberación lenta o controlada del ingrediente activo contenido en ellos. Para las infecciones del ojo o de otros tejidos externos, p.ej. boca y piel, las formulaciones se aplican opcionalmente en forma de una pomada o crema tópica que contiene el/los ingrediente(s) activo(s) en una cantidad, por ejemplo, del 0,075 al 20% p/p (que incluye el/los ingrediente(s) activo(s) en un intervalo entre un 0,1% y un 20% en incrementos del 0,1% p/p, tal como 0,6% p/p, 0,7% p/p, etc.), preferiblemente un 0,2 a un 15% p/p y lo más preferiblemente un 0,5 a un 10% p/p. Cuando se formula en una pomada, los ingredientes activos se pueden emplear con una base de pomada parafínica o miscible con el agua. De manera alternativa, los ingredientes activos se pueden formular en una crema con una base de crema aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos un 30% p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilen glicol, butano 1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilen glicol (que incluye PEG400) y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir de manera deseable un compuesto que potencie la absorción o la penetración del ingrediente activo a través de la piel o de otras áreas afectadas. Los ejemplos de tales potenciadores de la penetración dérmica incluyen sulfóxido de dimetilo y los análogos relacionados.

La fase oleosa de las emulsiones de esta invención se puede constituir a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante (conocido de otra manera como emulgente), de manera deseable comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite, o tanto con una grasa como con un aceite. Opcionalmente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. En conjunto, el/los emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) constituyen la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituyen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones de crema.

La elección de los aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto activo la mayoría de aceites que se van a usar probablemente en las formulaciones de emulsiones farmacéuticas es muy baja. Así, la crema debería ser opcionalmente un producto que no sea grasiento, que no manche y que sea lavable, con una consistencia adecuada para evitar escapes de tubos u otros recipientes. Se pueden usar ésteres de alquilo mono- o dibásicos de cadena lineal o ramificada tales como diisoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilen glicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, y se prefieren los tres últimos ésteres. Estos se pueden usar solos o en combinación, dependiendo de las propiedades necesarias. De manera alternativa, se pueden usar lípidos de punto de fusión elevado tales como parafina blanca blanda y/o parafina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en el ojo incluyen también gotas oculares, en las que el ingrediente activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, en especial un disolvente acuoso para el ingrediente activo. El ingrediente activo está presente opcionalmente en tales formulaciones en una concentración del 0,5 al 20%, de manera ventajosa del 0,5 al 10%, en particular alrededor del 1,5% p/p. Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base con sabor, normalmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto; pastillas que comprenden el ingrediente activo en una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga; y colutorios que comprenden el ingrediente activo en un vehículo líquido adecuado.

Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar en forma de un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato. Las formulaciones adecuadas para la administración nasal en la que el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micras (lo que incluye tamaños de partícula en un intervalo entre 20 y 500 micras en incrementos de 5 micras, tal como 30 micras, 35 micras, etc.), que se administra de la manera que se inhala el rapé, es decir, mediante la inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente del polvo que se mantiene cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para la administración, por ejemplo, en forma de una pulverización nasal o en forma de gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo. Las formulaciones adecuadas para la administración en aerosol se pueden preparar según métodos convencionales, y se pueden administrar con otros agentes terapéuticos.

Las formulaciones adecuadas para la administración vaginal se pueden presentar en forma de óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones pulverizadas, que contienen además del ingrediente activo los vehículos que se sabe que son adecuados en la técnica.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica respecto de la sangre o del receptor deseado; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes de unidosis o de multidosis, por ejemplo ampollas selladas y viales, y se pueden almacenar en un estado liofilizado que requiere solamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes del uso. Las soluciones y suspensiones para inyección improvisada se pueden preparar a

partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente.

Las formulaciones de dosis unitaria preferidas son aquellas que contienen una dosis diaria o subdosis diaria unitaria, tal como se expuso anteriormente en la presente memoria, o una fracción adecuada de la misma, de un ingrediente activo.

- 5 Se debería entender que además de los ingredientes mencionados en particular anteriormente, las formulaciones de esta invención pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo aquellos que son adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

- 10 Los compuestos de la invención se pueden usar para proporcionar formulaciones farmacéuticas de liberación controlada que contienen como ingrediente activo uno o más compuestos de la invención ("formulaciones de liberación controlada"), en las que la liberación del ingrediente activo se puede controlar y regular para permitir una dosificación menos frecuente o para mejorar el perfil farmacocinético o de toxicidad de un compuesto de la invención en concreto. Las formulaciones de liberación controlada adaptadas para la administración oral en las que las unidades discretas comprenden uno o más compuestos de la invención se pueden preparar según métodos convencionales.

- 15 Se pueden incluir ingredientes adicionales para controlar la duración de la acción del ingrediente activo en la composición. Las composiciones de liberación controlada se pueden llevar a cabo así seleccionando vehículos poliméricos adecuados, tales como, por ejemplo, poliésteres, poliaminoácidos, polivinilpirrolidona, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, metilcelulosa, carboximetilcelulosa, sulfato de protamina y similares. La velocidad de la liberación de fármaco y la duración de la acción se puede controlar también incorporando el ingrediente activo en las partículas, p.ej. microcápsulas, de una sustancia polimérica tal como hidrogeles, poli(ácido láctico), hidroximetilcelulosa, poli(metacrilato de metilo) y los otros polímeros descritos anteriormente. Tales métodos incluyen sistemas de administración de fármacos coloidales como liposomas, microesferas, microemulsiones, nanopartículas, nanocápsulas, etc. Dependiendo de la vía de administración, la composición farmacéutica puede
- 20 requerir revestimientos protectores. Las formas farmacéuticas adecuadas para el uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles, y polvos estériles para la preparación improvisada de las mismas. Los vehículos típicos para este fin, por lo tanto, incluyen tampones acuosos biocompatibles, etanol, glicerol, propilen glicol, polietilen glicol y similares, y mezclas de los mismos.

- 25 En vista del hecho de que cuando se usan varios ingredientes activos en combinación no provocan necesariamente el efecto terapéutico mixto directamente al mismo tiempo en el mamífero que se está tratando, la composición correspondiente también puede estar en forma de un equipo médico o envase que contiene los dos ingredientes en depósitos o compartimentos distintos pero adyacentes. En este último contexto, cada ingrediente activo se puede formular, por lo tanto, de una manera adecuada para una vía de administración diferente de la del otro ingrediente, p.ej. uno de ellos puede estar en forma de una formulación oral o parenteral mientras el otro está en forma de una
- 30 ampolla para una inyección intravenosa o un aerosol.

Métodos Sintéticos

- Los compuestos de fórmula (A) se preparan mediante el uso de una serie de reacciones químicas muy conocidas para los expertos en la técnica, que juntas constituyen el procedimiento para la preparación de dichos compuestos y los ejemplificados adicionalmente. Los procedimientos descritos adicionalmente sólo pretenden ser ejemplos, y no pretenden limitar de ninguna manera el alcance de la presente invención.

- La invención también se refiere a métodos para producir las composiciones de la invención. Las composiciones se preparan mediante cualquiera de los métodos aplicables de síntesis orgánica. Muchos de dichos métodos se conocen bien la técnica. No obstante, muchos de los métodos conocidos se explican con detalle en "Compendium of Organic Synthetic Methods" (John Wiley & Sons, Nueva York), Vol. 1, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1971; Vol. 2, Ian T. Harrison y Shuyen Harrison, 1974; Vol. 3, Louis S. Hegedus y Leroy Wade, 1977; Vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., 1980; Vol. 5, Leroy G. Wade, Jr., 1984; y Vol. 6, Michael B. Smith; así como en March, J., "Advanced Organic Chemistry, Third Edition", (John Wiley & Sons, Nueva York, 1955), "Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry. In 9 Volumes", Barry M. Trost, redactor jefe (Pergamon Press, Nueva York, impresión de 1993).

- 50 Los métodos ejemplares para la preparación de las composiciones de la invención se proporcionan más adelante. Estos métodos pretenden ilustrar la naturaleza de tales preparaciones, y no pretenden limitar el alcance de los métodos aplicables.

- En general, las condiciones de reacción tales como la temperatura, el tiempo de reacción, los disolventes, los procedimientos de tratamiento posterior, y similares, serán los habituales en la técnica para la reacción particular a llevar a cabo. El material de referencia citado, junto con el material citado en él, contiene descripciones detalladas de tales condiciones. En general, las temperaturas serán de -100 °C a 200 °C, los disolventes serán apróticos o

próticos, y los tiempos de reacción serán de 10 segundos a 10 días. El tratamiento posterior consiste en general en neutralizar cualquier reactivo que no haya reaccionado, seguido por la partición entre un sistema de capa de agua/capa orgánica (extracción) y separación de la capa que contiene el producto.

- 5 Las reacciones de oxidación y reducción se llevan a cabo en general a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente (alrededor de 20 °C), aunque para las reducciones con hidruros metálicos la temperatura se reduce con frecuencia a 0 °C a -100 °C, los disolventes son en general apróticos para las reducciones, y pueden ser próticos o apróticos para las oxidaciones. Los tiempos de reacción se ajustan para conseguir las conversiones deseadas.

- 10 Las reacciones de condensación se llevan a cabo en general a temperaturas cercanas a la temperatura ambiente, aunque para las condensaciones controladas cinéticamente, no equilibradas también son habituales las temperaturas reducidas (0 °C a -100 °C). Los disolventes pueden ser próticos (habituales en las reacciones equilibradas) o apróticos (habituales en las reacciones controladas cinéticamente).

Las técnicas sintéticas habituales, tales como la eliminación azeotrópica de subproductos de la reacción y el uso de condiciones de reacción anhidras (p.ej., medios con gases inertes) son habituales en la técnica, y se aplicarán cuando sean aplicables.

- 15 Los aspectos generales de estos métodos ejemplares se describen más adelante. Cada uno de los productos de los procedimientos siguientes se separa, se aísla, y/o se purifica opcionalmente antes de su uso en los procedimientos posteriores.

- 20 Los términos "tratado", "tratar", "tratamiento", y similares, significan hacer contactar, mezclar, hacer reaccionar, permitir reaccionar, poner en contacto, y otras expresiones habituales en la técnica para indicar que una o más entidades químicas se tratan de tal manera que se convierten en otra u otras entidades químicas. Esto significa que "tratar el compuesto uno con el compuesto dos" es sinónimo de "permitir que el compuesto uno reaccione con el compuesto dos", "poner en contacto el compuesto uno con el compuesto dos", "hacer reaccionar el compuesto uno con el compuesto dos", y otras expresiones habituales en la técnica de síntesis orgánica para indicar de manera razonable que el compuesto uno se "trató", "hizo reaccionar", "se dejó reaccionar", etc., con el compuesto dos.

- 25 "Tratar" indica la manera razonable y habitual en la que los productos químicos orgánicos se dejan reaccionar. Las concentraciones normales (0,01 M a 10 M, en general 0,1 M a 1 M), temperaturas (-100 °C a 250 °C, en general -78 °C a 150 °C, más en general -78 °C a 100 °C, aún más en general 0 °C a 100 °C), recipientes de reacción (en general de vidrio, plástico, metal), disolventes, presiones, atmósferas (en general aire para las reacciones insensibles al oxígeno y al agua o nitrógeno o argón para las sensibles al oxígeno o al agua), etc., son las conocidas, a menos que se indique de otra manera. El conocimiento de reacciones similares conocidas en la técnica de síntesis orgánica se usa para seleccionar las condiciones y aparatos para el "tratamiento" en un procedimiento dado. En particular, una persona de experiencia habitual en la técnica de síntesis orgánica selecciona las condiciones y los aparatos que se espera de manera razonable que lleven a cabo con éxito las reacciones químicas de los procedimientos descritos basándose en el conocimiento de la técnica.

- 35 La modificación de los esquemas ejemplificados y de los ejemplos conducen a diversos análogos de los materiales ejemplares específicos producidos antes. Las citas anteriores que describen métodos adecuados de síntesis orgánica son aplicables a tales modificaciones.

- 40 En los esquemas ejemplares puede ser ventajoso separar los productos de reacción entre sí y/o de los materiales de partida. Los productos deseados de cada etapa o serie de etapas se separa y/o se purifica (más adelante en la presente memoria se separa) hasta el grado deseado de homogeneidad mediante los métodos habituales conocidos en la técnica. En general, tales separaciones implican la extracción multifase; la cristalización a partir de un disolvente o mezcla de disolventes, destilación, sublimación, o cromatografía. La cromatografía puede implicar cualquier número de métodos que incluyen, por ejemplo, la cromatografía de exclusión por tamaño o de intercambio iónico, cromatografía líquida a alta, media, o baja presión, cromatografía en capa fina o gruesa a pequeña escala y preparativa, así como técnicas de cromatografía en capa fina y rápida a pequeña escala.

- 45 Otra clase de métodos de separación implica el tratamiento de una mezcla con un reactivo seleccionado para unir o hacer separable de otra manera un producto deseado, material de partida sin reaccionar, subproducto de reacción, o similar. Tales reactivos incluyen adsorbentes o absorbentes tales como carbón activado, tamices moleculares, medios de intercambio iónico, o similares. De manera alternativa, los reactivos pueden ser ácidos en el caso de un material básico, bases en el caso de un material ácido, reactivos de unión tales como anticuerpos, proteínas de unión, quelantes selectivos tales como éteres corona, reactivos de extracción de iones líquido/líquido (LIX), o similares.

- 50 La selección de los métodos adecuados de separación depende de la naturaleza de los materiales implicados. Por ejemplo, el punto de fusión, y el peso molecular en la destilación y sublimación, la presencia o ausencia de grupos funcionales polares en la cromatografía, la estabilidad de los materiales en medios ácidos y básicos en la extracción multifase, y similares. Un experto en la técnica aplicará las técnicas que consigan con más probabilidad la

separación deseada.

Los métodos adecuados para producir los compuestos de esta invención se hallan también en el documento WO 2004/005286, en particular en los esquemas 1 - 13 de ese documento.

Se pueden sintetizar compuestos análogos de la misma manera que en los esquemas anteriores variando los materiales de partida, intermedios, disolventes y condiciones, tal como conocerán los expertos en la técnica.

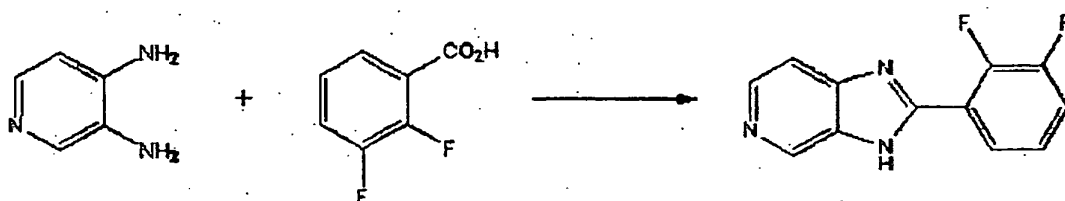
EJEMPLOS

PARTE A

Síntesis de compuestos

EJEMPLO 1

2-(2,3-difluorofenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina

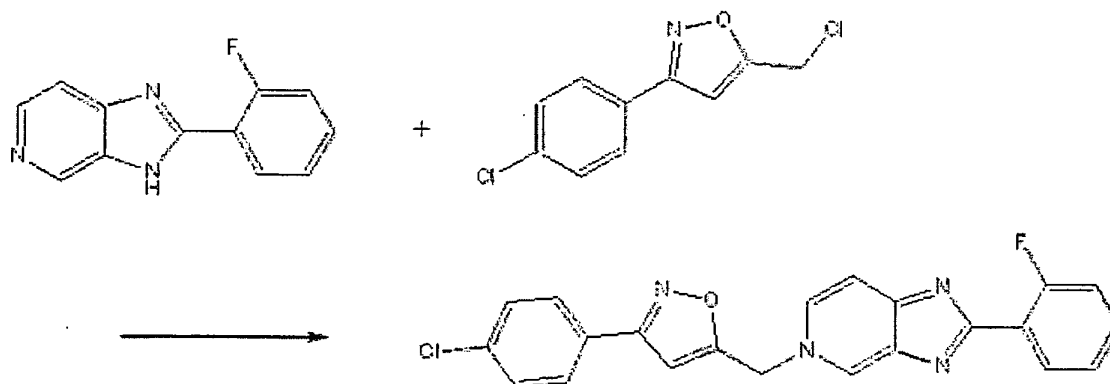


Se disolvió pentóxido de fósforo (24,56 g) en ácido metanosulfónico (165,8 mL) a 50 °C con agitación. A la disolución se le añadió 3,4-diaminopiridina (12,3 g, 0,11 moles) y ácido 2,3-difluorobenzoico (19,4 g, 0,12 moles). La mezcla de reacción se calentó a 190 °C durante 3 horas. La reacción se llevó a cabo tres veces. Las mezclas de reacción se enfriaron a 50 °C y se vertieron en hielo con agitación. En esta etapa, los tres lotes se combinaron. La mezcla de reacción se neutralizó mediante la adición de NaOH con agitación hasta que el pH fue 8. El material sólido precipitó de la disolución se recogió mediante filtración y se secó al aire. El producto final se recrystalizó a partir de etanol/agua dos veces para proporcionar 36 g de 2-(2,3-difluorofenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina. 1H 300 MHz (CD₃OD) σ 7,3-7,42 (m, 1p); 7,43-7,58 (m, 1p); 7,70 (d, 1p); 8,0 (m, 1p); 8,34 (d, 1p); y 8,95 (s, 1p). Datos de LC/MS M/z = 232.

Siguiendo el procedimiento enseñado anteriormente y sustituyendo ácido 2-fluorobenzoico en lugar de ácido 2,3-difluorobenzoico, se puede preparar el compuesto 2-(2-fluorofenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina.

EJEMPLO 2

5-((3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina

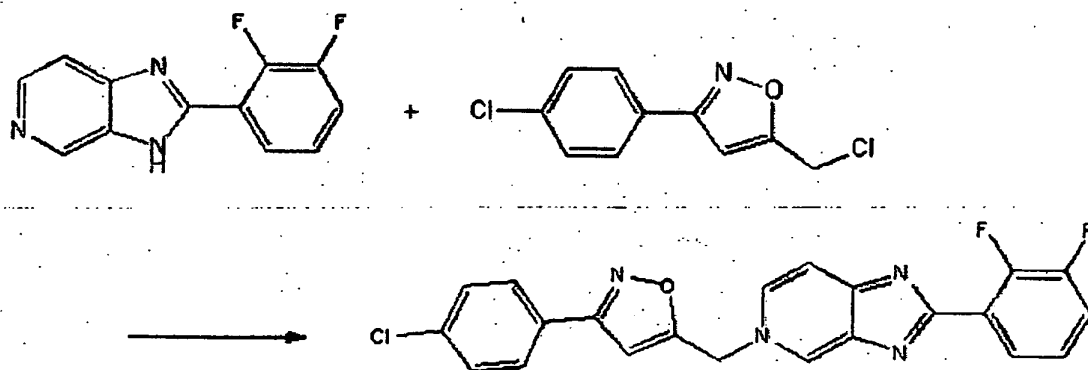


A una suspensión de 2-(2-fluorofenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina (11,0 g, 50,0 moles) en DMF se le añadió una disolución del 10% (p/v) de NaOH acuoso. A esta disolución, se le añadió 5-(3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il)metil-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina (13,68 g, 60,0 mmoles) disuelto en DMF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente y se monitorizó cada media hora mediante LCMS. La reacción se paró a las 4 horas, después de que la LCMS no mostrase ningún progreso entre los puntos de monitorización de 2 horas y 4 horas. El producto de reacción se trituró primero con agua y después con EtoAc (3x). El material se cristalizó disolviendo el material en MeOH con calor, seguido de precipitación con agua. Este procedimiento de cristalización se repitió después, lo que proporciono 5-((3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina (15,385 g, 38 moles) en forma de cristales

blancos con un rendimiento del 74%. ^1H 300 MHz (d_6 -DMSO) sigma 6,02 (s, 2p); 7,13 (s, 1p); 7,26-7,35 (m, 2p); 7,43-7,52 (m, 1p); 7,56 (d, 2p); 7,84 (d, 1); 7,89 (d, 2p); 8,24 (d, 1); 8,28-8,36 (m, 1p); y 9,19 (s, 1p). Datos de LCMS $\text{M/Z} = 405,31$

EJEMPLO 5

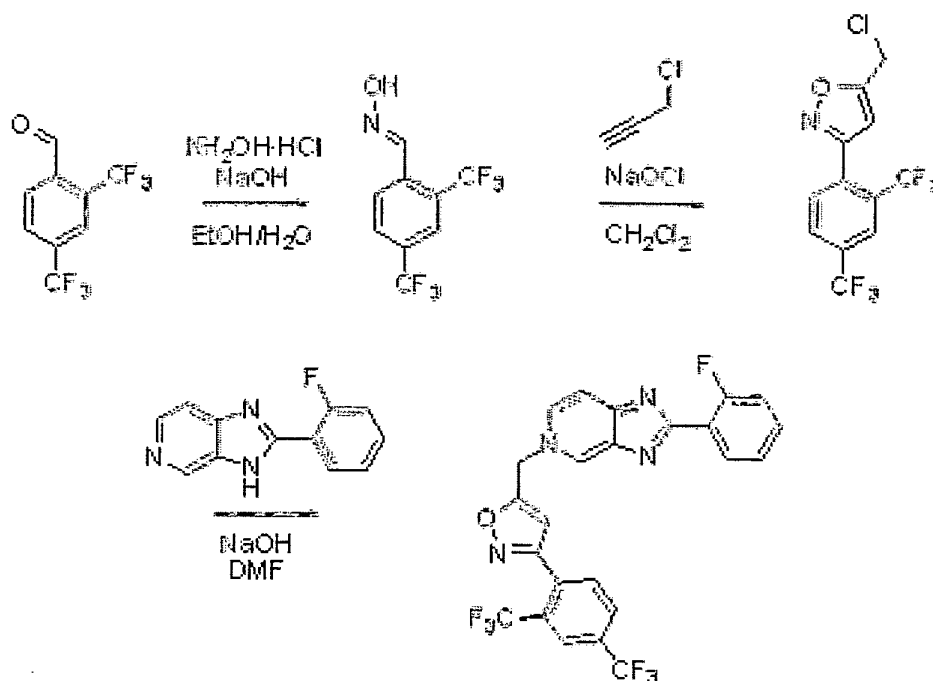
5-((3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2,3-difluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina



A una disolución de azabencimidazol (10 g, 43,3 mmoles) en DMF se le añadió NaOH acuoso del 10% (p/v), seguido de una disolución de 5-(clorometil)-3-(4-clorofenil)-isoxazol (11,8 g, 51,9 mmoles) en DMF. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas, y después se concentró. El material sólido se trató con $\text{EtOAc}/\text{H}_2\text{O}$, y se recogió mediante filtración. El material sólido se trituró después con H_2O y EtOAc , y se secó al aire. El sólido se purificó adicionalmente mediante recristalización a partir de MeOH para obtener 5-((3-(4-clorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2,3-difluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina (8,5 g, 20,1 mmoles) con un rendimiento del 46,6%. ^1H 300 MHz (DMSO-d_6) sigma 6,03 (s, 2p); 7,12 (s, 1p); 7,25-7,35 (m, 1p); 7,44-7,53 (m, 1p); 7,55 (d, 2p); 7,88 (d, 3p); 8,11-8,18 (m, 1p); 8,24-8,29 (dd, 1p); y 9,23 (s, 1p). Datos de LC/MS $\text{M/z} = 423,34, 425,22$

EJEMPLO 6

5-((3-(2,4-trifluorometilfenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina



2,4-(bis-trifluorometil)benzaloxima

Al aldehído aromático (0,021 mol) suspendido en EtOH/H₂O (1:2, 230 mL, 0,09 M) se le añadió hidrocloreto de hidroxilamina (1,58 g, 0,023 mol) y se enfrió a 4 °C. A esta disolución se le añadió NaOH acuoso del 50% p/p (4,13 mL, 0,052 mol) gota a gota. Después de agitar durante 1,5 h a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se acidificó con HCl acuoso 2 N y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 × 50 mL). La disolución orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado y se secó sobre sulfato sódico. La eliminación del disolvente proporcionó la oxima bruta (5,3 g, cuant.) que se usó directamente en la siguiente etapa.

2,4-(bis-trifluorometil)fenil clorometil isoxazol

Se suspendió 2,4-(bis-trifluorometil)benzaloxima (9,75 g, 0,038 mol) en CH₂Cl₂ (45 mL, 0,85 M) y se enfrió a 4 °C. Se añadió cloruro de propargilo (2,72 mL, 0,038 mol) a la disolución de reacción seguido de la adición gota a gota de NaOCl (10-13 % de cloro libre, 37,6 mL, 0,061 mol). La mezcla de reacción se agitó a 4 °C durante 15 min y después se calentó a reflujo durante 3 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la reacción se repartió entre CH₂Cl₂ y H₂O. La capa orgánica se separó, se lavó con NaCl acuoso saturado, y se secó sobre sulfato sódico. Tras la extracción del disolvente, el producto bruto clorometilisoxazol se purificó mediante cromatografía en columna de sílice (10% de CH₂Cl₂/hexanos) (6,5 g, 0,020 mol).

5-((3-(2, 4-trifluorometilfenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina

A imidazopiridina (14,28 g, 0,067 mol) suspendida en DMF (40 mL) se le añadió NaOH acuoso del 10% p/p (32,2 mL, 0,080 mol) gota a gota, seguido de la adición del clorometil isoxazol de la etapa previa (26,3 g, 0,080 mol) en DMF (16 mL). Después de agitar durante 12 h a temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron para proporcionar el producto bruto en forma de un sólido marrón. El sólido bruto se trituroó con H₂O (7×) y se cristalizó (2×) a partir de MeOH/H₂O (2:1) para proporcionar el producto del título puro.

RMN; 300 MHz D₆MSO

Desplazamiento químico, multiplicidad, n° de protones:

6,1, s, 2

7,0, s, 1

7,3, t, 2

7,4-7,5, m, 1

7,8-7,9, d, 1

7,9-8,0, d, 1

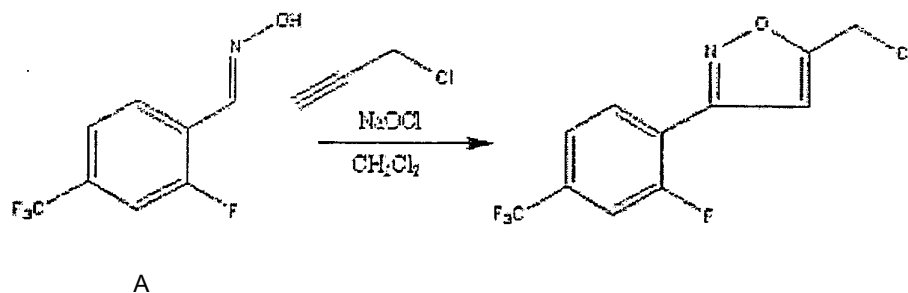
8,2-8,4, m, 4

9,2, s, 1

EJEMPLO 7

5-((3-(4-trifluorometil-2-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina

Síntesis de isoxazol

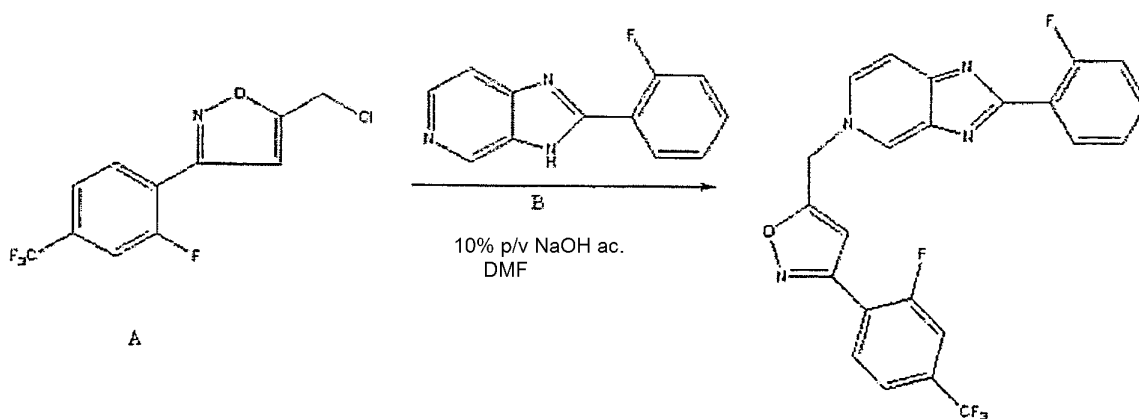


Compuesto	PM	Cantidad	Moles	Equivalentes
-----------	----	----------	-------	--------------

Compuesto	PM	Cantidad	Moles	Equivalentes
A	207,13	9,3 g	0,044	1
NaOCl (10 % de Cl libre)	74,44	43,0 mL	0,44	1,6
Cloruro de propargilo	74,51	3,14 mL	0,044	1
Diclorometano		48,7 mL		

"A" se suspendió en diclorometano a 0 °C y se añadió NaOCl a 0 °C con agitación enérgica, seguido de cloruro de propargilo. La reacción se agitó a 0 °C durante 5 min y después se calentó a reflujo durante 2 h. Después se enfrió a temperatura ambiente, se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a vacío para obtener un sólido amarillo. Se purificó en CombiFlash en una columna de gel de sílice, mediante elución con un 3-50% de acetato de etilo-hexanos. Se obtuvieron 4,5 g de un sólido blanco brillante.

5



Compuesto	PM	Cantidad	mMoles	Equivalentes
A	279,62	2,0 g	7,6	1,2
B	213,21	1,373 g	6,4	1
10% p/v de NaOH ac.		2,26 mL		
DMF		13,73 mL + 6,56 mL		

10 "B" se suspendió en 13,73 mL de DMF y se le añadió NaOH ac. del 10% (p/v). "A" se disolvió en 6,56 mL de DMF y esta disolución se añadió a la anterior con agitación. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. La DMF se eliminó mediante concentración a vacío y el sólido obtenido se trituro con agua dos veces y después con acetato de etilo. El sólido así obtenido se recrystalizó a partir de metanol-agua para obtener 533 mg del compuesto deseado.

15 Datos de RMN (DMSO):

Desplazamiento químico, multiplicidad, nº de protones:

6,14, s, 2

7,18, d, 1

7,28-7,36, m, 2

20 7,44-7,54, m, 1

7,70-7,76, d, 1

7,86-7,90, d, 1

7,90-7,96, d, 1

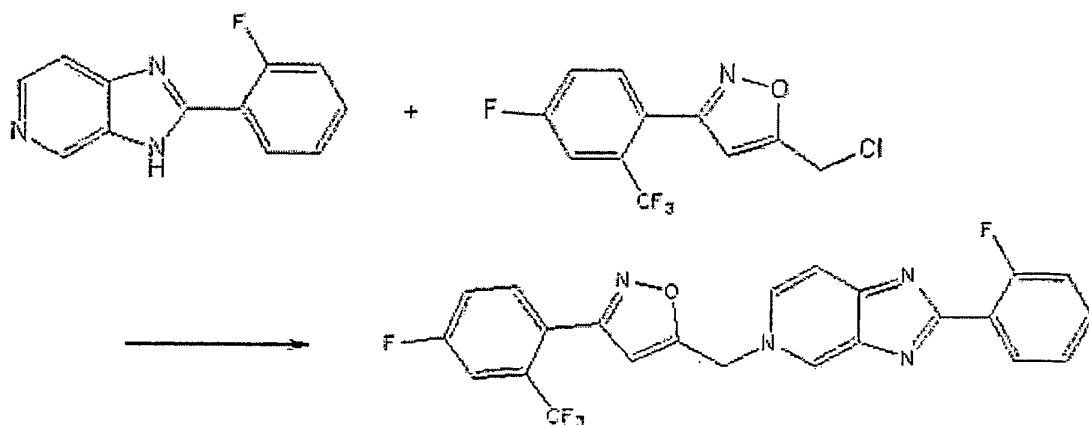
8,08-8,16, t, 1

5 8,28-8,36, t, 2

9,24, s, 1

EJEMPLO 8A

5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina



- 10 A una disolución de azabencimidazol (12,7 g, 59,6 mmoles) en DMF (120 mL) se le añadió NaOH acuoso del 10% (p/v) (30,51 mL, 76,6 mmoles), seguido de una disolución de 5-(clorometil)-3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)-isoxazol (21,3 g, 76,6 mmoles) en DMF (60 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, y después se concentró. El material se precipitó a partir de MeOH/H₂O, y se recogió mediante filtración. El material sólido se recrystalizó a partir de EtoAc/hexanos para obtener 5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina con un rendimiento del 69%.
- 15

Datos de RMN

300 MHz D₆MSO

Desplazamiento químico, multiplicidad, n° de protones:

6,15, s, 2

20 6,91, s, 1

7,3, t, 2

7,42-7,52, m, 1

7,65-7,9, m, 2

7,84-7,9, m, 2

25 8,22-8,45, m, 2

9,19, s, 1

EJEMPLO 8B

Sales de 5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina

Sal de ácido metanosulfónico

- 30 Se formó una suspensión espesa de la base libre de 5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-

fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina (200 mg) en 2,0 mL de acetona. Se añadió ácido metanosulfónico (42,6 mg) y la mezcla se calentó a ~60 °C. Se añadió agua en pequeños incrementos hasta que se formó una disolución (fueron necesarios 110 µL). La disolución se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La suspensión espesa se enfrió en un baño de hielo antes de filtrarla y se lavó con acetona. El sólido obtenido se secó a 40 °C para proporcionar 149 mg de la sal deseada. Endoterma de DSC a 213,1 °C: La RMN fue coherente con la estructura deseada.

Sal de HCl

Se formó una suspensión espesa de la base libre de 5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina (200 mg) en 2,0 mL de acetona. Se añadió ácido clorhídrico concentrado (46 mg) y la mezcla se calentó a ~60 °C. Se añadió agua a la suspensión espesa en pequeños incrementos hasta que se formó una disolución (fueron necesarios 100 µL). La disolución se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La suspensión espesa se enfrió en un baño de hielo antes de filtrarla y se lavó con acetona. El sólido obtenido se secó a 40 °C para proporcionar 80 mg de la sal deseada. Endoterma de DSC a 241,5 °C. La RMN fue coherente con la estructura deseada.

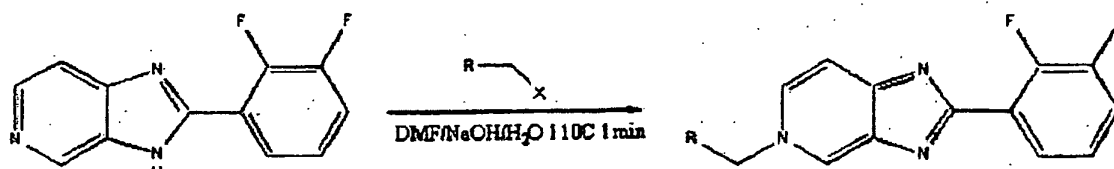
EJEMPLO 8B

Formulación de sales de 5-((3-(2-trifluorometil-4-fluorofenil)isoxazol-5-il)metil)-2-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c]piridina

La sal del Ejemplo 7B se mezcló 1:1 en peso en almidón pregelatinizado seco. Se cargaron 100 mg de la mezcla en una cápsula de gel duro.

Los compuestos adicionales de esta invención se produjeron mediante los métodos de los procedimientos A, y D.

Procedimiento A; Alquilación



Para los compuestos preparados en un formato en serie, se usaron 100 µm del esqueleto (en este caso 2-(2,3-Difluoro-fenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina) para cada reacción. La cantidad total de 2-(2,3-Difluoro-fenil)-3H-imidazo[4,5-c]piridina se disolvió en suficiente DMF para proporcionar 500 µl/reacción. A cada disolución se le añadieron 60 µL de 10% (p/v) de NaOH/H₂O. Los agentes alquilantes se disolvieron en DMF a una concentración de 480 µmoles/mL, y se añadieron 250 µL de estas disoluciones a la reacción respectiva. Cada reacción se calentó después a 110 °C durante 1 min mediante el uso de irradiación de microondas. Después de enfriar, las reacciones se filtraron a través de un filtro de 0,45 µm. Cada compuesto se purificó después mediante fraccionamiento basado en la masa en una columna de fase inversa de C-18 con el uso de 0,1% de TFA/H₂O y 0,1% de TFA/Acetonitrilo como disolventes de elución. Cada compuesto se identificó mediante su espectro de masas y se determinó la pureza mediante la absorbancia UV a 254 nm. Las fracciones de HPLC se concentraron mediante evaporación centrífuga y se pesaron para determinar la cantidad recogida.

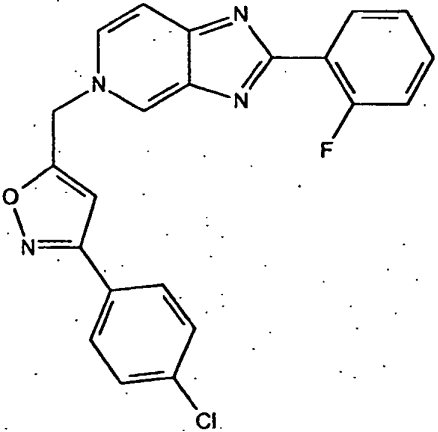
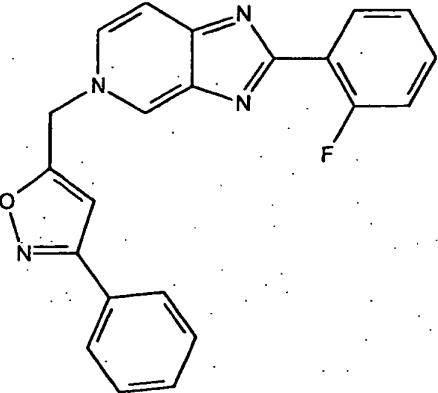
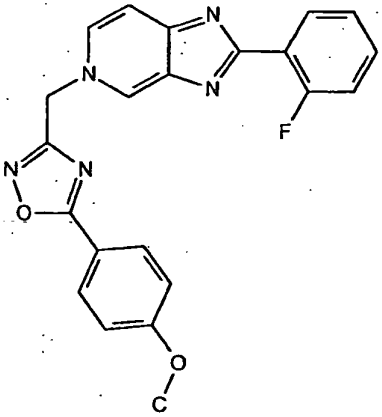
Procedimiento D

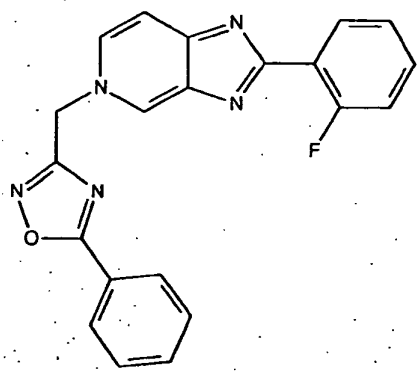
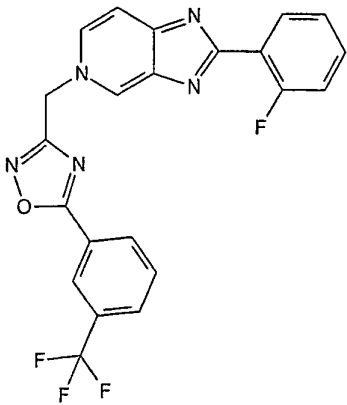
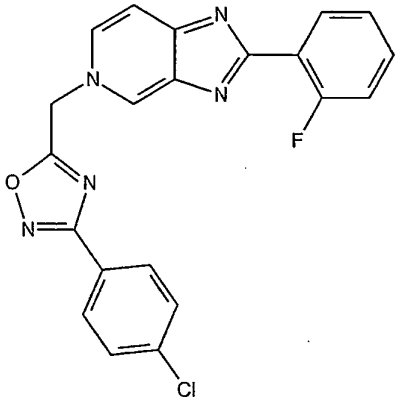
Procedimiento general de alquilación

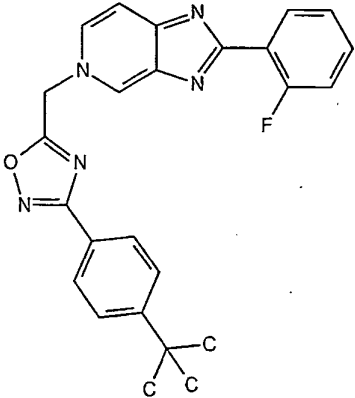
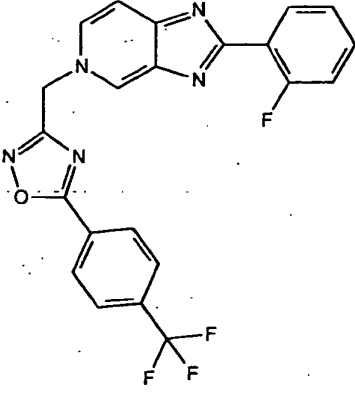
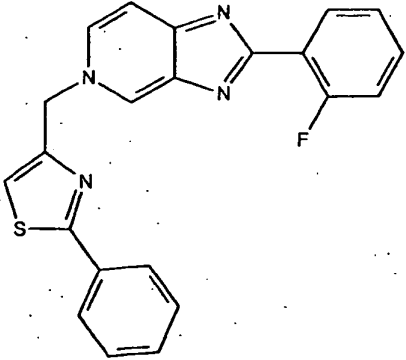
A imidazopiridina suspendida en DMF se le añadió NaOH acuoso del 10% p/p (1,2 equiv.) gota a gota, seguido de la adición de clorometil isoxazol (1,2 equiv.) en DMF. Después de agitar durante 12 h a temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron para proporcionar el producto bruto en forma de un sólido marrón. El sólido bruto se trituró con H₂O y se cristalizó a partir de MeOH/H₂O (2:1) para proporcionar el producto final puro.

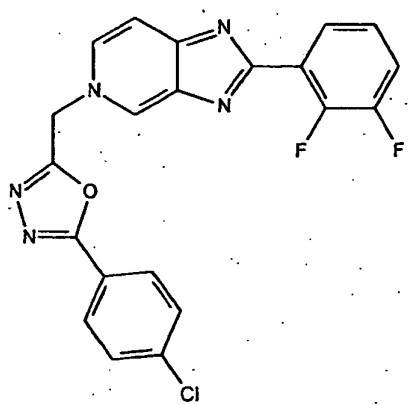
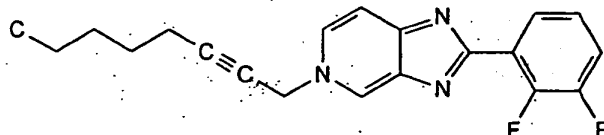
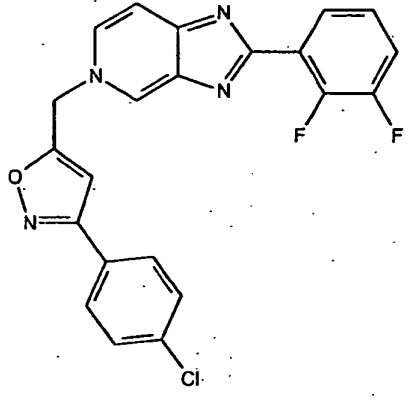
Los compuestos producidos según estos procedimientos y ejemplos, y algunas de sus propiedades, se describen en la Tabla siguiente. El sustituyente denominado "C" es metilo.

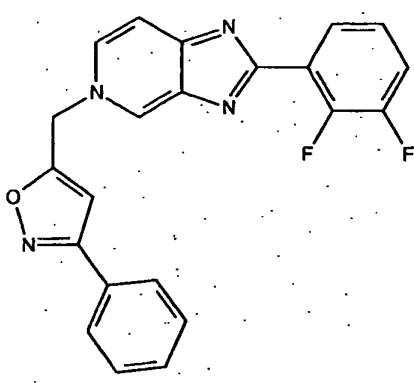
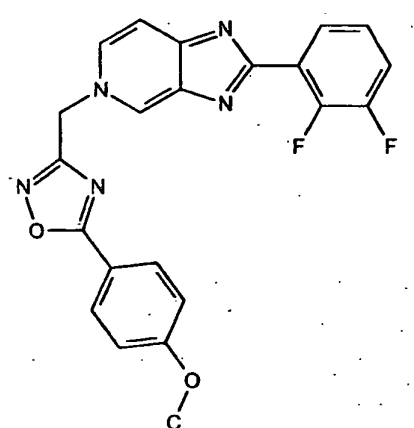
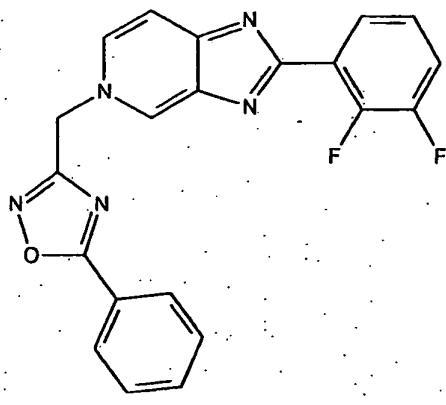
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
-------------	--------	----	---------	--------

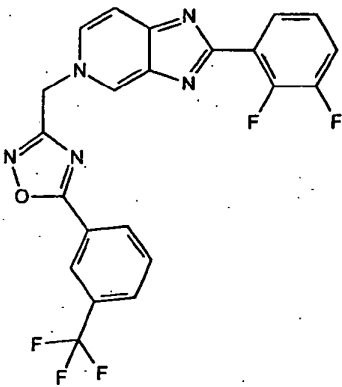
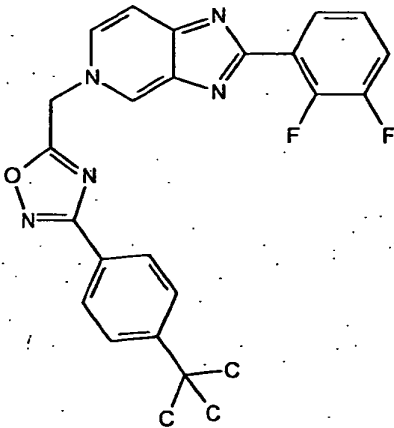
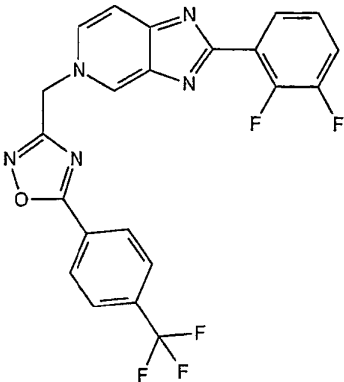
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 17 	93	404,834	405,834	A
Ejemplo 18 	90	370,389	371,389	A
Ejemplo 25 	90	401,404	402,404	A

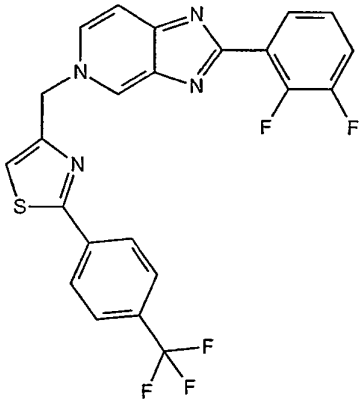
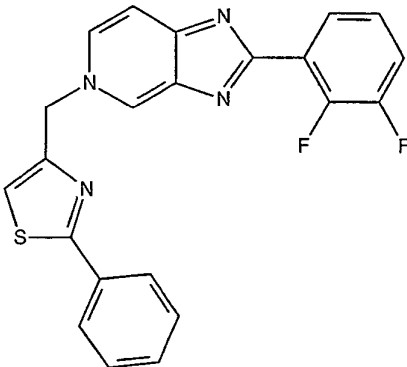
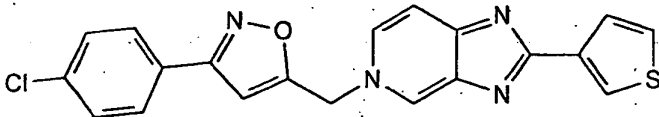
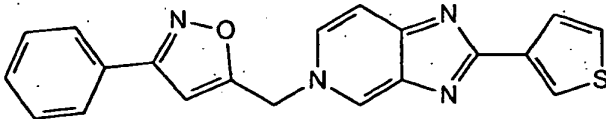
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 26 	95	371,377	372,377	A
Ejemplo 27 	95	439,375	440,375	A
Ejemplo 28 	90	405,822	406,822	A

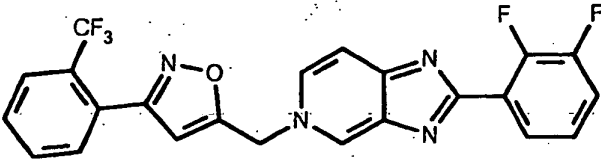
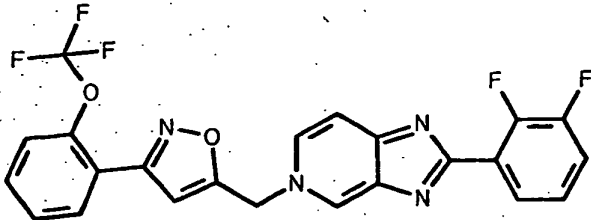
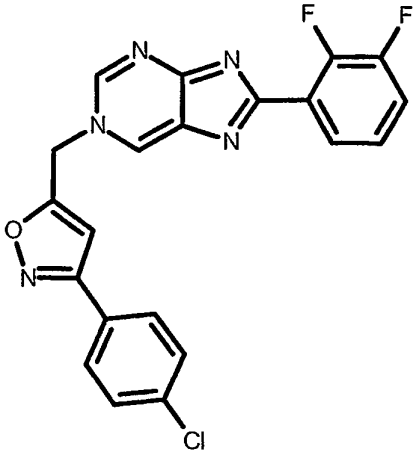
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 29 	90	427,485	428,485	A
Ejemplo 31 	95	439,375	440,375	A
Ejemplo 32 	90	386,454	387,454	A

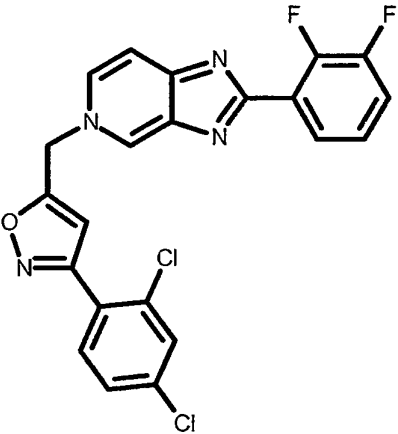
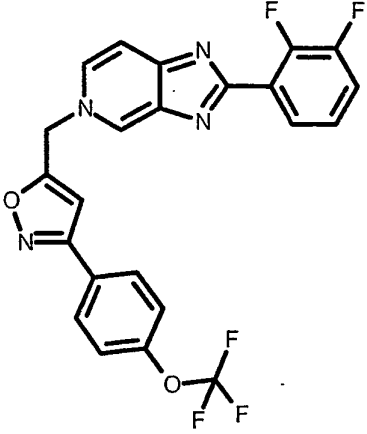
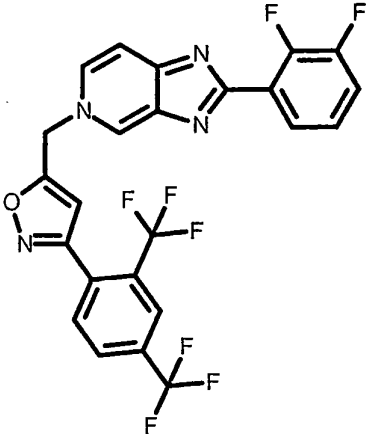
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 40 	92	423,812	424,812	A
Ejemplo 41 	98	339,391	340,391	A
Ejemplo 43 	95	422,825	423,825	A

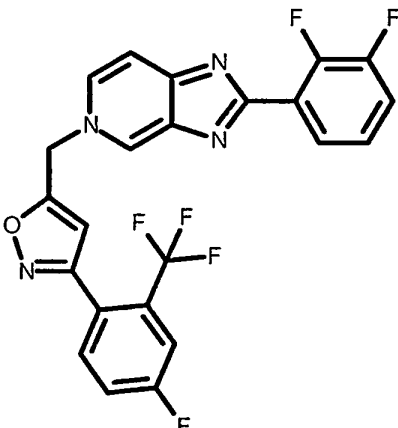
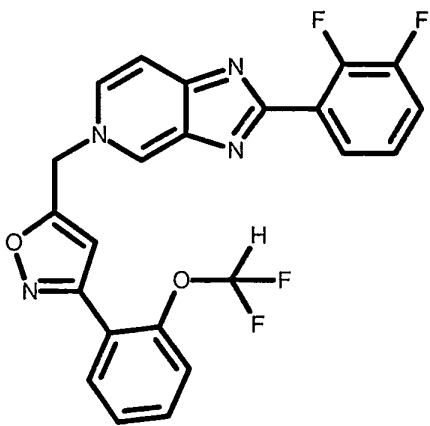
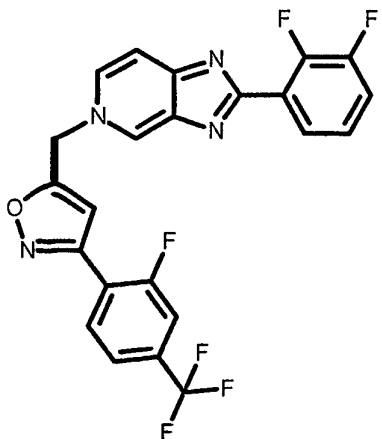
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 44  <chem>c1ccc(cc1)-c2nc3cc(ccn3C4=CC=CC=C4O4)c5cc(F)c(F)cc5</chem>	93	388,380	389,380	A
Ejemplo 46  <chem>COc1ccc(cc1)-c2nc3cc(ccn3C4=CC=CC=C4O4)c5cc(F)c(F)cc5</chem>	97	419,394	420,394	A
Ejemplo 47  <chem>c1ccc(cc1)-c2nc3cc(ccn3C4=CC=CC=C4O4)c5cc(F)c(F)cc5</chem>	94	389,367	390,367	A

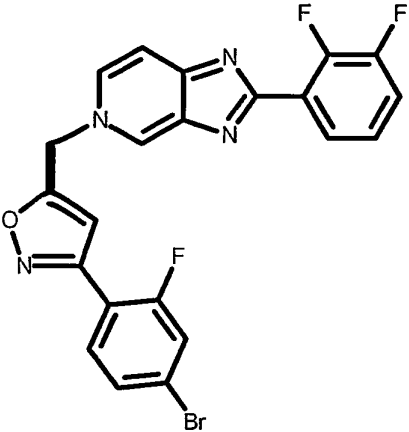
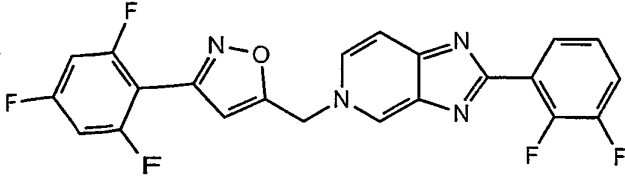
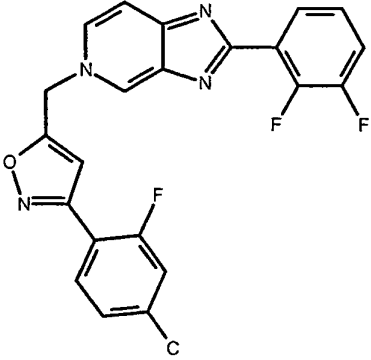
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 48 	92	457,366	458,366	A
Ejemplo 50 	92	445,476	446,476	A
Ejemplo 51 	95	457,366	458,366	A

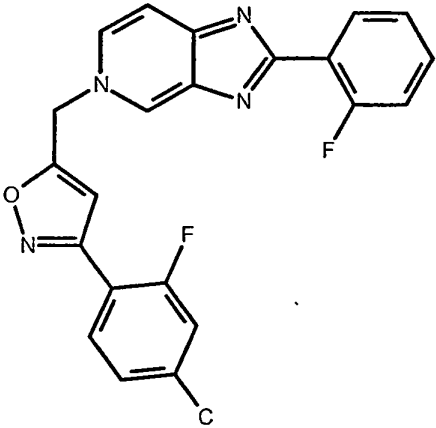
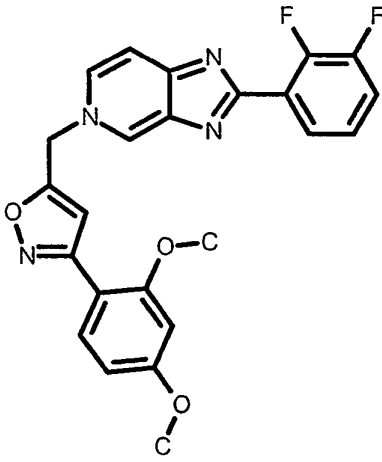
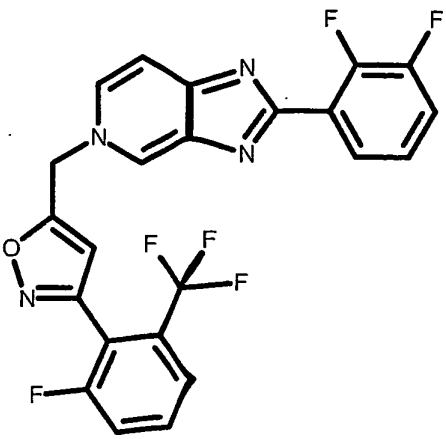
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 52 	95	472,443	473,443	A
Ejemplo 53 	95	404,444	405,444	A
Ejemplo 130 	90	392,870	393,870	A
Ejemplo 131 	90	358,425	359,425	A

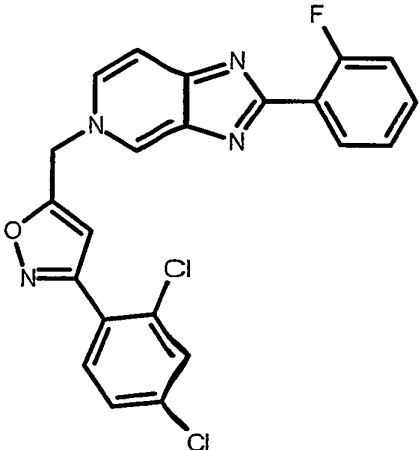
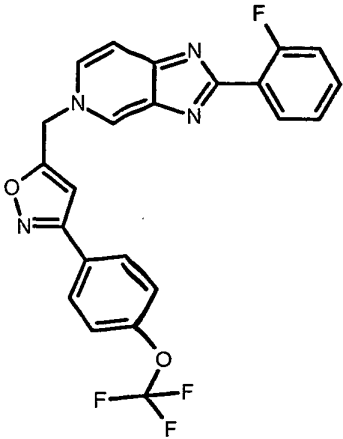
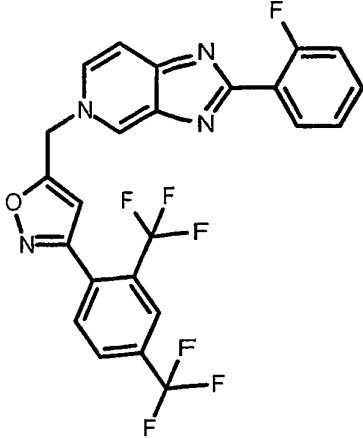
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 136 	0	456,378	457,378	A
Ejemplo 137 	95	472,378	473,378	A
Ejemplo 138 	95	423,812	424,812	A

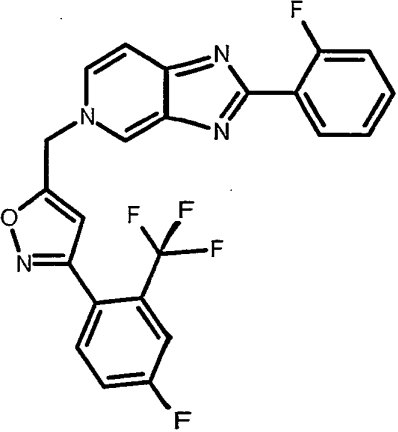
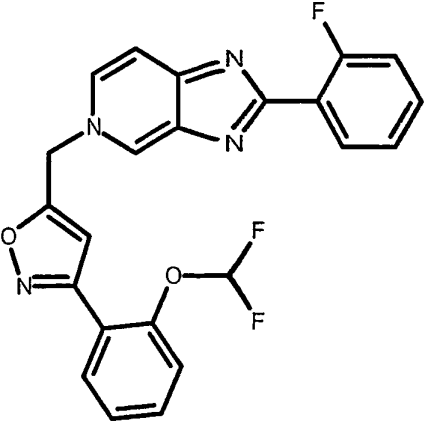
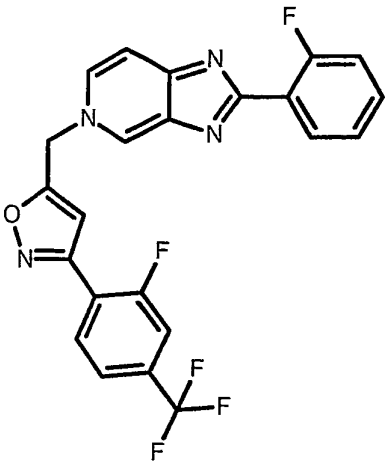
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 139 	99	457,270	458,270	D
Ejemplo 140 	98	472,378	473,378	D
Ejemplo 141 	98	524,377	525,377	D

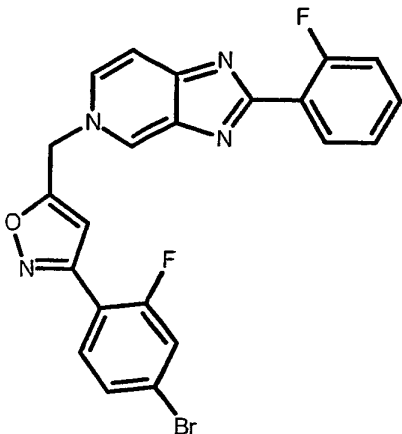
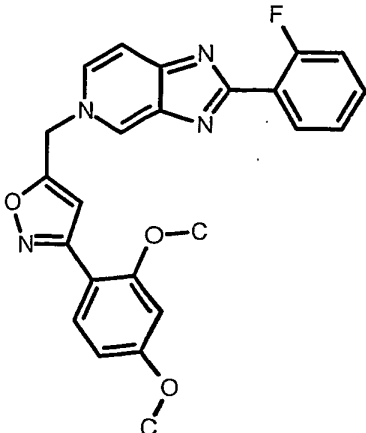
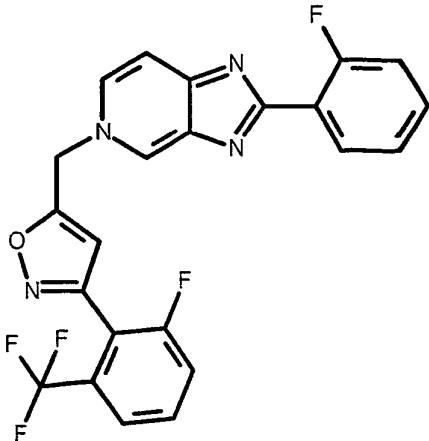
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 142 	0	474,369	475,369	D
Ejemplo 143 	99	454,387	455,387	D
Ejemplo 144 	98	474,369	475,369	D

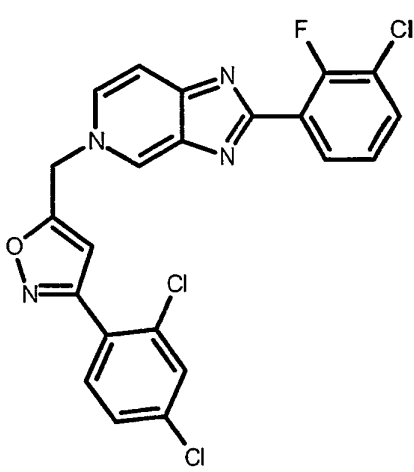
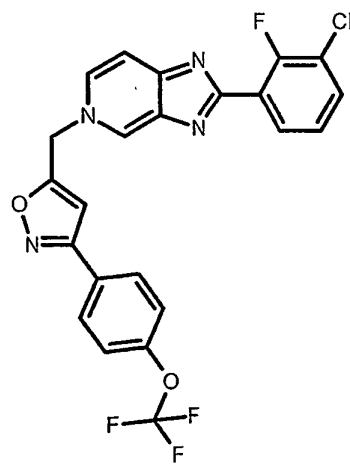
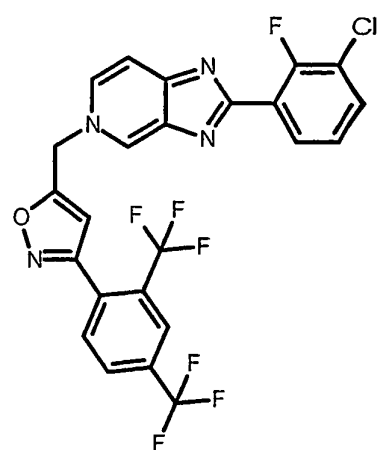
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 145 	98	485,266	486,266	D
Ejemplo 146 	95	442,351	443,351	D
Ejemplo 147 	90	420,397	421,397	D

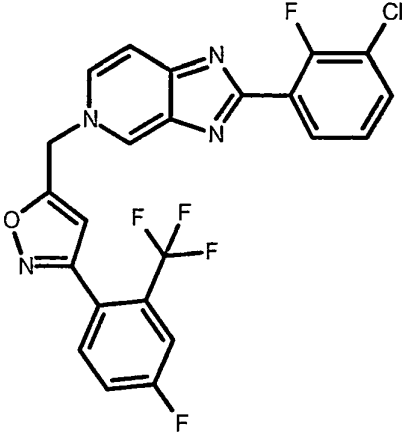
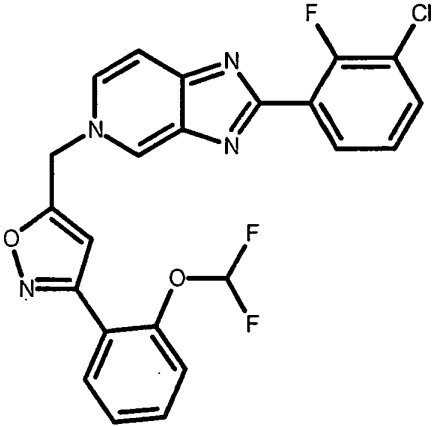
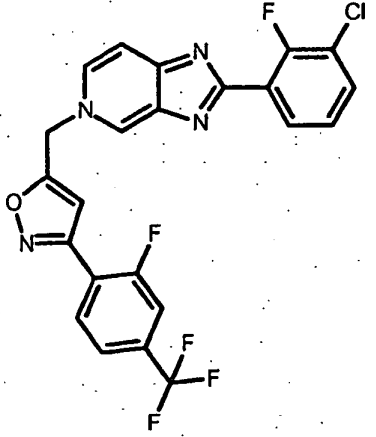
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 148 	90	402,407	403,407	D
Ejemplo 149 	98	448,433	449,433	D
Ejemplo 150 	98	474,369	475,369	D

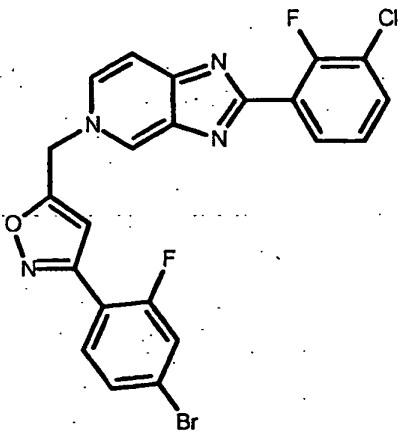
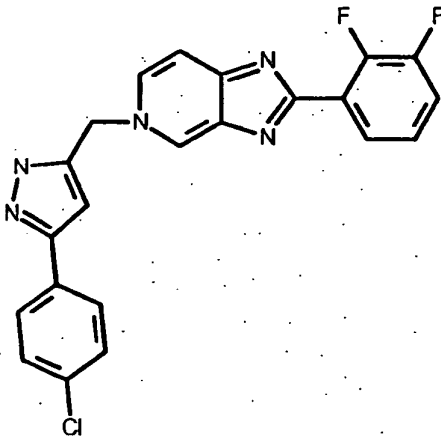
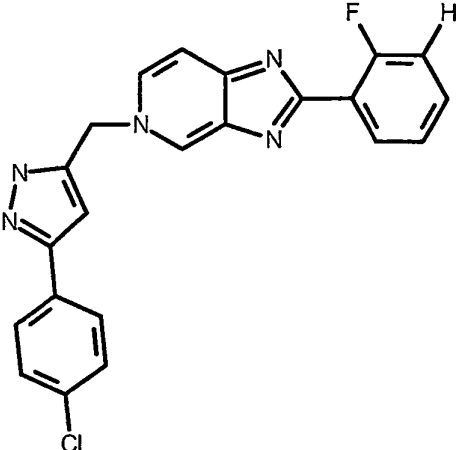
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 151 	96	439,280	440,280	D
Ejemplo 152 	98	454,387	455,387	D
Ejemplo 153 	98	506,386	507,386	D

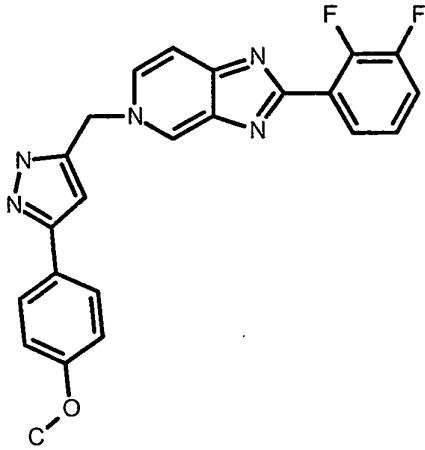
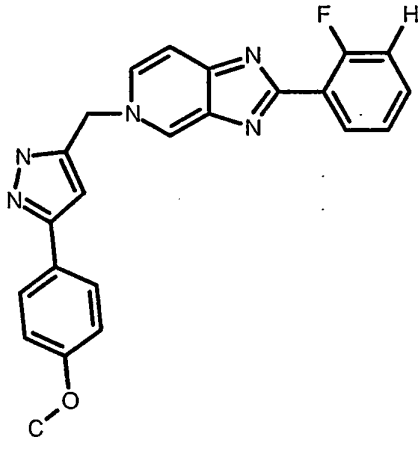
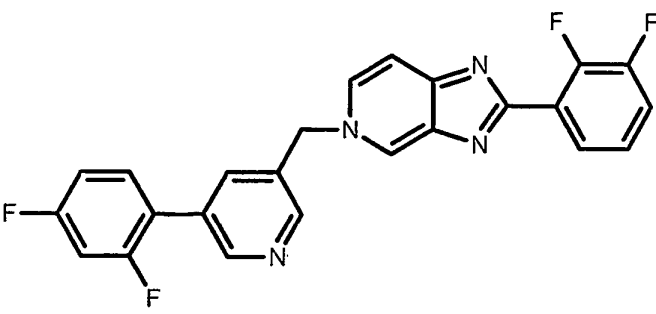
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 154 	98	456,378	457,378	D
Ejemplo 155 	98	436,397	437,397	D
Ejemplo 156 	98	456,378	457,378	D

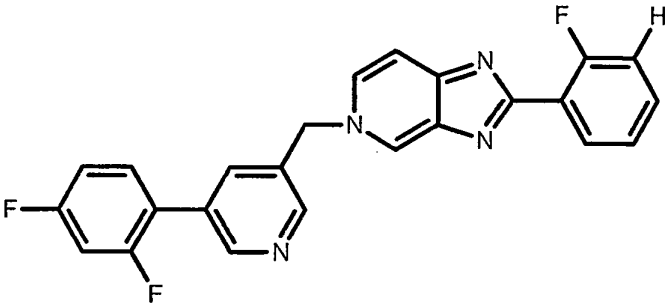
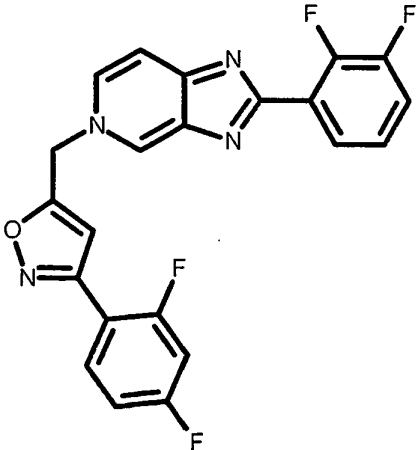
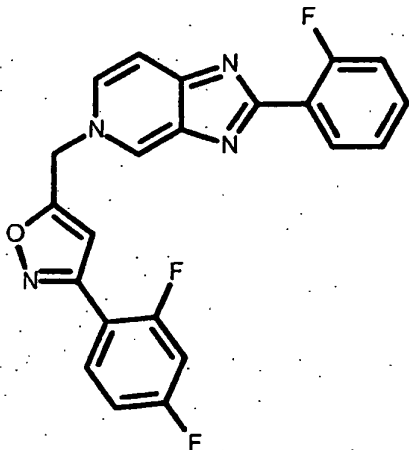
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 157 	98	467,276	468,276	D
Ejemplo 158 	98	430,442	431,442	D
Ejemplo 159 	98	456,378	457,378	D

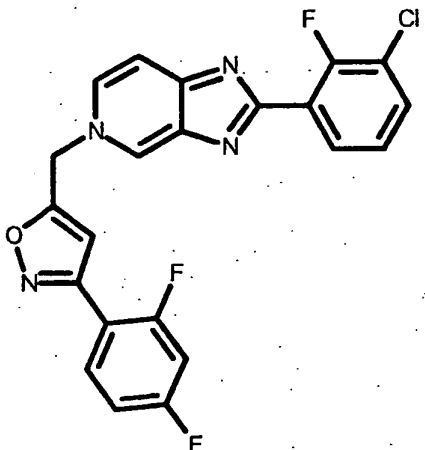
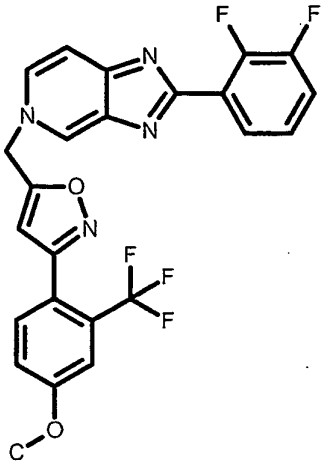
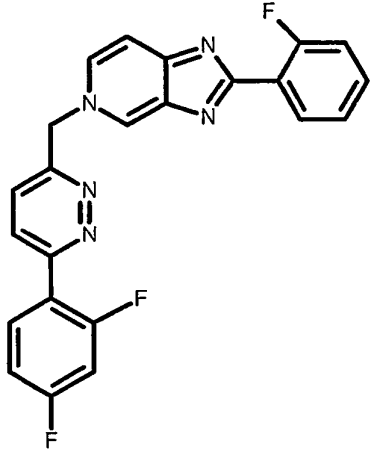
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 160 	85	473,725	474,725	D
Ejemplo 161 	98	488,832	489,832	D
Ejemplo 162 	98	540,831	541,831	D

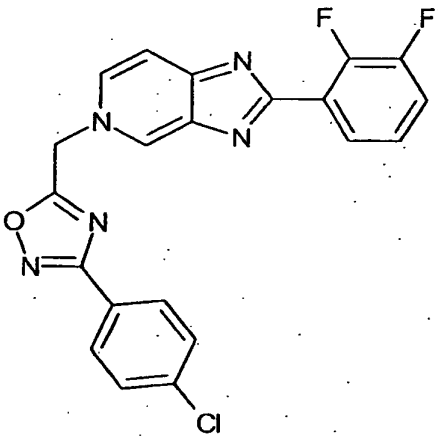
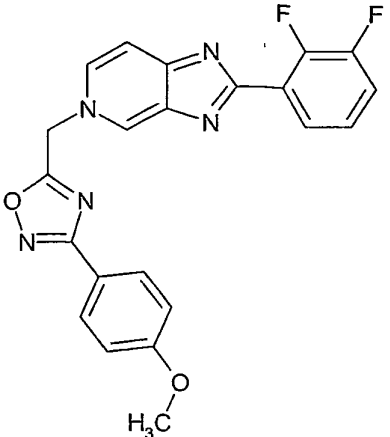
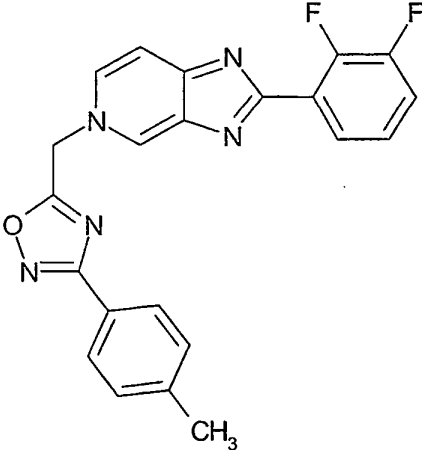
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 163 	98	490,823	491,823	D
Ejemplo 164 	98	470,842	471,842	D
Ejemplo 165 	98	490,823	491,823	D

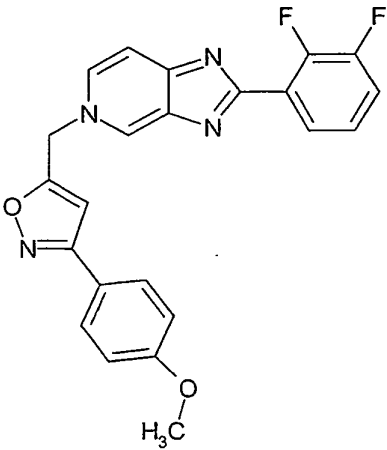
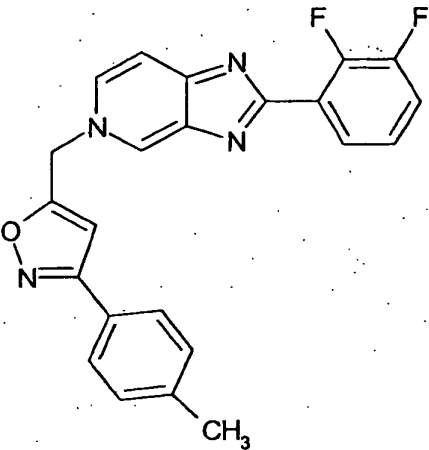
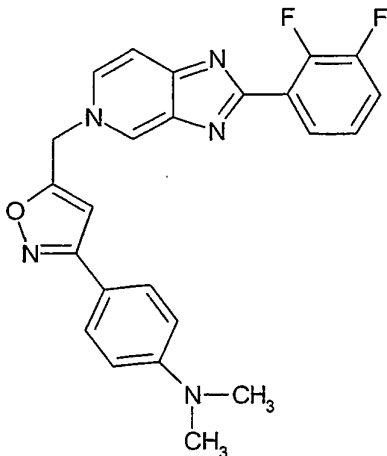
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 166 	98	501,721	502,721	D
Ejemplo 215 	95	421,840	422,840	A
Ejemplo 216 	95	403,850	404,850	A

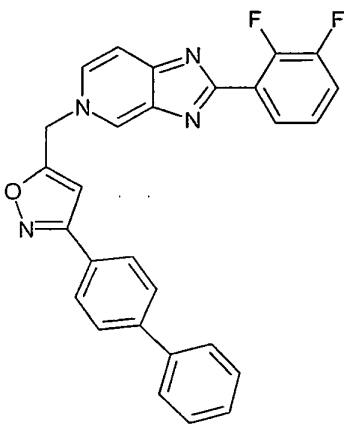
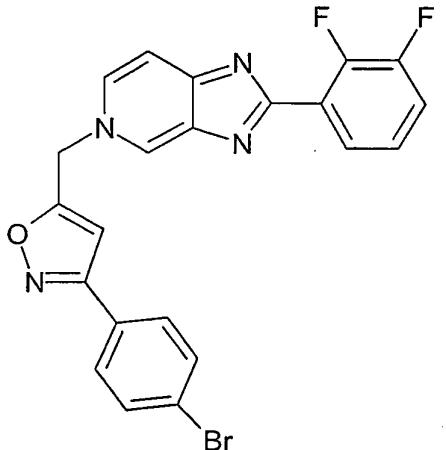
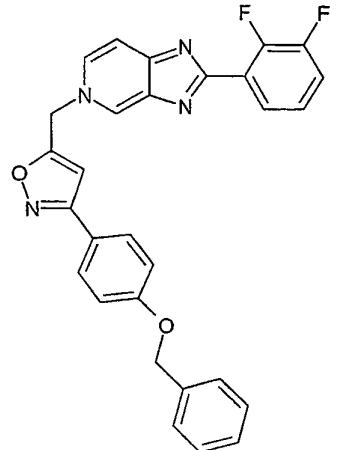
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 217  <chem>COc1ccc(cc1-c2nn(CCN3C=CC=CC3=Nc4cc(F)c(F)cc4)c5ccncc5)n2</chem>	95	417,422	418,422	A
Ejemplo 218  <chem>COc1ccc(cc1-c2nn(CCN3C=CC=CC3=Nc4cc(F)cc4)c5ccncc5)n2</chem>	95	399,431	400,431	A
Ejemplo 219  <chem>Fc1cc(F)ccc1-c2cc(CCN3C=CC=CC3=Nc4cc(F)c(F)cc4)ccn2</chem>	95	434,400	435,400	A

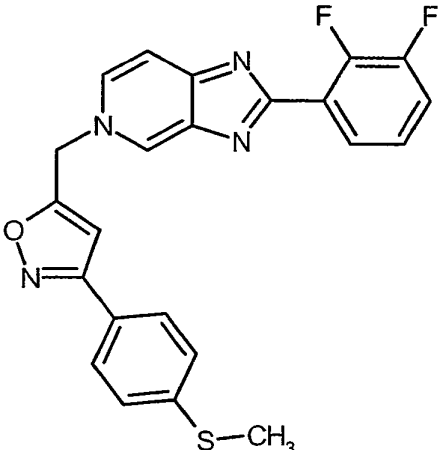
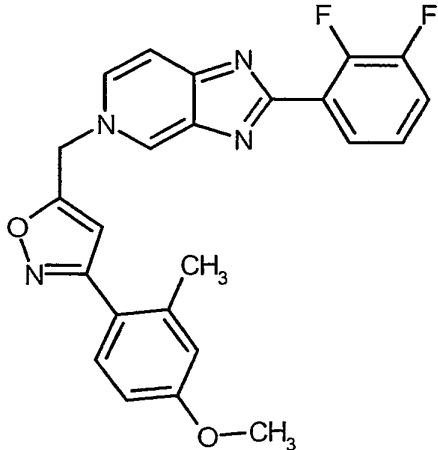
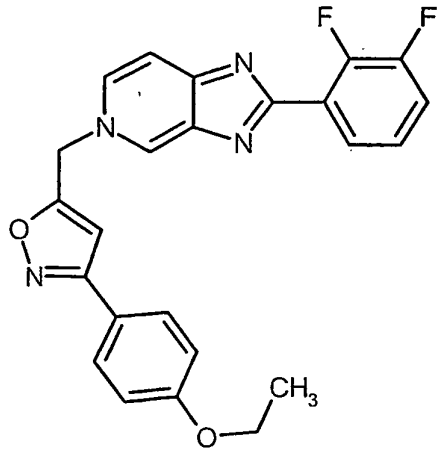
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 220 	95	416,409	417,409	A
Ejemplo 221 	98	424,361	425,361	D
Ejemplo 222 	85	406,370	407,370	D

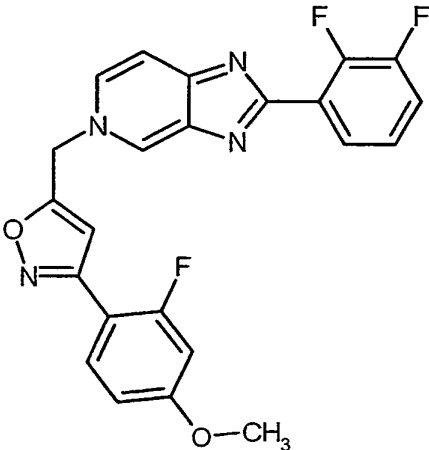
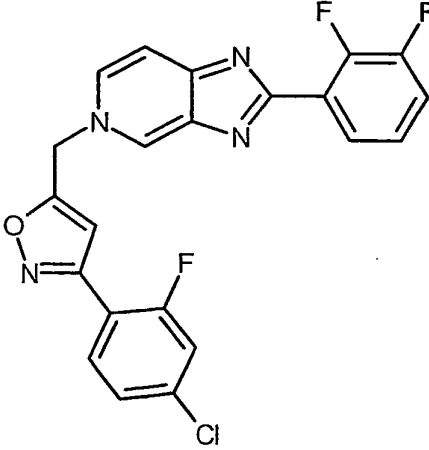
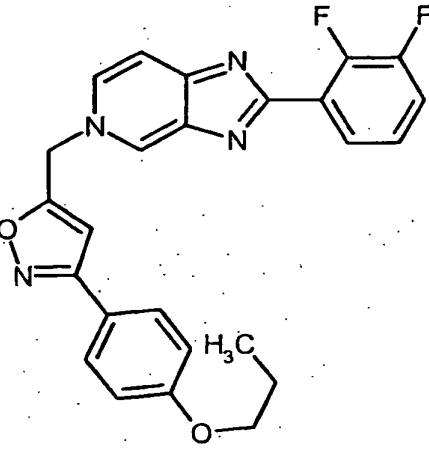
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 223 	98	440,815	441,815	D
Ejemplo 316 	95	486,405	487,405	D
Ejemplo 317 	90	417,397	418,397	A

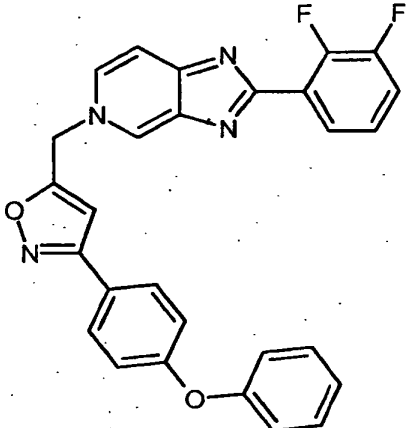
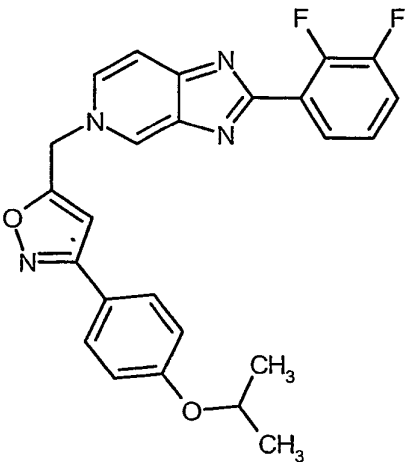
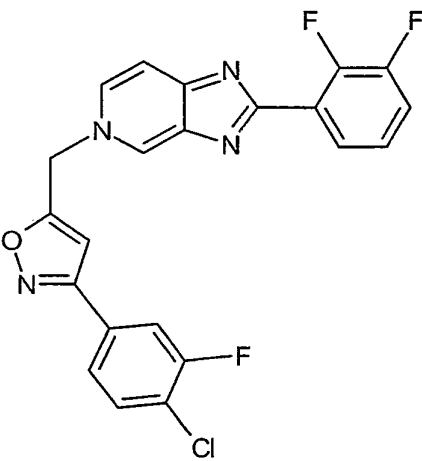
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 339 	90	423,81		
Ejemplo 340 	90	419,39		
Ejemplo 341 	90	403,39		

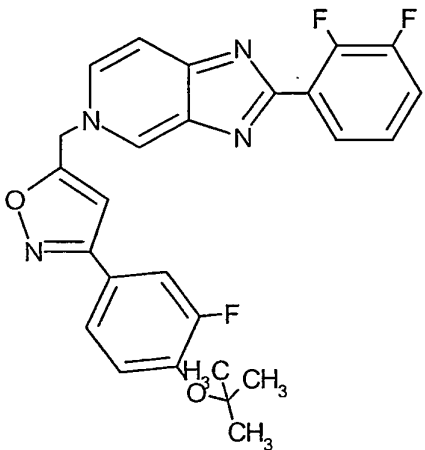
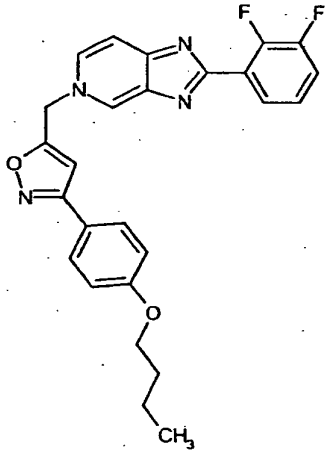
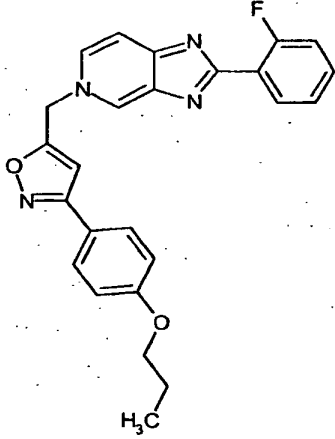
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 342  <chem>COc1ccc(cc1)-c2nc3cc(Cn4ccc5c3nc(C6=CC=C(C=C6)F(F)=C6)cc5)cc4</chem>	90	418,41		D
Ejemplo 343  <chem>Cc1ccc(cc1)-c2nc3cc(Cn4ccc5c3nc(C6=CC=C(C=C6)F(F)=C6)cc5)cc4</chem>	90	402,41		D
Ejemplo 346  <chem>CN(C)c1ccc(cc1)-c2nc3cc(Cn4ccc5c3nc(C6=CC=C(C=C6)F(F)=C6)cc5)cc4</chem>	90	431,45		D

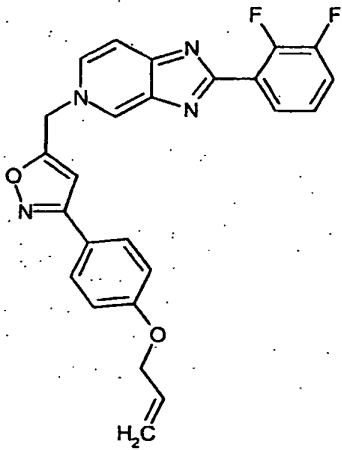
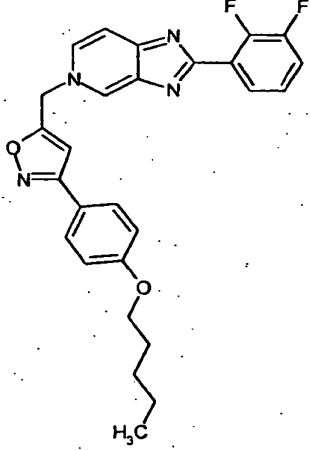
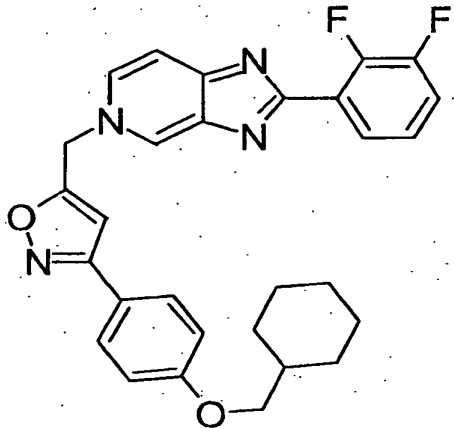
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 347  <chem>Fc1cc(F)ccc1-c1nc2ccn(CC3=CC=C(C=C3)-c4ccc(cc4)-c5ccccc5)c2cc1</chem>	90	464,48		D
Ejemplo 348  <chem>Fc1cc(F)ccc1-c1nc2ccn(CC3=CC=C(C=C3)-c4ccc(Br)cc4)-c2cc1</chem>	90	467,28		D
Ejemplo 349  <chem>Fc1cc(F)ccc1-c1nc2ccn(CC3=CC=C(C=C3)-c4ccc(OCC5=CC=CC=C5)cc4)-c2cc1</chem>	90	494,51		D

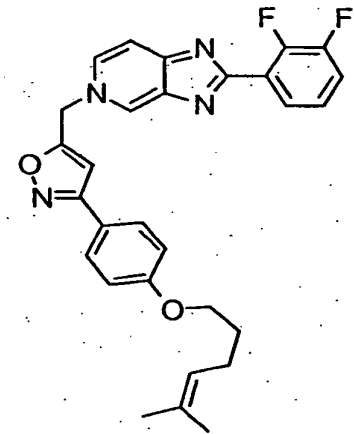
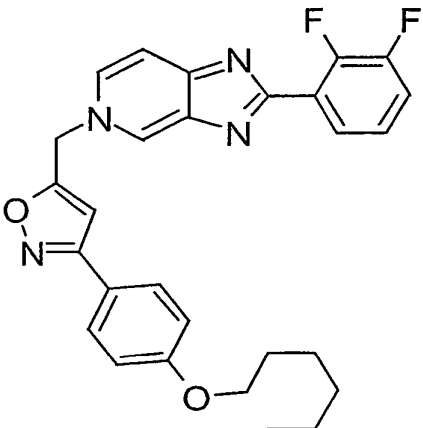
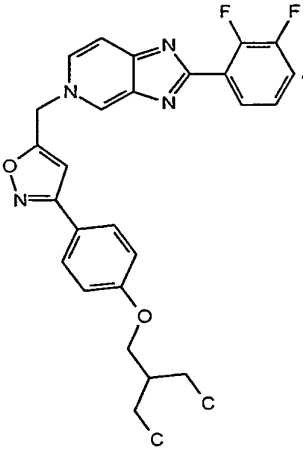
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 350  <chem>CSc1ccc(cc1)-c2nc(Cc3cc4cc5c(c3)nn(Cc6cc7cc8c(c6)nn(Cc9cc(F)c(F)cc9)cc4)cc5)cc8</chem>	90	434,47		D
Ejemplo 351  <chem>COc1cc(C)cc(cc1)-c2nc(Cc3cc4cc5c(c3)nn(Cc6cc7cc8c(c6)nn(Cc9cc(F)c(F)cc9)cc4)cc5)cc8</chem>	90	432,43		D
Ejemplo 352  <chem>CCOc1ccc(cc1)-c2nc(Cc3cc4cc5c(c3)nn(Cc6cc7cc8c(c6)nn(Cc9cc(F)c(F)cc9)cc4)cc5)cc8</chem>	90	432,43		D

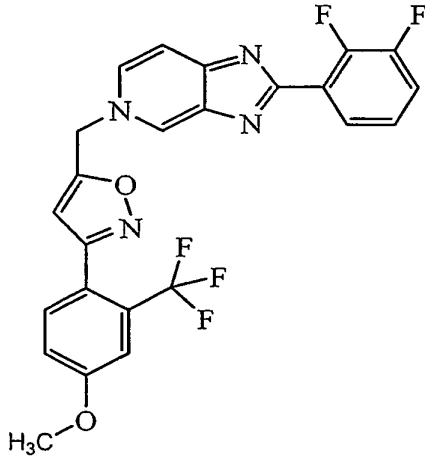
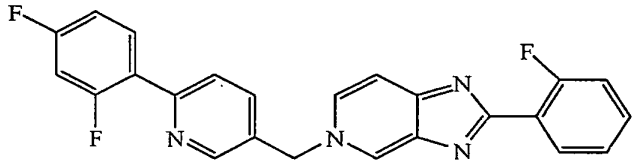
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 353 	90	436,40		D
Ejemplo 354 	90	440,82		D
Ejemplo 355 	90	446,46		D

Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 356 	90	480,48		D
Ejemplo 358 	90	446,46		D
Ejemplo 359 	90	440,82		D

Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 360  <chem>CC(C)(C)OC1=CC=C(C=C1C2=NN=C(C2)C3=CC=CC=C3F)CN4C=CC(=C4)C5=CC=CC=C5F</chem>	90	478,48		D
Ejemplo 362  <chem>CCOCCOC1=CC=C(C=C1C2=NN=C(C2)C3=CC=CC=C3F)CN4C=CC(=C4)C5=CC=CC=C5</chem>	90	460,49		D
Ejemplo 363  <chem>CCOCCOC1=CC=C(C=C1C2=NN=C(C2)C3=CC=CC=C3F)CN4C=CC(=C4)C5=CC=CC=C5</chem>	90	428,47		D

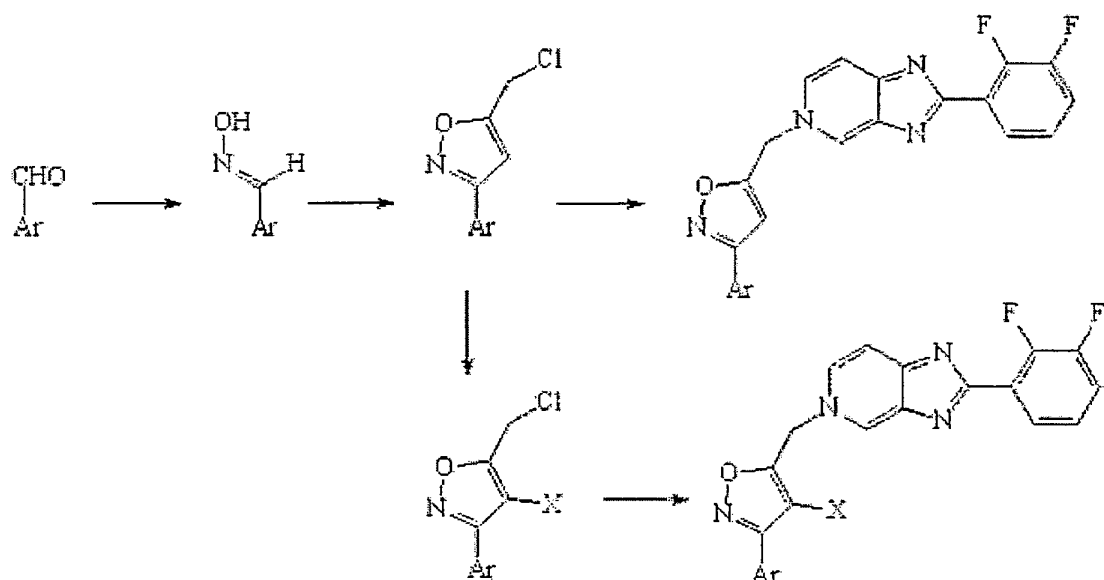
Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 364 	90	444,44		D
Ejemplo 365 	90	474,51		D
Ejemplo 368 	90	500,55		D

Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 369 	90	500,55		D
Ejemplo 370 	90	488,54		D
Ejemplo 371 	90	488,53		D

Estructuras	Pureza	PM	PM Obs.	Método
Ejemplo 372 	90	487,4	D	
Ejemplo 373 	90	417,4	C	

EJEMPLO 374

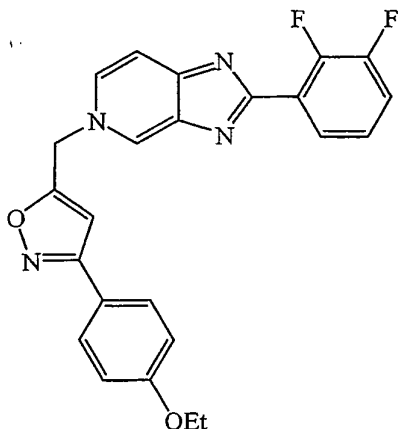
Análogos de Isoxazol



Ar = fenilo (sust.), hetarilo (sust.)

X = Br, Cl

Síntesis de 374a:



- 5 A una disolución agitada de 4-etoxi-benzaldehído (3,000 g) en etanol del 50% (7 mL) se le añadió hielo (10 g) e hidrocloreto de hidroxilamina (2,100 g), seguido de una disolución de hidróxido sódico acuoso del 30% (3,5 mL). Tras la finalización de la reacción (1 h) se añadió ácido clorhídrico para ajustar el pH a 1 y la suspensión se enfrió en un baño de hielo y se filtró. La oxima bruta se puede usar para la siguiente etapa sin purificación. De manera alternativa, se puede cristalizar a partir de una mezcla de éter diisopropílico y acetato de etilo. Rendimiento: 71 %.
- 10 A una disolución de cloruro de propargilo (655 mg, 1 equiv.) y trietilamina (35 mg, 0,1 equiv.) en diclorometano (9,5 mL) se le añadió posteriormente con enfriamiento una solución acuosa de hipoclorito sódico del 10% (9,5 mL, 1,5 equiv.) y después una disolución de la oxima (1,40 g, ~1,3 M en diclorometano) a lo largo de un periodo de 15 minutos, y la agitación continuó durante una hora más. La reacción se monitorizó mediante TLC (gel de sílice, eluyente: 5 % de MeOH en diclorometano). Tras la finalización, la mezcla de reacción se extrajo 3 veces con 30 mL
- 15 de diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron a presión reducida. El 5-(clorometil)-3-(4-etoxifenil)-isoxazol bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, acetato de etilo / éter de petróleo = 1:9). Rendimiento: 1,1 g.

Una mezcla de 3,4-diaminopiridina (2,00 g), ácido 2,3-difluorobenzoico (1 equivalente) y ácido polifosfórico (50 g) se calentó a 180 °C durante 4 h con agitación. Después la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en hielo/agua. La mezcla resultante se neutralizó mediante la adición de NaOH sólido. La 2-(2,3-difluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina bruta se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó. Se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Rendimiento: 88 %.

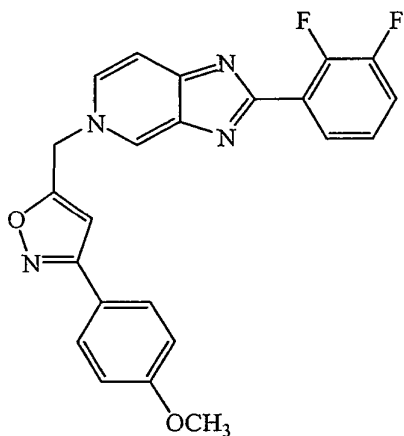
25 2-(2,3-Difluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina (0,500 g) se disolvió en DMF seca (5 mL) y la disolución resultante se enfrió a 0 °C. Se añadió hidróxido sódico acuoso del 50% (1,5 equivalentes) y la mezcla se agitó durante 15 min. Después se añadió 5-(clorometil)-3-(4-etoxifenil)-isoxazol (1,2 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Finalmente, se añadió agua (50 mL), el precipitado se recogió mediante filtración y se secó para proporcionar el producto bruto.

Se recrystalizó a partir de acetato de etilo; cristales incoloros; rendimiento: 35%

30 ¹H RMN (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,24 (d, 1H, H4, J=1,2 Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, J=6,6, 1,2 Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, J=6,6 Hz), 7,77 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,07-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,02 (s, 2H, CH₂), 4,06 (q, 2H, OCH₂, J=6,9 Hz), 1,32 (t, 3H, CH₃, J=6,9 Hz).

Los ejemplos siguientes se prepararon análogamente al procedimiento anterior:

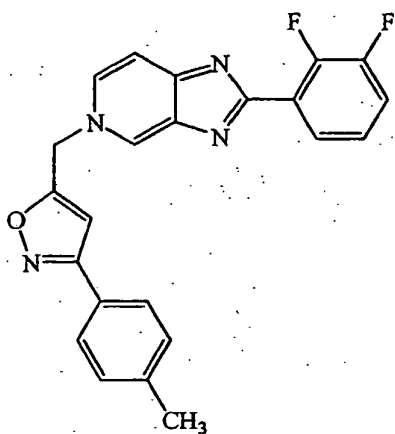
374b



Partiendo de 4-metoxibenzaldehído.

5 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, $J=6,6, 1,2$ Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, $J=6,6$ Hz), 7,79 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,09-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, CH_2), 3,80 (s, 3H, OCH_3).

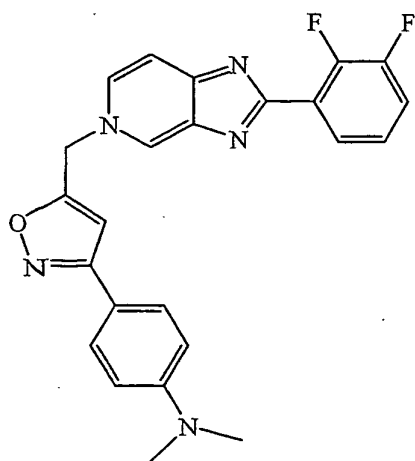
374c



Partiendo de 4-metilbenzaldehído.

10 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,24 (s ancho, 1H, H4), 8,29 (d, 1H, H6, $J=6,7$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, $J=6,7$ Hz), 7,58-7,27 (m, 6H, H arom.), 7,00 (s, 1H, isoxazol-H), 6,04 (s, 2H, CH_2), 2,41 (s, 3H, CH_3).

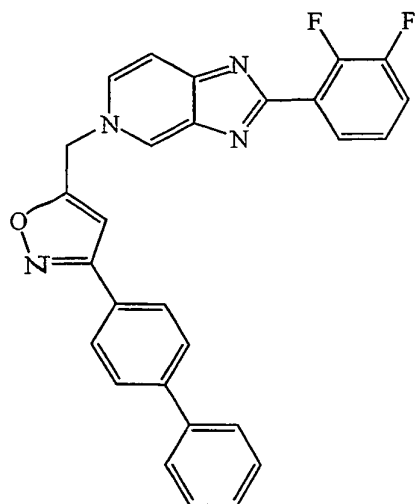
374f



Partiendo de 4-dimetilaminobenzaldehído

5 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,6$ Hz), 8,27 (dd, 1H, H6, $J=7,0, 1,6$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, $J=7,0$ Hz), 7,65 (**AA'****BB'**, 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 6,98 (s, 1H, isoxazol-H), 6,76 (**AA'****BB'**, 2H, bencil-H), 5,75 (s, 2H, CH_2), 2,95 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

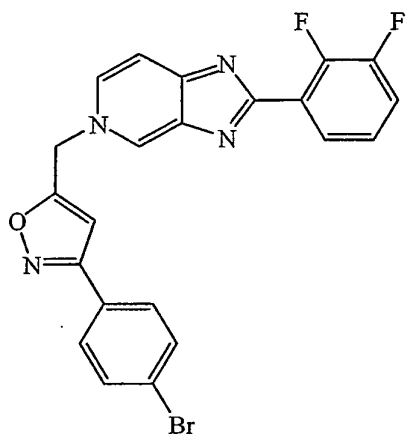
374g



Partiendo de 4-bifenilcarboxaldehído

10 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,25 (d, 1H, H4, $J=1,6$ Hz), 8,30 (dd, 1H, H6, $J=7,0, 1,6$ Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,98-7,70 (m, 7H, H arom.), 7,57-7,26 (m, 5H, H arom.), 7,18 (s, 1H, isoxazol-H), 6,05 (s, 2H, CH_2).

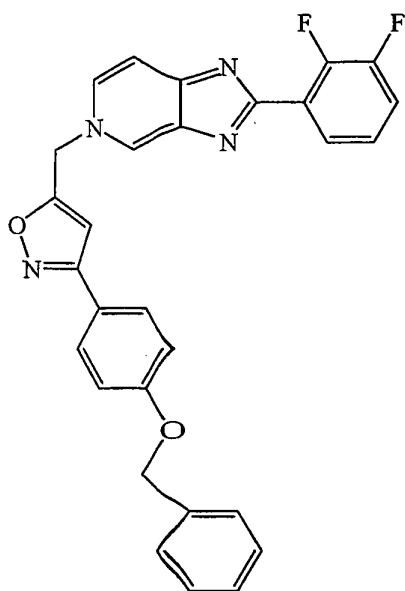
374h



Partiendo de 4-bromobenzaldehído

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,6$ Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, $J=7,0, 1,6$ Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,90-7,68 (m, 4H, H arom.), 7,51 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,15 (s, 1H, isoxazol-H), 6,05 (s, 2H, CH_2).

5 374i

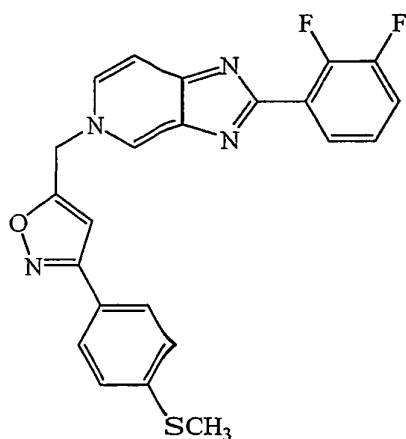


Partiendo de 4-benciloxibenzaldehído

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,6$ Hz), 8,27 (dd, 1H, H6, $J=7,0, 1,6$ Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,90-7,76 (m, 3H, H arom.), 7,57-7,26 (m, 7H, H arom.), 7,15-7,05 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, N- CH_2), 5,16 (s, 2H, O- CH_2).

10

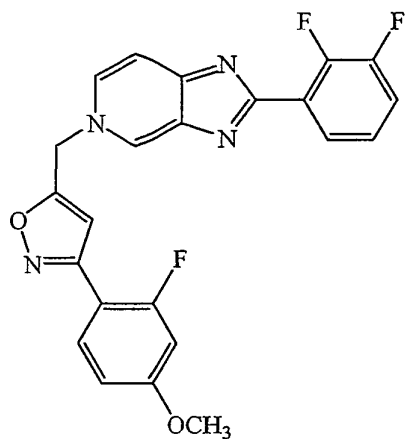
374j



Partiendo de 4-(metiltio)benzaldehído

¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆) δ 9,23 (d, 1H, H4, 7=1,2 Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, J=6,6, 1,2 Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, J=6,6 Hz), 7,79 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,50 (m, 1H, fenil-H), 7,38-7,25 (m, 3H, H arom.), 7,10 (s, 1H, isoxazol-H), 6,03 (s, 2H, CH₂), 2,51 (s, 3H, SCH₃).

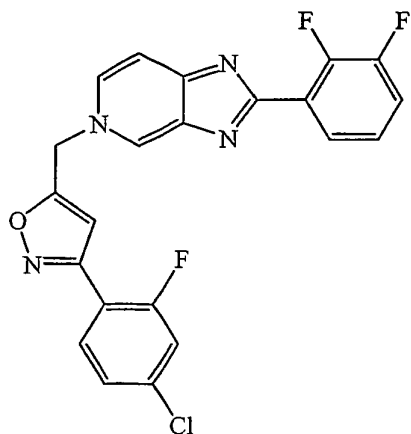
374k



Partiendo de 2-fluoro-4-metoxibenzaldehído

¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆) δ 9,26 (d, 1H, H4, J=1,2 Hz), 8,30 (dd, 1H, H6, J=6,6, 1,2 Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, J=6,6 Hz), 7,80 (m, 1H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,04-6,71 (m, 3H, H arom.), 6,03 (s, 2H, CH₂), 3,82 (s, 3H, OCH₃).

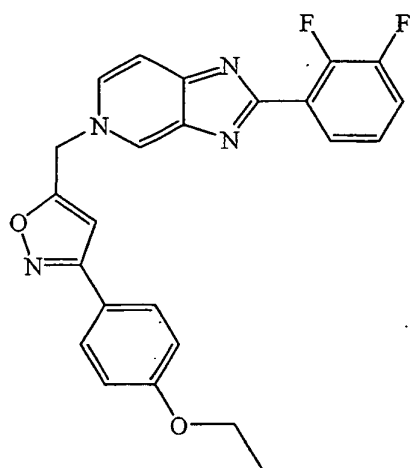
374w



Se preparó como se describió anteriormente, partiendo de 4-cloro-2-fluorobenzaldehído.

- 5 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,26 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,30 (dd, 1H, H6, $J=6,8, 1,4$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,90-7,87 (m, 2H, H arom.), 7,66 (dd, 1H, H arom., $J=10,8, 1,8$ Hz), 7,53-7,41 (m, 2H, H arom.), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,10 (d, 1H, isoxazol-H, $J=2,7$ Hz), 6,06 (s, 2H, CH_2).

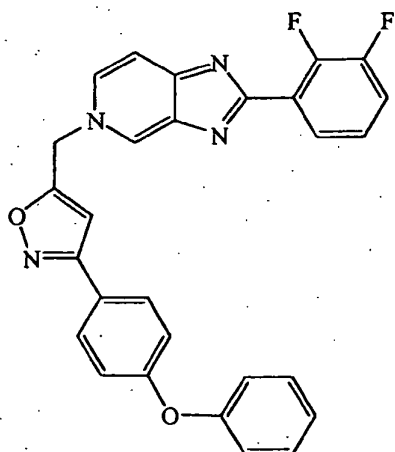
374l



Partiendo de 4-propoxibenzaldehído

- 10 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,29 (dd, 1H, H6, $J=6,6, 1,2$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,88 (d, 1H, H7, $J=6,6$ Hz), 7,78 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,06-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, CH_2), 3,97 (t, 2H, OCH_2 , $J=6,5$ Hz), 1,73 (hex, 2H, CH_2), 0,97 (t, 3H, CH_3 , $J=7,3$ Hz).

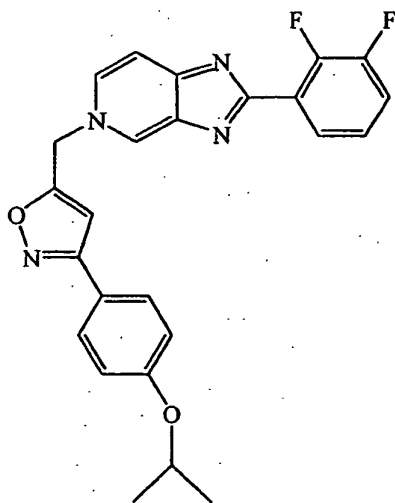
374m



Partiendo de 4-fenoxibenzaldehído

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,25 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,29 (dd, 1H, H6, $J=6,6, 1,2$ Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,92-7,83 (m, 3H, H arom.), 7,58-7,05 (m, 10H, H arom.), 6,04 (s, 2H, CH_2).

5 374o

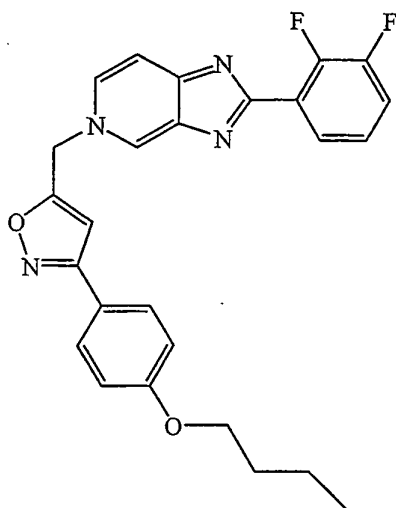


Partiendo de 4-isopropoxibenzaldehído.

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,24 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, $J=7,0, 1,4$ Hz); 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, $J=7,0$ Hz), 7,76 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,50 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,05-6,98 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, CH_2), 4,67 (hept, 1H, OCH, $J=6,2$ Hz), 1,26 (d, 6H, $(\text{CH}_3)_2$, $J=6,2$ Hz).

10

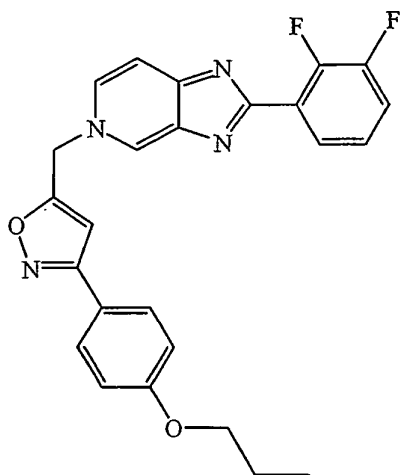
374r



Se sintetizó como se describió anteriormente, partiendo de 4-butoxibenzaldehído (preparado mediante la alquilación de 4-hidroxibenzaldehído).

5 ^1H RMN (200 MHz, DMSO-d_6) δ 9,24 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, $J=6,6, 1,2$ Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, $J=6,6$ Hz), 7,78 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,50 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,07-7,01 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, CH_2), 4,01 (t, 2H, OCH_2 , $J=6,5$ Hz), 1,72 (m, 2H, CH_2), 1,42 (m, 2H, CH_2), 0,93 (t, 3H, CH_3 , $J=7,2$ Hz).

374s

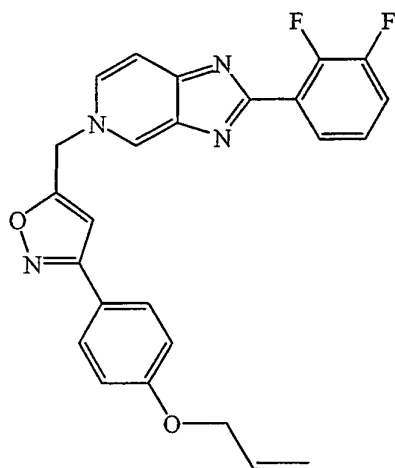


10

Se sintetizó como se describió anteriormente, partiendo de 4-propoxibenzaldehído y mediante el uso de 2-(2-fluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina en vez de 2-(2,3-difluorofenil)-1 (3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina.

15 ^1H RMN (200 MHz, DMSO-d_6) δ 9,18 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,38-8,23 (m, 2H, H arom.), 7,85 (d, 1H, H7, $J=6,6$ Hz), 7,78 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,54-7,25 (m, 3H, fenil-H), 7,06-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,00 (s, 2H, CH_2), 3,98 (t, 2H, OCH_2 , $J=6,6$ Hz), 1,73 (hex, 2H, CH_2), 0,97 (t, 3H, CH_3 , $J=7,3$ Hz).

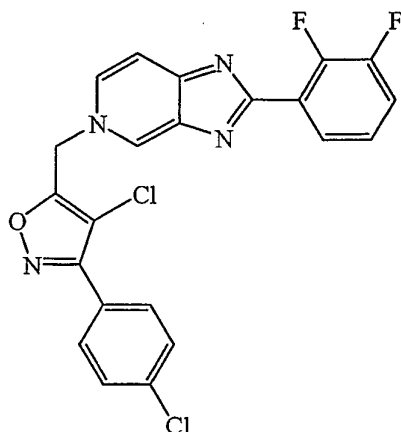
374t



Partiendo de 4-aliloxibenzaldehído

5 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,27 (dd, 1H, H6, $J=6,7, 1,2$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, $J=6,7$ Hz), 7,79 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,50 (m, 1H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 7,09-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,15-5,98 (m, 3H), 5,45-5,24 (m, 2H), 4,62 (d, 2H, $J=4,8$ Hz).

374u

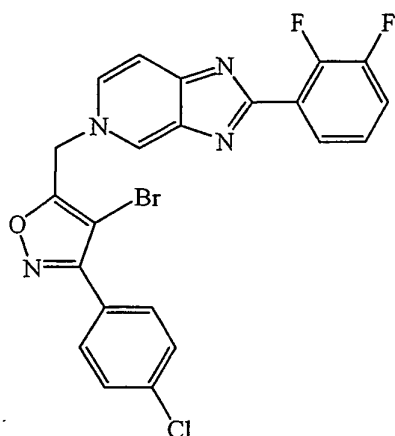


10 Una mezcla de 5-(clorometil)-3-(4-clorofenil)-isoxazol (2,00 g), NCS (11,75 g, 10 equivalentes), ácido acético glacial (35 mL) y 20 gotas de ácido sulfúrico concentrado se calienta a reflujo durante 3 días. Después de enfriar a temperatura ambiente se añade diclorometano (100 mL), y la mezcla resultante se extrae con agua (2 x 100 mL) y una disolución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 x 100 mL). Después la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro y se evaporó. El producto bruto así obtenido se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: éter de petróleo / acetato de etilo = 19 /1) para proporcionar 1,14 g.

15 La etapa final se llevó a cabo como se describió anteriormente. Se recrystalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo y etanol. Rendimiento: 60%.

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,20 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,25 (dd, 1H, H6, $J=6,8, 1,4$ Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, $J=6,8$ Hz), 7,83 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,66 (**AA'**BB', 2H, bencil-H), 7,51 (m, 1 H, fenil-H), 7,31 (m, 1H, fenil-H), 6,14 (s, 2H, CH₂).

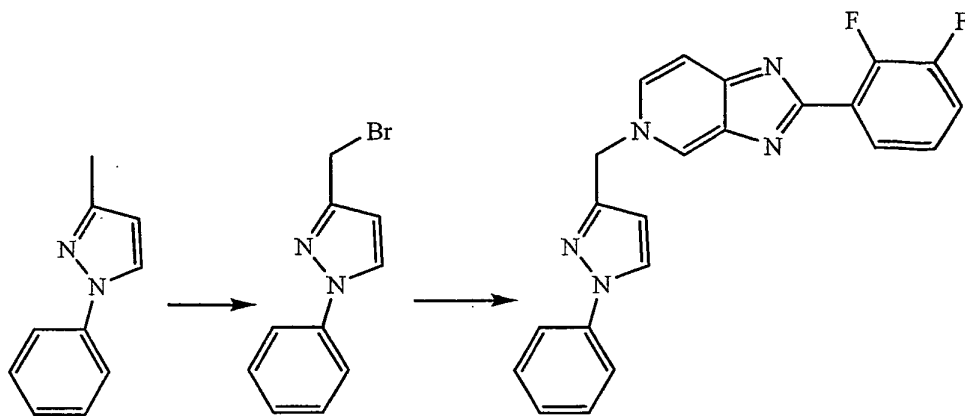
374v



^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,18 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,22 (dd, 1H, H6, $J=6,8, 1,4$ Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (d, 1H, H7, $J=6,8$ Hz), 7,80 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,65 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,30 (m, 1H, fenil-H), 6,11 (s, 2H, CH_2).

- 5 Se sintetizó análogamente al derivado de cloroisoxazol 374u: 4 equiv. de NBS, 2,5 h a reflujo, rendimiento: 91%.

EJEMPLO 375



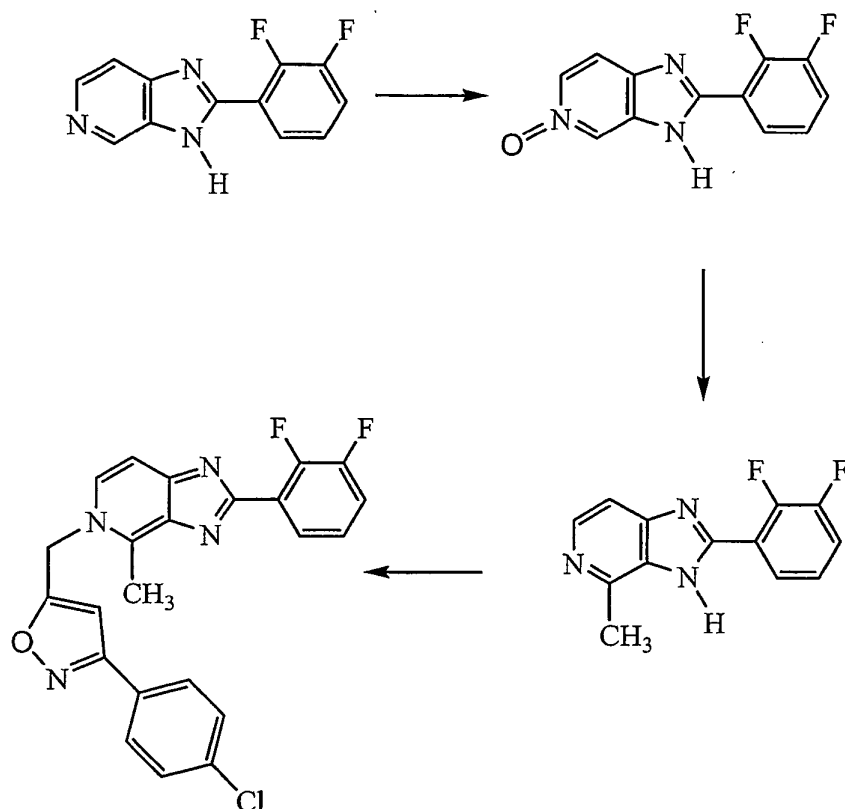
- 10 A una disolución de 500 mg de 3-metil-1-fenilpirazol en 4 mL de tetracloruro de carbono se le añade en porciones a 70 °C una mezcla de 678 mg (1,2 equiv.) de NBS y AIBN (62,3 mg, 0,12 equiv.). La mezcla resultante se calienta a reflujo durante otros 15 minutos y después se enfría a temperatura ambiente. El precipitado se elimina mediante filtración y el filtrado se concentra para precipitar el producto bruto (380 mg), que, tras recogerlo mediante filtración y secarlo, se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional.

La etapa final se llevó a cabo como se describió anteriormente. Se recristalizó a partir de acetato de etilo. Rendimiento: 35%.

15

EJEMPLO 377

Síntesis del análogo de 4-metilo 377



Una mezcla de 2-(2,3-difluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina (2,00 g), 50 mg de metiltioxorrenio, 100 mL de metanol y peróxido de hidrogeno acuoso del 30 % (4 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Después, se añadieron otros 50 mg de metiltioxorrenio y peróxido de hidrógeno del 30% (4 mL) y la mezcla resultante se agitó durante otros 2 días. Tras la evaporación del metanol se añadió agua (200 mL), y el pH se ajustó a 9 mediante la adición de NaOH 2 N. El precipitado resultante se filtró, se secó y se recrystalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo (20 mL) y etanol (53 mL) para proporcionar 1,208 g (56,5%) de 5-óxido de 2-(2,3-difluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina.

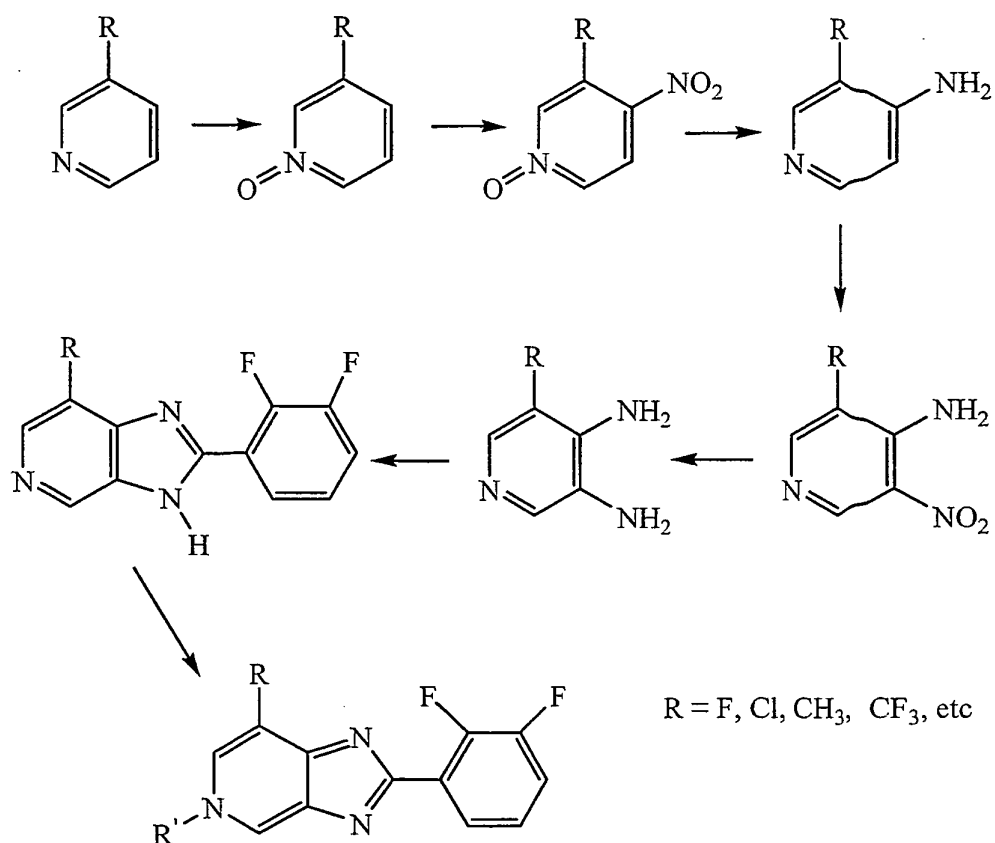
Se disolvió 5-óxido de 2-(2,3-difluorofenil)-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina (1,00 g) en tetrahidrofurano seco (100 mL) y se añadió gota a gota bajo argón una disolución de MeMgBr (14 mL, 3 M en éter dietílico). La mezcla resultante se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. Después se añadió agua (100 mL) lentamente y el pH se ajustó a 8,5. La extracción con acetato de etilo (3 x 70 mL), el secado de las fases orgánicas combinadas sobre sulfato sódico anhidro y la evaporación del disolvente proporcionó 0,630 g (60 %) de 2-(2,3-difluorofenil)-4-metil-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina bruta. La recrystalización a partir de una mezcla de éter diisopropílico (20 mL) y acetato de etilo (34 mL) proporcionó 240 mg (24,2 %) de 2-(2,3-difluorofenil)-4-metil-1(3)*H*-imidazo[4,5-*c*]piridina bruta.

La etapa final se llevó a cabo como se describió anteriormente. Purificación mediante cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: diclorometano/metanol = 20/1). Rendimiento: 22.4 %.

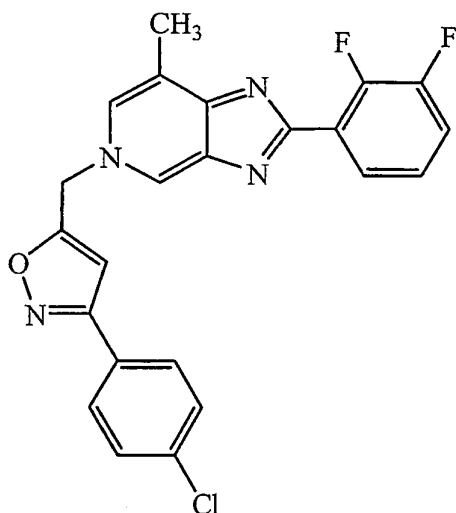
¹H RMN (200 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,25 (d, 1H, H6, J=6,8 Hz), 8,11 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,77 (d, 1H, H7, J=6,8 Hz), 7,60-7,41 (m, 3H, H arom.), 7,30 (m, 1H, fenil-H), 7,12 (s, 1H, isoxazol-H), 6,05 (s, 2H, CH₂), 3,05 (s, 3H, CH₃).

EJEMPLO 378

Síntesis de análogos 7-sustituidos



378a



- 5 Se disolvió 1-óxido de 3-metil-4-nitropiridina (5,85 g) en ácido acético glacial (115 mL) y se hidrogenó en un aparato de hidrogenación Parr (catalizador: 220 mg de PtO₂ x 2 H₂O, 344,7 kilopascales) a temperatura ambiente durante 2,5 h. Después el catalizador se eliminó mediante filtración y el disolvente se evaporó. Tras la adición de 150 mL de agua, el pH se ajustó a 12 mediante la adición de NaOH 2 N. La disolución resultante se extrajo 10 veces con 100 mL de diclorometano (que contenía un 5 % de metanol). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron para proporcionar 3,81 g (83,6%) de 4-amino-3-metilpiridina.
- 10 4-Amino-3-metilpiridina (3,00 g) se disolvió con enfriamiento en hielo en ácido sulfúrico concentrado (36 mL). Después, se añadió ácido nítrico fumante (4,72 g) gota a gota. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la disolución se calentó a 60 °C durante 14 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de

reacción se vertió sobre hielo y la disolución resultante se ajustó a pH 13 mediante la adición de KOH sólido. El precipitado se eliminó mediante filtración, se lavó con agua y se secó. Rendimiento: 1,198 g (31,3%) de 4-amino-3-metil-5-nitropiridina.

- 5 Una mezcla de 4-amino-3-metil-5-nitropiridina (1,198 g), hierro en polvo (1,748 g), etanol (52 mL) y ácido clorhídrico (13 mL) se calentó a reflujo durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente el etanol se eliminó mediante destilación y la suspensión resultante se diluyó con agua hasta 50 mL y el pH se ajustó a 13 mediante la adición de NaOH 2 N. La extracción con acetato de etilo (3 x 70 mL), el secado de las fases orgánicas combinadas con sulfato sódico anhidro y la evaporación del disolvente proporcionó 0,579 g (60%) de 3,4-diamino-5-metilpiridina.

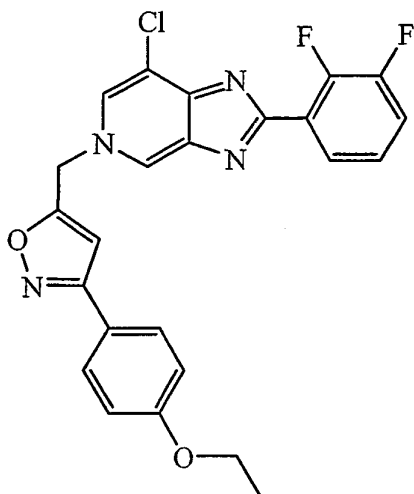
- 10 La ciclación con ácido 2,3-difluorobenzoico en PPA se llevó a cabo como se describió anteriormente. Se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente: diclorometano/metanol = 12/1). Rendimiento: 22,2%.

La etapa final se llevó a cabo como se describió anteriormente. Se recrystalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo y etanol. Rendimiento: 42,9% 378a.

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,14 (d, 1H, H4, $J=1,2$ Hz), 8,17-8,10 (m, 2H, H arom.), 7,90 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,60-7,42 (m, 3H, H arom.), 7,32 (m, 1H, fenil-H), 7,15 (s, 1H, isoxazol-H), 5,99 (s, 2H, CH₂), 2,58 (s, 3H, CH₃).

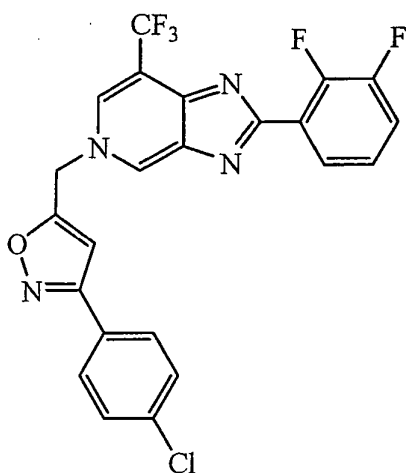
- 15 Los compuestos siguientes se prepararon análogamente a los procedimientos anteriores:

378b



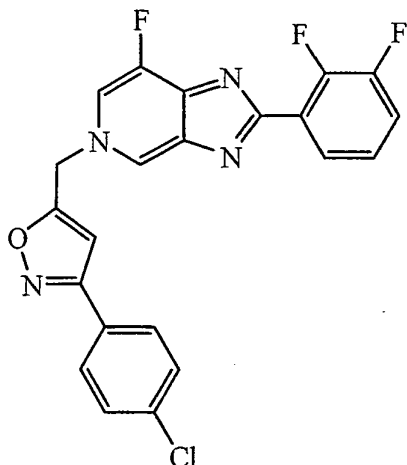
- 20 ^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,32 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,67 (d, 1H, H6, $J=1,4$ Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,78 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,54 (m, 1H, fenil-H), 7,34 (m, 1H, fenil-H), 7,07-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,00 (s, 2H, CH₂), 4,07 (q, 2H, OCH₂, $J=7,0$ Hz), 1,33 (t, 3H, CH₃, $J=7,0$ Hz).

378c



¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆) δ 9,47 (d, 1H, H4, J=1,4 Hz), 8,94 (d, 1H, H6, J=1,4 Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,63-7,50 (m, 3H, H arom.), 7,35 (m, 1H, fenil-H), 7,16 (s, 1H, isoxazol-H), 6,10 (s, 2H, CH₂).

378d

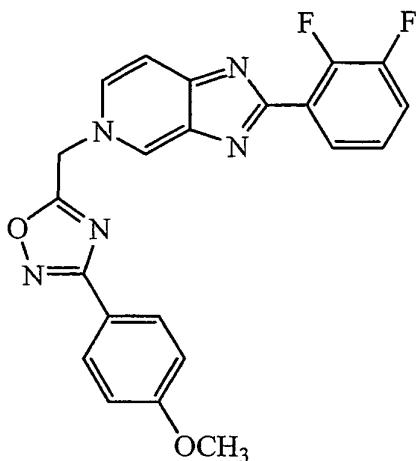


- 5 ¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆) δ 9,30 (s ancho, 1H, H4), 8,66 (dd, 1H, H6, J=7,4, 1,4 Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,89 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,61-7,47 (m, 3H, H arom.), 7,33 (m, 1H, fenil-H), 7,16 (s, 1H, isoxazol-H), 6,04 (s, 2H, CH₂).

EJEMPLO 379

1,2,4-oxadiazoles

379a



10

Una mezcla de 4-metoxibenzonitrilo (1,00 g), hidrocloreto de hidroxilamina (0,785 g), KOH (0,640 g) y metanol (20 mL) se calentó a reflujo durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente el precipitado se eliminó mediante filtración y el filtrado se evaporó. El residuo resultante se disolvió en HCl 1 N (100 mL) y la disolución resultante se extrajo con éter dietílico (100 mL). La fase acuosa se neutralizó mediante la adición de NaHCO₃ sólido y se extrajo con éter dietílico (2 x 100 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico anhidro y se evaporaron para proporcionar 450 mg de la amidoxima deseada, que se usó sin purificación adicional.

15

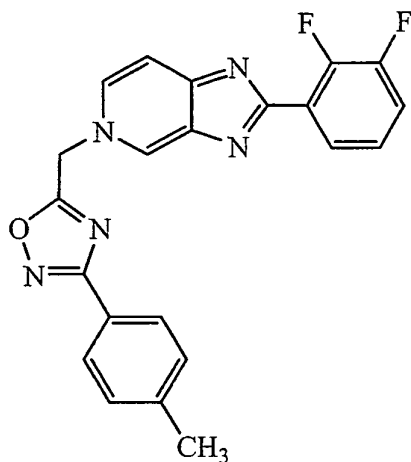
Una disolución de 700 mg de (4-metoxifenil)amidoxima y 1,08 g (1,5 equivalentes) de anhídrido cloroacético en tolueno (30 mL) se calentó a reflujo durante 3 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente la mezcla de reacción se extrajo posteriormente con agua (50 mL dos veces), disolución saturada de bicarbonato sódico (50 mL dos veces) y agua (50 mL). Finalmente, la fase de tolueno se secó sobre sulfato sódico anhidro y se evaporó para proporcionar 660 mg del oxadiazol deseado, que se usó sin purificación adicional.

20

La etapa final se llevó a cabo como se describió anteriormente (véanse, por ejemplo, los análogos de isoxazol). Se recrystalizó a partir de una mezcla de acetato de etilo y etanol. Rendimiento: 35%

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,28 (dd, 1H, H6, $J=6,5$, 1,4 Hz), 8,15 (m, 1H, fenil-H), 7,92-7,77 (m, 3H, H arom.), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,33 (m, 1H, fenil-H), 7,08-7,00 (m, 3H, H arom.), 6,01 (s, 2H, CH_2), 3,80 (s, 3H, OCH_3).

379b

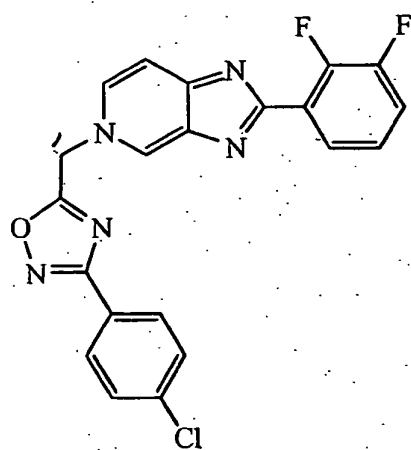


5

Se preparó como se describió anteriormente, partiendo de 4-metilbenzonitrilo.

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,23 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,31 (dd, 1H, H6, $J=6,8$, 1,4 Hz), 8,14 (m, 1H, fenil-H), 7,93-7,78 (m, 3H, H arom.), 7,50 (m, 1H, fenil-H), 7,35-7,27 (m, 3H, H arom.), 6,25 (s, 2H, CH_2), 2,35 (s, 3H, CH_3).

379d



10

Se preparó como se describió anteriormente, partiendo de 4-clorobenzonitrilo.

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6) δ 9,24 (d, 1H, H4, $J=1,4$ Hz), 8,31 (dd, 1H, H6, $J=6,8$, 1,4 Hz), 8,16 (m, 1H, fenil-H), 7,96-7,90 (m, 3H, H arom.), 7,60 (AA'BB', 2H, bencil-H), 7,49 (m, 1H, fenil-H), 7,34 (m, 1H, fenil-H), 6,28 (s, 2H, CH_2).

15

PARTE B

METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIVIRAL Y CITOSTÁTICA

Células y virus

Se mantuvieron células de riñón bovino Madin-Darby (MDBK) en medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con un 5% de suero bovino fetal (DMEM-FCS) sin BVDV a 37 °C en una atmósfera humidificada, con un 5% de CO_2 . Se usó BVDV-1 (cepa PE515) para determinar la actividad antiviral en las células MDBK.

20

Ensayo anti-BVDV

Se sembraron placas de cultivo celular de noventa y seis pocillos con células MDBK en DMEM-FCS de manera que las células alcanzaron la confluencia 24 hr más tarde. Después se eliminó el medio y se añadieron diluciones a un quinto en serie de los compuestos de ensayo en un volumen total de 100 µL, tras lo cual se añadió el inóculo de virus (100 µL) a cada pocillo. El inóculo de virus utilizado dio como resultado una destrucción mayor del 90% de la monocapa celular después de una incubación de 5 días a 37 °C. Las células sin infectar y las células que recibieron el virus sin compuesto se incluyeron en cada placa de ensayo. Después de 5 días, se eliminó el medio y se añadieron 90 µL de DMEM-FCS y 10 µL de disolución MTS/PMS (Promega) a cada pocillo. Después de un periodo de incubación de 2 hr a 37 °C, se leyó la densidad óptica de los pocillos a 498 nm en un lector de microplacas. El valor de la concentración efectiva del 50% (CE₅₀) se definió como la concentración de compuesto que protege un 50% de la monocapa celular del efecto citopático inducido por el virus.

Ensayo anti-HCV/ Ensayo de replicón - 1

Las células Huh-5-2 [una línea celular con un replicón de HCV persistente I389luc-ubi-neo/NS3-3'/5.1; replicón con proteína de fusión luciferasa de luciérnaga-ubiquitina-neomicina fosfotransferasa y poliproteína de HCV NS3-5B controlada por EMCV-IRES] se cultivaron en medio RPMI (Gibco) complementado con un 10% de suero bovino fetal, L-glutamina 2 mM (Life Technologies), 1x de aminoácidos no esenciales (Life Technologies); 100 UI/mL de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin y 250 µg/mL de G418 (Geneticina, Life Technologies). Las células se sembraron a una densidad de 7000 células por pocillo en una View Plate™ (Packard) de 96 pocillos en un medio que contenía los mismos componentes que se describieron anteriormente, excepto por G418. Las células se dejaron adherir y proliferar durante 24 hr. En ese momento, se eliminó el medio de cultivo y se añadieron diluciones en serie de los compuestos de ensayo en el medio de cultivo que carecía de G418. Se incluyó interferón alfa 2a (500 UI) como control positivo. Las placas se incubaron adicionalmente a 37 °C y un 5% de CO₂ durante 72 horas. La replicación del replicón de HCV en las células Huh-5 da como resultado la actividad de luciferasa en las células. La actividad de luciferasa se mide añadiendo 50 µL de tampón de lisis 1 x Glo (Promega) durante 15 minutos seguido de 50 µL del reactivo de ensayo de luciferasa Steady-Glo (Promega). La actividad de luciferasa se mide con un luminómetro, y la señal de cada pocillo individual se expresa en forma de un porcentaje de los cultivos sin tratar. Los cultivos paralelos de células Huh-5-2, sembradas a una densidad de 7000 células/pocillo de placas de cultivo de células de 96 pocillos clásicas (Becton-Dickinson) se tratan de una manera similar, excepto porque no se añade tampón de lisis Glo o reactivo de luciferasa Steady-Glo. En su lugar, la densidad del cultivo se mide por medio del método de MTS (Promega).

Análisis cuantitativo de ARN de HCV mediante RT-PCR en tiempo real Taqman

Las células con replicón se sembraron en placas a $7,5 \times 10^3$ células por pocillo en placas de 96 pocillos a 37 °C y un 5% de CO₂ en medio esencial modificado por Dulbecco que contenía un 10% de suero bovino fetal, 1% de aminoácidos no esenciales y 1 mg/ml de Geneticina. Después de permitir la adhesión celular durante 24 h, se añaden diferentes diluciones de compuesto a los cultivos. Las placas se incubaron durante 5 días, en cuyo momento se extrajo el ARN mediante el uso del equipo Qiamp Rneasy (Qiagen, Hilden, Alemania). Una reacción de PCR de 50 µL contuvo tampón TaqMan EZ (50 mmol/L de Bicina, 115 mmol/L de acetato potásico, 0,01 mmol/L de EDTA, 60 nmol/L de 6-carboxi-X-rodamina, y 8% de glicerol, pH 8,2; Perkin Elmer Corp./Applied Biosystems), 300 µmol/L de trifosfato de desoxiadenosina, 300 µmol/L de trifosfato de desoxiguanosina, 300 µmol/L de trifosfato de desoxicitidina, 600 µmol/L de trifosfato de desoxiuridina, 200 µmol/L de cebador directo [5'-ccg gcT Acc Tgc ccA TTc], 200 µmol/L de cebador inverso [ccA GaT cAT ccT gAT cgA cAA G], 100 µmol/L de sonda TaqMan [6-FAM-AcA Tcg cAT cgA gcg Agc Acg TAc-TAMRA], 3 mmol/L de acetato de manganeso, 0,5 U de AmpErase uracil-N-glicosilasa, 7,5 U de rTth ADN polimerasa, y 10 µl de elución de ARN. Tras la activación inicial de la uracil-N-glicosilasa a 50 °C durante 2 minutos, la RT se llevó a cabo a 60 °C durante 30 minutos, seguido de inactivación de la uracil-N-glicosilasa a 95 °C durante 5 minutos. La amplificación mediante PCR posterior consistió en 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 20 segundos y renaturalización y extensión a 62 °C durante 1 minuto en un detector de secuencias ABI 7700. Para cada ronda de PCR, se usaron muestras con molde negativo y molde positivo. El valor del ciclo umbral (valor de Ct) se define como el número de ciclos de PCR para el cual la señal supera la línea base, lo que define un valor positivo. La muestra se consideró positiva si el valor de Ct fue <50. Los resultados se expresan en forma equivalentes genómicos (EG).

Ensayo anti-HCV/ Ensayo de replicón - 2

Medios de replicón de HCV

DMEM con glucosa elevada (o MEM)

Glutamina 1x

Piruvato Sódico 1x

10% de FBS inactivado térmicamente

Antibióticos 1x

Preparación del Cultivo Celular

1. Descongelar la mezcla de reserva congelada en 10-12 ml de Medio
2. Permitir que las células se adhieran antes de añadir G418 (4-6 hrs)
- 5 3. Añadir G418 para una concentración final de 200 µg/mL (son posibles las cantidades mayores, pero las células crecen lentamente)
4. Dividir las células 1:4 a 1:6 para un cultivo óptimo
5. El replicón interno parece mantener la señal de luciferasa durante ~20 pases

Ensayo de Replicón de HCV

- 10 1. Diluir los compuestos en 100 µL de medio de replicón de HCV (sin G418). Si los compuestos se diluyen en DMSO, añadir DMSO a los medios (la concentración final de DMSO debería ser < 1%)
2. Una vez que los pocillos han alcanzado una confluencia del 80-90%, tripsinizar con Tripsina 1x
3. No tripsinizar en exceso. Estas células tienden a formar agrupaciones si se tripsinizan en exceso
- 15 4. Para el formato de 96 pocillos añadir 6.000-8.000 células por pocillo (G418 se retiene durante el ensayo de los compuestos)
5. Incubar durante 3 días a 37 °C. Las células deberían estar muy cercanas a la confluencia.
6. Eliminar los medios y lavar las células con PBS 1x
7. Eliminar el PBS y añadir 100 µL de tampón de lisis Promega 1x
8. Incubar las células a temperatura ambiente durante 5-20 minutos
- 20 9. Añadir 100 µL de disolución de sustrato de luciferasa a temperatura ambiente (Promega) a una placa negra Microfluor (VWR)
10. Mezclar bien el lisado celular (con pipeta) antes de añadir el sustrato de luciferasa
11. Añadir 75 µL de lisado a la disolución de sustrato de luciferasa
12. Leer la placa en un Top Count (programa FusionLucB, lectura de ~5 segundos)
- 25 13. El lisado restante se puede congelar y usar para el análisis posterior

Determinación del efecto citostático en células MDBK

- 30 El efecto de los fármacos sobre células MDBK en crecimiento exponencial se estudió como sigue. Las células se sembraron a una densidad de 5000 células/pocillo en placas de 96 pocillos en medio MEM (Gibco) complementado con un 10% de suero bovino fetal, L-glutamina 2 mM (Life Technologies) y bicarbonato (Life Technologies). Las células se cultivaron durante 24 hr, tras lo cual se añadieron diluciones en serie de los compuestos de ensayo. Los cultivos se incubaron adicionalmente otra vez durante 3 días, tras lo cual se cuantificó el efecto sobre el cultivo celular por medio del método MTS (Promega). La concentración que da como resultado una inhibición del 50% del crecimiento celular se define como la concentración citostática del 50% (CC₅₀)

35 Protocolo de Ensayo de CC50 de HCV

Medios de replicón de HCV

DMEM con glucosa elevada (o MEM)

Glutamina 1x

Piruvato Sódico 1x

- 40 10% de FBS inactivado térmicamente

Antibióticos 1x

Preparación del Cultivo Celular

1. Descongelar la mezcla de reserva congelada en 10-12 ml de Medio
2. Permitir que las células se adhieran antes de añadir G418 (4-6 hrs)
- 5 3. Añadir G418 para una concentración final de 200 µg/mL (son posibles las cantidades mayores, pero las células crecen lentamente)
4. Dividir las células 1:4 a 1:6 para un cultivo óptimo
5. El replicón interno parece mantener la señal de luciferasa durante ~20 pases

Ensayo de Replicón de HCV

- 10 1. Diluir los compuestos en 100 µL de medio de replicón de HCV (sin G418). Si los compuestos se diluyen en DMSO, añadir DMSO a los medios (la concentración final de DMSO debería ser < 1%)
2. Una vez que los pocillos han alcanzado una confluencia del 80-90%, tripsinizar con Tripsina 1x
3. No tripsinizar en exceso. Estas células tienden a formar agrupaciones si se tripsinizan en exceso
- 15 4. Para el formato de 96 pocillos añadir 6.000-8.000 células por pocillo (G418 se retiene durante el ensayo de los compuestos)
5. Incubar durante 3 días a 37 °C. Las células deberían estar muy cercanas a la confluencia.
6. Eliminar el medio y añadir 200 µL de una disolución de MTT de 0,2 mg/mL preparada en el medio.
7. Incubar durante 1,5 horas a 2 horas.
8. Eliminar el medio y añadir 150 µL de DMSO
- 20 9. Mezclar e incubar durante 5 mins a temperatura ambiente
10. Leer la placa a 530 nm en el lector de placas.

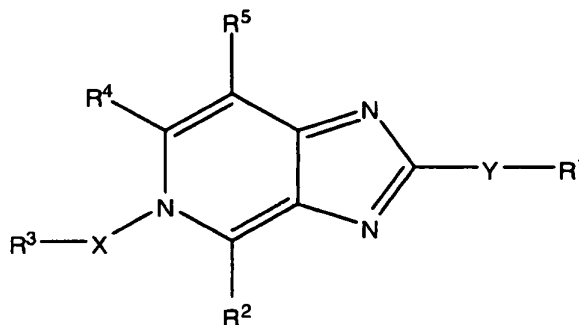
Resultados

25 Se descubrió que los compuestos de los Ejemplos 2, 3A, 4 y 5 tenían una CE50 en el ensayo de replicón 2, respectivamente en micromoles, de 0,01, 0,02, 0,01 y 0,0039, y tenían una CC50 en el protocolo de ensayo de CC50, respectivamente en micromoles, de 26, 34, 19 y 10,8 (replicado 13,4).

Sustancialmente todos los compuestos de la Tabla 1 mostraron una actividad de al menos 1 micromolar en un sistema de ensayo anti-HCV/Replicón. Además, varios compuestos también exhibieron actividad anti-BVDV.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula general (C),



en la que:

5 R^1 es arilo, o heterociclo aromático, en el que cada uno está sustituido con 1, 2, o 3 R^6 ;

Y es un enlace simple;

R^2 y R^4 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , halógeno, -OH, -CN, -NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo, haloalquilo, -C(=O)R⁹, -C(=S)R⁹, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilalquilo, hidroxialquilo C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquiltio C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , o heterociclo;

X se selecciona de alquilenilo C_{1-10} , alquenilenilo C_{2-10} o alquinilenilo C_{2-10} , en el que cada uno incluye opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de O, S, o N, con tal de que dicho heteroátomo no esté adyacente al N en el anillo de imidazopiridilo;

R^3 es un heterociclo aromático sustituido con 1 o más R^{17} ;

15 R^5 se selecciona de hidrógeno; alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , halógeno, -OH, -CN, -NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo, haloalquilo, -C(=O)R⁹, -C(=O)OR⁹, -C(=S)R⁹, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilalquilo, hidroxialquilo C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquiltio C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , o heterociclo;

20 R^6 se selecciona de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquiltio C_{1-18} , alquilsulfóxido C_{1-18} , alquilsulfona C_{1-18} , halo-alquilo C_{1-18} , halo-alquenilo C_{2-18} , halo-alquinilo C_{2-18} , halo-alcoxi C_{1-18} , halo-alquiltio C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{3-10} , cicloalquinilo C_{7-10} , halógeno, OH, CN, cianoalquilo, -CO₂R¹⁸, NO₂, -NR⁷R⁸, haloalquilo C_{1-18} , C(=O)R¹⁸, C(=S)R¹⁸, SH, arilo, ariloxi, ariltio, arilsulfóxido, arilsulfona, arilsulfonamida, aril-alquilo (C_{1-18}), aril-alquilo (C_{1-18}), aril-alquiltio (C_{1-18}), heterociclo y hidroxialquilo C_{1-18} , en los que cada uno está sustituido opcionalmente con 1 o más R^{19} ;

25 R^7 y R^8 se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{1-18} , arilo, cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , heterociclo, -C(=O)R¹², -C(=S)R¹², un residuo de aminoácido unido por medio de un grupo carboxilo del mismo, o R^7 y R^8 junto con el nitrógeno forman un heterociclo;

30 R^9 y R^{18} se seleccionan independientemente de hidrógeno, OH, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , alcoxi C_{1-18} , -NR¹⁵R¹⁶, arilo, un residuo de aminoácido unido por medio del grupo amino del aminoácido, CH₂OCH(=O)R^{9a}, o CH₂OC(=O)OR^{9a} en los que R^{9a} es alquilo C_{1-12} , arilo C_{6-20} , alquilarilo C_{6-20} o aralquilo C_{6-20} ;

R^{12} se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , arilo, cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , o un residuo de aminoácido;

35 R^{15} y R^{16} se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , arilo, cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , o un residuo de aminoácido;

R^{17} es arilo sustituido con 1, 2, o 3 R^{19} ;

40 R^{19} se selecciona de hidrógeno, alquilo C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquinilo C_{2-18} , alcoxi C_{1-18} , alquenilo C_{2-18} , alquiltio C_{1-18} , cicloalquilo C_{3-10} , cicloalquenilo C_{4-10} , cicloalquinilo C_{4-10} , halógeno, -OH, -CN, cianoalquilo, -NO₂, -NR²⁰R²¹, haloalquilo C_{1-18} , haloalquilo C_{1-18} , -C(=O)R¹⁸, -C(=O)OR¹⁸, -O-alquilenil-C(=O)OR¹⁸, -O-alquil-C(=O)NR²⁰R²¹, -O-alquil-OC(=O)R¹⁸, -C(=S)R¹⁸, SH, -C(=O)N(alquil C_{1-6}), -N(H)S(O)(O)(alquil C_{1-6}), arilo, heterociclo,

alquilsulfona C₁₋₁₈, arilsulfóxido, arilsulfonamida, aril-alquilo (C₁₋₁₈), ariloxi, aril(alquil C₁₋₁₈)oxi, ariltio, aril-alquiltio (C₁₋₁₈) o aril-alquilo (C₁₋₁₈), en los que cada uno está opcionalmente sustituido con 1 o más =O, NR²⁰R²¹, CN, alcoxi C₁₋₁₈, heterociclo, haloalquilo C₁₋₁₈, heterociclo alquilo, heterociclo conectado a R¹⁷ por medio de alquilo, alcoxialcoxi o halógeno;

- 5 R²⁰ y R²¹ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₁₈, alqueno C₂₋₁₈, alquino C₂₋₁₈, arilo, cicloalquilo C₃₋₁₀, cicloalqueno C₄₋₁₀, -C(=O)R¹², o -C(=S)R¹²;

en los que heterociclo significa un sistema de anillo simple o de anillos fusionados de 4, 5, 6, 7, 8, o 9 miembros que contiene uno o más heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N o S;

- 10 en los que arilo significa un hidrocarburo aromático que contiene 1 o más anillos con 4 a 6 átomos de carbono en cada uno; y

las sales, tautómeros, estereoisómeros y solvatos de los mismos.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que YR¹ es halofenilo.
3. El compuesto de la reivindicación 2, en el que halofenilo es orto-fluorofenilo.
4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R³ es isoxazolilo sustituido con 1 R¹⁷.
- 15 5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R¹⁹ es trihalometilo, trihalometoxi, alcoxi C₁₋₁₈ o halógeno.
6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R¹ es fenilo sustituido con 1, 2 ó 3 halógenos.
7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que X es alqueno C₁₋₁₀.
- 20 8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que X es metileno.
9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el heterociclo aromático R³ contiene 1, 2 ó 3 átomos de N, S o O en el anillo, está unido a X por medio de un átomo de carbono del anillo y contiene 4 a 6 átomos en el anillo en total.
10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R⁵ es H.
- 25 11. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que R⁷, R⁸, R¹⁵, R¹⁶, R²⁰, y R²¹ son independientemente H o alquilo C₁₋₁₈.
12. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en el que R¹² es alquilo C₁₋₁₈.
13. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹⁹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en halógeno, N(R²⁰R²¹), alcoxi C₁₋₁₈, haloalquilo C₁₋₁₈ y haloalcoxi C₁₋₁₈.
- 30 14. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en el que haloalquilo o haloalquilo es -CF₃ o -OCF₃.
15. Una composición que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.
- 35 16. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para el uso en el tratamiento o la profilaxis de una infección viral.
17. El compuesto de la reivindicación 16, en el que la infección viral es una infección por un virus de la hepatitis C.
18. El compuesto de la reivindicación 17, en combinación con una o más terapias antivirales adicionales.
19. El compuesto de la reivindicación 18, en el que la terapia adicional se selecciona del grupo que consiste en un interferón alfa y ribavirina.