

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 268**

51 Int. Cl.:

A01N 43/58 (2006.01)

A01N 43/60 (2006.01)

A61K 31/50 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

C07D 239/00 (2006.01)

C07D 241/36 (2006.01)

C07D 471/00 (2006.01)

C07D 487/00 (2006.01)

C07D 495/00 (2006.01)

C07D 497/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.04.2006 E 06758843 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 1874117**

54 Título: **Derivado de carbamoilpiridona policíclico que tiene actividad inhibidora de la integrasa del VIH**

30 Prioridad:

28.04.2005 JP 2005131161

27.10.2005 JP 2005312076

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

09.01.2014

73 Titular/es:

**VIIV HEALTHCARE COMPANY (50.0%)
Five Moore Drive
Research Triangle Park, NC 27709, US y
SHIONOGI CO., LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**JOHNS, BRIAN ALVIN;
KAWASUJI, TAKASHI;
TAISHI, TERUHIKO y
TAODA, YOSHIYUKI**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 437 268 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivado de carbamoilpiridona policíclico que tiene actividad inhibidora de la integrasa del VIH

5 La presente invención se refiere a un nuevo compuesto que posee una actividad antiviral, en concreto, a derivados de carbamoilpiridona policíclicos que poseen una actividad inhibidora contra la integrasa del VIH y a una composición farmacéutica que contiene los mismos, especialmente, un agente contra el VIH.

10 Entre los virus, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), un tipo de retrovirus, es conocido por provocar el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). El agente terapéutico para el SIDA se selecciona principalmente de entre un grupo de inhibidores de la transcriptasa inversa (por ejemplo, AZT, 3TC) y de inhibidores de la proteasa (por ejemplo, Indinavir), pero está demostrado que vienen acompañados de efectos secundarios tales como la nefropatía y la aparición de virus resistentes. Así pues, se ha deseado el desarrollo de agentes contra el VIH que tengan el otro mecanismo de acción. Por otro lado, se ha informado sobre una terapia de combinación eficiente en el
 15 tratamiento del SIDA debido a la frecuente aparición del mutante resistente. Los inhibidores de la transcriptasa inversa y los inhibidores de la proteasa se usan clínicamente como agentes contra el VIH. Sin embargo, los agentes que tienen el mismo mecanismo de acción suelen presentar resistencia cruzada o solo una actividad adicional. Por lo tanto, se desean agentes contra el VIH que tengan el otro mecanismo de acción. En las circunstancias anteriores, un inhibidor de la integrasa del VIH ha sido objeto de estudio como agente contra el VIH que tiene un nuevo
 20 mecanismo de acción (Ref. Documentos de patente 1 y 2). Como agente contra el VIH que tiene dicho mecanismo de acción, se conocen el derivado de hidroxipirimidinona sustituido con carbamoilo (Ref. Documentos de patente 3 y 4) y el derivado de hidroxipirrolidiona sustituidos con carbamoilo (Ref. Documento de patente 5). Además, se ha presentado una solicitud de patente relativa al derivado de hidroxipiridona sustituido con carbamoilo (Ref. Documento de patente 6, Ejemplo 8). Otros derivados de carbamoilpiridona conocidos incluyen derivados de 5-
 25 alcoxipiridin-3-carboxamida y derivado de γ -pirona-3-carboxamida, que son inhibidores del crecimiento vegetal o herbicidas (Ref. Documentos de patente 7-9). Otros inhibidores de la integrasa del VIH incluyen los compuestos cíclicos condensados que contienen N (Ref. Documento de patente 10).

30 [Documento de patente 1] WO03/0166275
 [Documento de patente 2] WO2004/024693
 [Documento de patente 3] WO03/035076
 [Documento de patente 4] WO03/035076
 [Documento de patente 5] WO2004/004657
 35 [Documento de patente 6] Solicitud de patente de Japón 2003-32772
 [Documento de patente 7] Solicitud de patente de Japón 1990-108668
 [Documento de patente 8] Solicitud de patente de Japón 1990-108683
 [Documento de patente 9] Solicitud de patente de Japón 1990-96506
 [Documento de patente 10] WO2005/016927

40 Los presentes inventores han estudiado en profundidad para descubrir que hay un nuevo derivado de carbamoilpiridona policíclico que posee una potente actividad inhibidora de la integrasa del VIH.

Además, los presentes inventores han descubierto que un compuesto de la presente invención y una composición
 45 farmacéutica que contiene el mismo son útiles como agente antiviral, agente antirretroviral, agente contra el VIH, agente contra el HTLV-1 (virus linfotrópico T humano de tipo 1), agente contra el FIV (virus de la inmunodeficiencia felina) o agente contra el SIV (virus de la inmunodeficiencia simia), especialmente, un agente contra el VIH o un agente contra el SIDA, para llevar a cabo la presente invención mostrada más adelante.

50 2,4-difluoro-bencilamida de ácido (4R,9aS)-5-Hidroxi-4-metil-6,10-dioxo-3,4,9,9,9a,10-hexahidro-2H-1-oxa-4a,8a-diaza-antraceno-7-carboxílico; y sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

(33) Un compuesto según lo definido anteriormente donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio.

55 (34) Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según lo definido anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

(35) Una composición farmacéutica de acuerdo con el (34) anterior, que es un agente contra el VIH.

60 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que contiene el compuesto mostrado anteriormente, una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, especialmente, un agente contra el VIH.

65 El compuesto de la presente invención posee una actividad inhibidora de la integrasa y/o una actividad inhibidora del crecimiento celular antiviral, especialmente, contra el VIH. Por consiguiente, es útil para la prevención o el tratamiento de diversas enfermedades mediadas por la integrasa o enfermedades de infección viral (por ejemplo, SIDA).

La presente invención proporciona una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del compuesto anterior.

Las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de la presente invención incluyen, como sales básicas, por ejemplo, sales de metales alcalinos tales como sales de sodio o de potasio; sales de metales alcalinotérreos tales como sales de calcio o de magnesio; sales de amonio; sales de amina alifática tales como trimetilamina, trietilamina, dicitlohexilamina, etanolamina, dietanolamina o sales de procaína; sales de aralkilamina tales como *N,N*-dibenciletilendiamina; sales de amina aromática heterocíclica tales como sales de piridina, sales de picolina, sales de quinolina o sales de isoquinolina; sales de amonio cuaternario tales como sales de tetrametilamonio, sales de tetraetilamonio, sales de benciltrimetilamonio, sales de benciltrietilamonio, sales de benciltributilamonio, sales de metiltrioctilamonio o sales de tetrabutilamonio; y sales de aminoácidos básicos tales como sales de arginina o sales de lisina. Las sales ácidas incluyen, por ejemplo, sales de ácidos minerales tales como clorhidrato, sales de sulfatos, sales de nitratos, sales de fosfatos, sales de carbonatos, bicarbonatos o perclorato; sales de ácidos orgánicos tales como acetatos, propionatos, lactatos, maleatos, fumaratos, sales de ácido tartárico, malatos, sales de citratos, ascorbatos, ácido fórmico; sulfonatos tales como metanosulfonatos, isetionatos, bencenosulfonatos o *p*-toluenosulfonatos; y sales de aminoácidos ácidos tales como aspartatos o glutamatos.

Los solvatos de un compuesto de la presente invención incluyen alcoholatos e hidratos.

El presente compuesto es útil como fármaco tal como un fármaco antiviral. El presente compuesto tiene una notable acción inhibitoria de la integrasa de un virus. Por lo tanto, se puede esperar que el presente compuesto tenga el efecto preventivo o terapéutico de diversas enfermedades derivadas de un virus que produzca al menos integrasa y crezca en infección en una célula animal, y es útil como agente inhibitorio de la integrasa para retrovirus (por ejemplo, VIH-1, VIH-2, HTLV-1, SIV, FIV, etc.), y es útil como fármaco contra el VIH, etc.

Además, el presente compuesto se puede usar en terapia de uso conjunto mediante la combinación de un fármaco contra el VIH que tenga el diferente mecanismo de acción tal como un inhibitorio de la transcriptasa inversa y/o un agente inhibitorio de la proteasa. Particularmente, en la actualidad, no se comercializa ningún inhibitorio de la integrasa, y su uso es útil en terapia de uso conjunto mediante la combinación del presente compuesto con un inhibitorio de la transcriptasa inversa y/o un inhibitorio de la proteasa.

Además, el uso anterior no solo incluye el uso como una mezcla médica contra el VIH, sino también el uso como agente de uso conjunto para aumentar la actividad contra el VIH de otro fármaco contra el VIH tal como la terapia combinada.

Además, el presente compuesto se puede usar para evitar la propagación de la infección con un vector retroviral en un tejido distinto a un tejido diana tras el uso de un vector retroviral basado en el VIH o el MLV en el campo de la terapia génica. Particularmente, cuando se infecta una célula con un vector *in vitro* y se devuelve la célula a un cuerpo, si se administra el presente compuesto por anticipado, se puede evitar una mayor infección en un cuerpo.

El presente compuesto se puede administrar oral o parenteralmente. En el caso de la administración oral, el presente compuesto también se puede usar como preparación convencional, por ejemplo, como cualquier forma de dosificación de un agente sólido tal como comprimidos, polvos, gránulos, cápsulas y similares; y un agente acuoso; una suspensión oleosa; o un agente líquido tal como jarabe o elixir. En el caso de la administración parenteral, el presente compuesto se puede usar como suspensión acuosa u oleosa inyectable, o como una gota nasal. Tras su preparación, se pueden usar arbitrariamente excipientes, aglutinantes, lubricantes, disolventes acuosos, disolventes oleosos, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, estabilizadores convencionales y similares. Como fármaco contra el VIH, se prefiere particularmente un agente oral. Una preparación de la presente invención se prepara mediante la combinación (por ejemplo, la mezcla) de una cantidad terapéuticamente eficaz del presente compuesto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

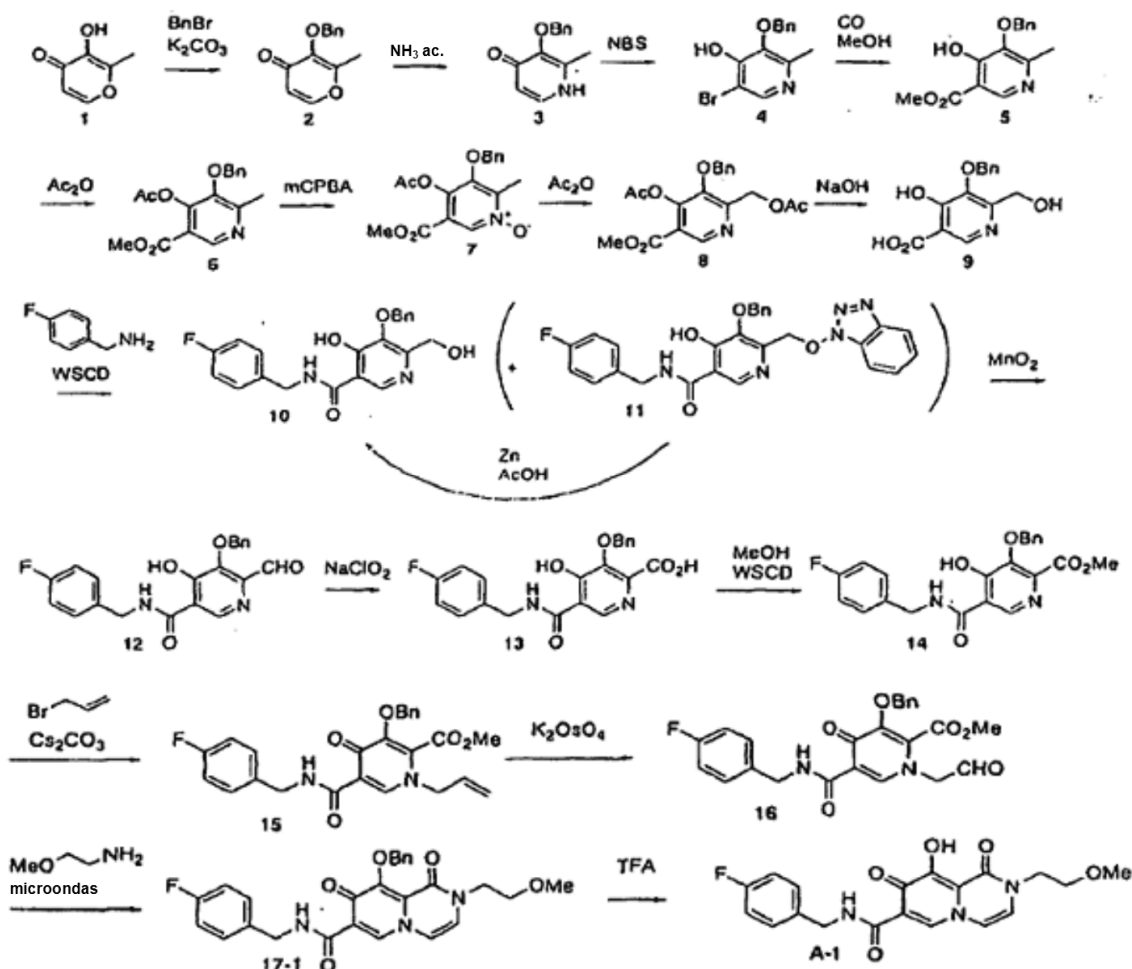
La dosis de la presente invención es diferente dependiendo del método de administración, de la edad, del peso y del estado del paciente, y del tipo de enfermedad y, normalmente, en el caso de la administración oral, se pueden administrar de aproximadamente 0,05 mg a 3.000 mg, preferentemente, de aproximadamente 0,1 mg a 1.000 mg por adulto al día, si es necesario, dividiendo la dosis. Además, en el caso de la administración parenteral, se pueden administrar de aproximadamente 0,01 mg a 1.000 mg, preferentemente, de aproximadamente 0,05 mg a 500 mg por adulto al día.

A continuación, se muestran ejemplos de referencia y ejemplos.

Ejemplo de referencia A-1)

4-Fluoro-bencilamida de ácido 9-hidroxi-2-(2-metoxi-etil)-1,8-dioxo-1,8-dihidro-2H-pirid[1,2-a]pirazin-7-carboxílico

[Fórmula química 52]



- 1) Se disolvió maltol 1 (189 g, 1,5 mol) en dimetilformamida (1.890 ml), y se añadió bromuro de bencilo (184 ml, 1,5 mol). Tras agitar la solución a 80 °C durante 15 minutos, se añadió carbonato de potasio (228 g, 1,65 mol), y se agitó la mezcla durante 1 hora. Tras enfriar la solución de reacción hasta la temperatura ambiente, se filtró una sal inorgánica y se separó el filtrado por destilación bajo presión reducida. A la sal inorgánica precipitada de nuevo, se añadió tetrahidrofurano (1.000 ml), se filtró esto y se separó el filtrado por destilación bajo presión reducida, obteniéndose el producto en bruto (329 g, >100 %) de 3-benciloxi-2-metil-piran-4-ona 2 en forma de un aceite marrón.
- 5
- 10 RMN (CDCl₃) δ: 2,09 (3H, s), 5,15 (2H, s), 6,36 (1H, d, J = 5,6 Hz), 7,29-7,41 (5H, m), 7,60 (1H, d, J = 5,6 Hz).

- 2) Se disolvió el compuesto 2 (162,2 g, 750 mmol) en etanol (487 ml), y se añadieron amoníaco acuoso (28 %, 974 ml) y una solución acuosa de hidróxido sódico 6 N (150 ml, 900 mmol). Tras agitar la solución de reacción a 90 °C durante 1 hora, se enfrió esta bajo refrigeración con hielo y se añadió cloruro de amonio (58 g, 1.080 mmol). Se añadió cloroformo a la solución de reacción, se extrajo esta y se lavó la capa orgánica con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, se añadieron alcohol isopropílico y dietiléter al residuo, y se filtraron los cristales precipitados, obteniéndose 3-benciloxi-2-metil-1H-piridin-4-ona 3 (69,1 g, 43 %) en forma de un cristal amarillo pálido.
- 15
- 20 RMN (DMSO-d₆) δ: 2,05 (3H, s), 5,04 (2H, s), 6,14 (1H, d, J = 7,0 Hz), 7,31-7,42 (5H, m), 7,46 (1H, d, J = 7,2 Hz), 11,29 (1H, sa).

- 3) Se suspendió el compuesto anterior 3 (129 g, 599 mmol) en acetonitrilo (1.300 ml) y se añadió imida de ácido N-bromosuccínico (117 g, 659 mmol), seguida de agitación a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se filtraron los cristales precipitados y se lavaron con acetonitrilo y dietiléter, obteniéndose 3-benciloxi-5-bromo-2-metil-piridin-4-ol 4 (154 g, 88 %) en forma de un cristal incoloro.
- 25
- 30 RMN (DMSO-d₆) δ: 2,06 (3H, s), 5,04 (2H, s), 7,32-7,42 (5H, m), 8,03 (1H, d, J = 5,5 Hz), 11,82 (1H, sa).

- 4) A una solución del compuesto 4 (88 g, 300 mmol), acetato de paladio (13,4 g, 60 mmol) y 1,3-bis(difenilfosfin)propano (30,8 g, 516 mmol) en dimetilformamida (660 ml), se añadieron metanol (264 ml) y trietilamina (210 ml, 1,5 mol) a temperatura ambiente. Se reemplazó el interior de una cuba de reacción por

- monóxido de carbono y se agitó el material a temperatura ambiente durante 30 minutos, y se agitó a 80 grados durante 18 horas. Se agitó un recipiente al que se habían añadido acetato de etilo (1.500 ml), una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (1.500 ml) y agua (1.500 ml) bajo refrigeración con hielo, y se añadió a ello la solución de reacción. Se filtraron los precipitados y se lavaron con agua (300 ml), acetato de etilo (300 ml) y dietiléter (300 ml), obteniéndose metiléster de ácido 5-benciloxi-4-hidroxi-6-metil-nicotínico 5 (44,9 g, 55 %) en forma de un cristal incoloro.
 5 RMN (DMSO-d₆) δ: 2,06 (3H, s), 3,72 (3H, s), 5,02 (2H, s), 7,33-7,42 (5H, m), 8,07 (1H, s).
- 5) Tras agitar una solución del compuesto 5 (19,1 g, 70 mmol) en anhídrido acético (134 ml) a 130 °C durante 40 minutos, se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, obteniéndose metiléster de ácido 4-acetoxi-5-benciloxi-6-metil-nicotínico 6 (19,9 g, 90 %) en forma de un cristal de color carne.
 10 RMN (CDCl₃) δ: 2,29 (3H, s), 2,52 (3H, s), 3,89 (3H, s), 4,98 (2H, s), 7,36-7,41 (5H, m), 8,85 (1H, s).
- 6) A una solución del compuesto 6 (46,2 g, 147 mmol) en cloroformo (370 ml), se añadió ácido metacloroperbenzoico (65 %) (42,8 g, 161 mmol) en porciones bajo refrigeración con hielo, y se agitó esto a temperatura ambiente durante 90 minutos. A la solución de reacción, se añadió una solución acuosa de carbonato de potasio al 10 % y se agitó esto durante 10 minutos, tras lo que se extrajo con cloroformo. Se lavó la capa orgánica sucesivamente con una solución acuosa de carbonato de potasio al 10 %, una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, y se lavó el residuo con diisopropiléter, obteniéndose metiléster de ácido 4-acetoxi-5-benciloxi-6-metil-oxi-nicotínico 7 (42,6 g, 87 %) en forma de un cristal incoloro.
 15 20 RMN (CDCl₃) δ: 2,30 (3H, s), 2,41 (3H, s), 3,90 (3H, s), 5,02 (2H, s), 7,37-7,39 (5H, m), 8,70 (1H, s).
- 7) A anhídrido acético (500 ml) que se había calentado para agitarlo a 130 °C, se añadió el compuesto 7 (42,6 g, 129 mmol) durante 2 minutos, y se agitó esto durante 20 minutos. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, obteniéndose metiléster de ácido 4-acetoxi-6-acetoximetil-5-benciloxi-nicotínico 8 (49,6 g, >100 %) en forma de un aceite negro.
 25 RMN (CDCl₃) δ: 2,10 (3H, s), 2,28 (3H, s), 3,91 (3H, s), 5,07 (2H, s), 5,20 (2H, s), 7,35-7,41 (5H, m), 8,94 (1H, s).
- 8) A una solución del compuesto 8 (46,8 g, 125 mmol) en metanol (140 ml), se añadió una solución acuosa de hidróxido de sodio 2 N (376 ml) bajo refrigeración con hielo, y se agitó esto a 50 °C durante 40 minutos. A la solución de reacción, se añadieron dietiléter y ácido clorhídrico 2 N bajo refrigeración con hielo, y se filtraron los cristales precipitados. Se lavaron los cristales resultantes con agua y dietiléter, obteniéndose ácido 5-benciloxi-4-hidroxi-6-hidroximetil-nicotínico 9 (23,3 g, 68 %) en forma de un cristal incoloro.
 30 35 RMN (DMSO-d₆) δ: 4,49 (2H, s), 5,19 (2H, s), 6,85 (1H, sa), 7,14-7,20 (2H, m), 7,33-7,43 (7H, m), 8,30 (1H, s), 10,73 (1H, t, J = 5,8 Hz), 11,96 (1H, sa).
- 9) A una solución del compuesto 9 (131 g, 475 mmol), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (219 g, 1.140 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (128 g, 950 mmol) en dimetilformamida (1.300 ml), se añadió 4-fluorobencilamina (109 ml, 950 mmol), y se agitó esto a 80 °C durante 1,5 horas. Tras enfriar la solución de reacción hasta la temperatura ambiente, se añadió ácido clorhídrico, tras lo que se extrajo con acetato de etilo. Se lavó el extracto con una solución acuosa de carbonato de potasio al 5 %, una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, obteniéndose una mezcla (175 g) de 10 y 11. Se disolvió la mezcla resultante en ácido acético, (1.050 ml) y agua (1.050 ml), y se añadió cinc (31,1 g, 476 mmol), seguido del calentamiento a reflujo durante 1 hora. Tras enfriar la solución de reacción hasta la temperatura ambiente, se añadió una solución acuosa de carbonato de potasio al 10 %, tras lo que se extrajo con acetato de etilo. Se lavó el extracto con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Tras separar el disolvente por destilación bajo presión reducida, se lavó esto con dietiléter, obteniéndose amida de ácido 5-benciloxi-N-(4-fluoro-bencil)-4-hidroxi-6-hidroximetil-nicotínico 10 (107 g, 59 %) en forma de un cristal incoloro.
 40 45 50 RMN (DMSO-d₆) δ: 4,45 (2H, d, J = 4,3 Hz), 4,52 (2H, d, J = 5,8 Hz), 5,09 (2H, s), 6,01 (1H, sa), 7,36-7,43 (5H, m), 8,31 (1H, s), 12,63 (1H, sa).
- 10) Tras añadir dióxido de manganeso (49 g) a una suspensión del compuesto 10 (9,8 g, 25,6 mmol) en cloroformo (490 ml), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras agitar la solución de reacción a 60 °C durante 20 minutos, se realizó la filtración a través de Celite, y se lavó esto con cloroformo calentado hasta 50 °C. Se separó el filtrado por destilación bajo presión reducida, obteniéndose amida de ácido 5-benciloxi-N-(4-fluoro-bencil)-6-formil-4-hidroxi-nicotínico 12 (8,2 g, 84 %) en forma de un cristal amarillo pálido.
 55 60 RMN (DMSO-d₆) δ: 4,53 (2H, d, J = 5,8 Hz), 5,38 (2H, s), 7,15-7,21 (2H, m), 7,35-7,46 (7H, m), 8,33 (1H, s), 9,90 (1H, s), 10,35 (1H, t, J = 5,8 Hz), 12,49 (1H, sa).
- 11) A una solución acuosa (105 ml) de clorita sódica (7,13 g, 78,8 mmol) y ácido sulfámico (7,65 g, 78,8 mmol), se añadió una solución del compuesto 12 (15,0 g, 39,4 mmol) en tetrahidrofurano (630 ml) bajo refrigeración con hielo, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Tras añadir agua (2.500 ml) a la solución de reacción,
 65

se filtraron los cristales precipitados. El lavado con dietiléter proporcionó ácido 3-benciloxi-5-(4-fluorobencilcarbamoil)-4-hidroxi-piridin-2-carboxílico 13 (14,0 g, 90 %) en forma de un cristal incoloro.

RMN (DMSO-d₆) δ: 4,52 (2H, d, J = 6,8 Hz), 5,13 (2H, s), 7,14-7,19 (2H, m), 7,31-7,40 (5H, m), 7,47-7,49 (2H, m), 8,31 (1H, d, J = 4,5 Hz), 10,44 (1H, t, J = 5,9 Hz), 12,47 (1H, sa).

5 12) Se agitó una solución del compuesto 13 (198 mg, 0,500 mmol), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (115 mg, 0,600 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (81 mg, 0,600 mmol) en dimetilformamida (3 ml) a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Luego se añadieron metanol (3 ml) y trietilamina (153 ul, 1,10 mmol), y se calentó la mezcla a reflujo durante 1,5 horas. Se diluyó la solución de reacción con acetato de etilo, se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, y se lavó el residuo con dietiléter, obteniéndose metiléster de ácido 3-benciloxi-5-(4-fluorobencilcarbamoil)-4-hidroxi-piridin-2-carboxílico 14 (141 mg, 69 %) en forma de un cristal incoloro.

10 RMN (DMSO-d₆) δ: 3,85 (3H, s), 4,52 (2H, d, J = 6,0 Hz), 5,15 (2H, s), 7,13-7,21 (2H, m), 7,31-7,47 (7H, m), 8,33 (1H, s), 10,41 (1H, t, J = 6,0 Hz), 12,59 (1H, sa).

15 13) Tras añadir 3-bromopropeno (2,15 ml, 24,8 mmol) a una solución del compuesto 14 (6,79 g, 16,5 mmol) y carbonato de cesio (8,09 g, 24,8 mmol) en dimetilformamida (54 ml), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4,5 horas. A la solución de reacción, se añadió una solución acuosa de cloruro de amonio, y se extrajo esto con acetato de etilo, se lavó con agua y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida y se lavó el residuo con dietiléter, obteniéndose metiléster de ácido 1-alil-3-benciloxi-5-(4-fluorobencilcarbamoil)-4-oxo-1,4-dihidro-piridin-2-carboxílico 15 (6,15 g, 83 %) en forma de un cristal incoloro.

20 RMN (CDCl₃) δ: 3,76 (3H, s), 4,54 (2H, d, J = 6,0 Hz), 4,60 (2H, d, J = 6,0 Hz), 5,20-5,37 (2H, m), 5,25 (2H, s), 5,80-5,93 (1H, m), 6,98-7,04 (2H, m), 7,31-7,35 (7H, m), 8,45 (1H, s), 10,41 (1H, m).

25 14) A una solución del compuesto 15 (7,6 g, 16,9 mmol) en 1,4-dioxano (228 ml), se añadió una solución acuosa (38 ml) de osmato de potasio dihidratado (372 mg, 1,01 mmol), y se añadió además metaperyodato de sodio (14,5 g, 67,6 mmol), seguido de agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió la solución de reacción a un recipiente al que se había añadido acetato de etilo (300 ml) y agua (300 ml), mientras se agitaba. Se lavó la capa orgánica con agua, una solución acuosa de hidrogenosulfito de sodio al 5 % y una solución acuosa saturada de cloruro sódico, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, y se lavó el residuo con dietiléter, obteniéndose metiléster de ácido 3-benciloxi-5-(4-fluorobencilcarbamoil)-oxo-1-(2-oxo-etil)-1,4-dihidro-piridin-2-carboxílico 16 (15,39 g, 71 %) en forma de un cristal incoloro.

30 RMN (CDCl₃) δ: 3,74 (3H, s), 4,60 (2H, d, J = 5,9 Hz), 4,87 (2H, s), 5,27 (2H, s), 6,98-7,04 (2H, m), 7,30-7,40 (7H, m), 8,39 (1H, s), 9,58 (1H, s), 10,38 (1H, s).

35 15) A una solución del compuesto 16 (400 mg g, 0,884 mmol) en cloruro de metileno (12 ml), se añadieron 2-metoxietilamina (77 ul, 0,884 mmol) y ácido acético (18 ul), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos. Tras ello, se llevó a cabo la reacción a 140 °C durante 30 minutos en un aparato de reacción de microondas. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, se sometió el residuo a cromatografía en columna de gel de sílice, y se concentraron las fracciones eluyendo con tolueno-acetona bajo presión reducida, obteniéndose 4-fluoro-bencilamida de ácido 9-benciloxi-2-(2-metil-etil)-1,8-dioxo-1,8-dihidro-2H-pirid[1,2-a]pirazina-7-carboxílico 17-1 (226 mg, 54 %) en forma de un sólido amarillo.

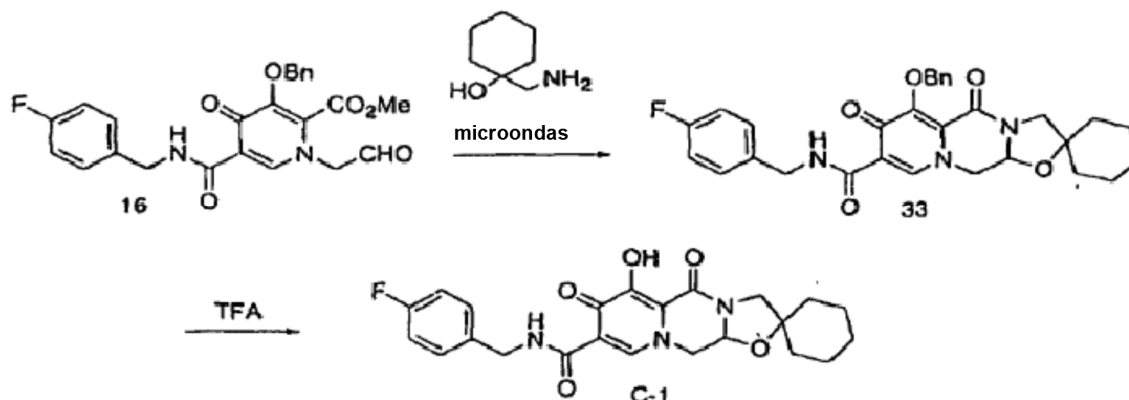
40 RMN (CDCl₃) δ: 3,35 (3H, s), 3,65 (2H, t, J = 5,1 Hz), 3,97 (2H, t, J = 4,5 Hz), 4,63 (2H, d, J = 5,7 Hz), 5,28 (2H, s), 6,56 (2H, m), 7,01 (2H, t, J = 8,7 Hz), 7,38-7,30 (5H, m), 7,65 (2H, d, J = 6,6 Hz), 10,63 (1H, s).

45 16) Al compuesto 17-1 (140 mg, 0,293 mmol), se añadió ácido trifluoroacético (1,4 ml) bajo refrigeración con hielo y se agitó la mezcla a 0 °C durante 5 minutos y luego a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, y esto se diluyó con cloroformo y se añadió a agua con hielo. Se lavó esto con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, una solución acuosa de ácido cítrico al 10 % y agua, y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se separó el disolvente por destilación bajo presión reducida, y se recristalizó el residuo con cloruro de metileno-etanol, obteniéndose el Ejemplo de referencia A-1 (891 mg, 79 %) en forma de un cristal amarillo. Punto de fusión: 223-224 °C.

50 RMN (DMSO-d₆) δ: 3,25 (3H, s), 3,58 (2H, t, J = 5,4 Hz), 3,92 (2H, t, J = 5,1 Hz), 4,53 (2H, d, J = 5,7 Hz), 6,87 (1H, d, 6,3 Hz), 7,14 (2H, t, J = 9,0 Hz), 7,33-7,38 (2H, m), 7,47 (1H, d, J = 6,0 Hz), 8,77 (1H, s), 10,56 (1H, t, J = 6,0 Hz), 12,00 (1H, sa).

Ejemplo de referencia C-1

[Fórmula química 55]



5 1) Se sintetizó un compuesto 33 usando hidroxietilamina de 1-aminometilciclopentanol de acuerdo con el método de síntesis de un compuesto 17-1. RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,30-1,80 (10H, m), 3,47 (1H, d, $J = 11,4$ Hz), 3,61 (1H, d, $J = 11,4$ Hz), 3,80-3,95 (1H, m), 4,30 (1H, dd, $J = 14,7$; 3,0 Hz), 4,60 (2H, d, $J = 5,7$ Hz), 5,17-5,23 (2H, m), 5,39 (1H, d, $J = 9,9$ Hz), 6,95-7,10 (2H, m), 7,20-7,40 (5H, m), 7,58 (2H, d, $J = 7,2$ Hz), 8,41 (1H, s), 10,40 (1H, s).

10 2) Se sintetizó un compuesto 33-2 usando hidroxietilamina de acuerdo con el método similar.
Compuesto 33-2)
4-fluorobencilamida de ácido 5-benciloxi-4,6-dioxo-2,3,4,6,9,9a-hexahidro-1-oxa-3a,8a-diaza-ciclopenta[b]naftalen-7-carboxílico
15 RMN de ^1H (DMSO-d_4) δ : 3,48-3,58 (1H, m), 3,73-3,86 (1H, m), 3,97-4,10 (2H, m), 4,20-4,30 (1H, m), 4,46-4,60 (2H, m), 4,85 (1H, dd, $J = 12,3$; 3,5 Hz), 5,40 (1H, d, $J = 10,2$ Hz), 5,18 (1H, d, $J = 10,2$ Hz), 5,28 (1H, dd, $J = 10,2$; 3,2 Hz), 7,10-7,20 (2H, m), 7,23-7,40 (5H, m), 7,50-7,73 (2H, m), 8,60 (1H, s), 10,22 (1H, m).

20 3) Se sintetizó el Ejemplo de referencia C-1 usando un compuesto 33, de acuerdo con el método de síntesis del Ejemplo de referencia A-1.
Punto de fusión: > 300 °C.
RMN de ^1H (DMSO-d_4) δ : 1,10-1,60 (10H, m), 3,25 (1H, d, $J = 11,4$ Hz), 3,37 (1H, d, $J = 11,4$ Hz), 3,76 (1H, t, $J = 10,5$ Hz), 4,30 (2H, d, $J = 5,8$ Hz), 4,66 (1H, dd, $J = 12,2$; 3,8 Hz), 5,22 (1H, dd, $J = 3,8$; 10,4 Hz), 6,90-6,96 (2H, m), 7,10-7,15 (2H, m), 8,25 (1H, s), 10,10 (1H, sa), 11,32 (1H, sa).

25 El siguiente compuesto se sintetizó usando un método similar.

Ejemplo de referencia C-21)

30 4-Fluorobencilamida de ácido 5-hidroxi-2-metil-6,10-dioxo-3,4,6,9,9a,10-hexahidro-2H-1-oxa-4a,8a-dizaaantraceno-7-carboxílico
RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,27 (3H, d, $J = 6,0$ Hz), 1,56-1,78 (2H, m), 3,11 (1H, td, $J = 12,9$; 3,7 Hz), 3,89-4,00 (1H, m), 4,16 (1H, dd, $J = 13,8$; 3,9 Hz), 4,34 (1H, dd, $J = 13,8$; 3,9 Hz), 4,60 (2H, d, $J = 6,0$ Hz), 4,71 (1H, ddd, $J = 13,5$; 4,8; 1,8 Hz), 5,08 (1H, t, $J = 3,9$ Hz), 6,96-7,04 (2H, m), 7,26-7,35 (2H, m), 8,32 (1H, s), 10,41 (1H, sa), 12,41 (1H, sa).

35 De acuerdo con el mismo modo que el del Ejemplo de referencia C-21, se sintetizó el Compuesto ejemplar 4-3.

Ejemplo Y-3)

40 2,4-difluoro-bencilamida de ácido (4R,9aS)-5-Hidroxi-4-metil-6,10-dioxo-3,4,6,9,9a,10-hexahidro-2H-1-oxa-4a,8a-diaza-antraceno-7-carboxílico
RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,42 (3H, d, $J = 7,0$ Hz), 1,56 (1H, dd, $J = 2,0$; 14,0 Hz), 2,19-2,30 (1H, m), 4,02 (1H, d, $J = 2,2$ Hz), 4,05 (1H, t, $J = 2,3$ Hz), 4,12 (1H, dd, $J = 6,0$; 13,6 Hz), 4,27 (1H, dd, $J = 4,2$; 13,4 Hz), 4,64 (2H, d, $J = 5,9$ Hz), 4,95-5,05 (1H, m), 5,26 (2H, d, $J = 4,1$; 6,8 Hz), 6,75-6,85 (2H, m), 7,30-7,40 (1H, in), 8,30 (1H, s), 10,38 (1H, sa), 12,45 (1H, s).

En la síntesis de Y-3, se usaron los correspondientes derivados de amino-alcohol preparados en la versión ópticamente pura mediante métodos similares a los descritos en los siguientes documentos.

50 El 3-amino-2-metil-propan-1-ol y 4-amino-butan-2-ol se prepararon de acuerdo con el método de Russell A. Barrow

(*J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 2479-2490). El 3-amino-butan-1-ol se preparó de acuerdo con el método de P. Besse (*Tetrahedron Asymmetry* 10(1999) 2213-2224).

Ejemplo experimental 1

Se investigó la actividad inhibidora de la integrasa del VIH en base al siguiente método de ensayo.

(1) Preparación de la solución de ADN

Mediante el mismo método que el descrito en el Ejemplo experimental 1 del documento WO 2004/024693, se prepararon una solución de sustrato de ADN (2 pmol/ μ l) y una solución de ADN diana (5 pmol/ μ l). Tras hervir cada solución de ADN diana una vez, se redujo lentamente la temperatura para templar las cadenas complementarias, que se usaron. Cada secuencia de un sustrato de ADN y un ADN diana es como se describe en el mismo Ejemplo experimental.

(2) Medición de la velocidad de inhibición (valor de CI_{50})

Se disolvió estreptavidina (fabricada por Vector Laboratories) en una solución tampón de carbonato 0,1 M (composición: Na_2CO_3 90 mM, $NaHCO_3$ 10 mM) hasta una concentración de 40 μ g/ml. Se añadieron cada 50 μ l de esta solución a un pocillo de una inmunoplaaca (fabricada por NUNC), se dejó reposar esto a 4 °C durante una noche para que se adsorbiera. Luego, se lavó cada pocillo con un tampón de fosfato (composición: NaCl 13,7 mM, KCl 0,27 mM, Na_2HPO_4 0,43 mM, KH_2PO_4 0,14 mM) dos veces y 300 μ l de un tampón de fosfato que contenía leche desnatada al 1 % para bloquearlo durante 30 minutos. Además, se lavó cada pocillo con un tampón de fosfato dos veces, se añadieron 50 μ l de una solución de sustrato de ADN (2 pmol/ μ l) para adsorberse a temperatura ambiente durante 30 minutos mientras se agitaba, y se lavó esto con un tampón de fosfato dos veces y, a continuación, agua destilada una vez.

A continuación, a cada pocillo preparado como se ha descrito anteriormente, se añadieron 12 μ l de un tampón (composición: MOPS 150 mM (pH 7,2), $MnCl_2$ 75 mM, 2-mercaptoetanol 50 mM, glicerol al 25%, 500 μ g/ml de fracción V de albúmina de suero bovino) y 51 μ l de una solución de reacción preparada a partir de 39 μ l de agua destilada. A continuación, se añadieron 9 μ l de una solución de integrasa (30 pmol), y se mezcló bien la mezcla. A un pocillo como control negativo (CN), se añadieron 9 μ l de una solución de dilución (composición: MOPS 20 mM (pH 7,2), glutamato de potasio 400 mM, EDTA 1 mM, NP-40 al 0,1 %, glicerol al 20 %, DTT 1 mM, urea 4 M), y se mezcló bien esto usando un mezclador de placas.

Tras incubar la placa a 30 °C durante 60 minutos, se desechó la solución de reacción, tras lo que se lavó con 250 μ l de un tampón de lavado (composición: MOPS 150 mM (pH 7,2), 2-mercaptoetanol 50 mM, glicerol al 25 %, 500 μ g/ml de fracción V de albúmina de suero bovino) tres veces.

A continuación, se añadieron a cada pocillo 12 μ l de un tampón (composición: MOPS 150 mM (pH 7,2), $MgCl_2$ 75 mM, 2-mercaptoetanol 50 mM, glicerol al 25 %, 500 μ g/ml de fracción V de albúmina de suero bovino) y 53 μ l de una solución de reacción preparada a partir de 41 μ l de agua destilada. Después, se añadieron 6 μ l de una solución de un compuesto de prueba en DMSO a cada pocillo y se añadieron 6 μ l de DMSO a un pocillo como un control positivo (CP), tras lo que se mezcló bien usando un mezclador de placas. Tras incubar la placa a 30 °C durante 30 minutos, se añadió 1 μ l de un ADN diana (5 pmol/ μ l), y se mezcló bien esto usando un mezclador de placas.

Tras incubar cada placa a 30 °C durante 10 minutos, se desechó la solución de reacción, tras lo que se lavó con un tampón de fosfato dos veces. Entonces, se diluyó un anticuerpo anti-digoxigenina marcado con fosfatasa alcalina (fragmento Fab de oveja: fabricado por Boehringer) 2.000 veces con una solución de dilución de anticuerpos, se añadieron 100 μ l de diluyente para que se uniera a 30 °C durante 1 hora, y esto se lavó sucesivamente con un tampón de fosfato que contenía Tween 20 al 0,05 % dos veces, y un tampón de fosfato una vez. A continuación, se añadieron 150 μ l de un tampón colorante de fosfatasa alcalina (composición: fosfato de paranitrofenilo 10 mM (fabricado por Vector Laboratories), $MgCl_2$ 5 mM, NaCl 100 mM, Tris-HCl 100 mM (pH 9,5)) para que reaccionara a 30 °C durante 2 horas, se añadieron 50 μ l de una solución de NaOH 1 N para detener la reacción, se midió una absorbancia (DO_{405nm}) de cada pocillo, y se obtuvo una velocidad de inhibición (CI_{50}) de acuerdo con la siguiente ecuación de cálculo.

$$\text{Velocidad de inhibición (\%)} = 100[1 - \{(C \text{ abs.} - CN \text{ abs.}) / (CP \text{ abs.} - CN \text{ abs.})\}]$$

C abs.: absorbancia del pocillo de compuesto

CN abs.: absorbancia del CN

CP abs.: absorbancia del CP

El presente compuesto mostró una potente acción inhibidora de la integrasa contra el VIH.

Ejemplo experimental 2

5 Para el ensayo, se usó un derivado de células 293T que expresaba un factor de unión para mejorar la adherencia al plástico. Se produjo un vector del VIH de pseudotipo VSV-g que expresa luciferasa (denominado en la presente memoria PHIV) por transfección de células con el plásmido del vector pGJ3-Luci (Jármy, G. *et al.*, *J. Medical Virology*, 64:223-231, 2001) y pVSV-g (Clontech). Se mezclaron las células con el vector PVIH y luego se mezclaron con compuestos diluidos en serie. Después de la incubación a 37 °C y CO₂ al 5 % durante dos días, se leyeron las placas usando el reactivo de ensayo de luciferasa Steady Glo (Promega) según las recomendaciones del fabricante.

10 Para evaluar la inhibición no específica de VIH, se realizó un ensayo similar, a excepción del reemplazo de la mezcla de células/vector PHIV por células que habían sido previamente transducidas y luciferasa expresada constitutivamente.

Ejemplo de formulación

15 La expresión “ingrediente activo” significa el presente compuesto, un tautómero del mismo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o un solvato del mismo.

(Ejemplo de formulación 1)

20 Se prepara una cápsula de gelatina dura usando los siguientes ingredientes:

	Dosis (mg/cápsula)
Ingrediente activo	250
Almidón (secado)	200
Estearato de magnesio	10
Total	460 mg

(Ejemplo de formulación 2)

25 Se prepara un comprimido usando los siguientes ingredientes

	Dosis (mg/comprimido)
Ingrediente activo	250
Celulosa (microcristalina)	400
Dióxido de silicio (ahumado)	10
Ácido esteárico	5
Total	665 mg

30 Se mezclan los ingredientes y se comprimen, obteniéndose comprimidos, cada uno de los cuales con un peso de 665 mg.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un compuesto que es 2,4-difluoro-bencilamida de ácido (4R,9aS)-5-hidroxi-4-metil-6,10-dioxo-3,4,6,9,9a,10-hexahidro-2H-1-oxa-4a,8a-diaza-antraceno-7-carboxílico, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de la misma.
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio.
- 10 3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según lo definido en la reivindicación 1 o 2, o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
4. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, que es un agente contra el VIH.
- 15 5. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 3, donde dicha composición comprende al menos un agente terapéutico más seleccionado de entre inhibidores de la transcriptasa inversa e inhibidores de la proteasa.
6. Un compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 1 o 2 para su uso en un método para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.
- 20 7. Un compuesto según lo reivindicado en la reivindicación 1 o 2 para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH.