

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 525 007**

51 Int. Cl.:

C07H 19/10 (2006.01)

A61K 31/7072 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2009 E 09764845 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.09.2014 EP 2373671**

54 Título: **Nucleósidos ciclopropílicos de uracilo**

30 Prioridad:

08.12.2008 EP 08171006

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

17.12.2014

73 Titular/es:

**JANSSEN PRODUCTS, L.P. (50.0%)
800/850 Ridgeview Drive
Horsham PA 19044 , US y
MEDIVIR AB (50.0%)**

72 Inventor/es:

**JONCKERS, TIM HUGO MARIA;
RABOISSON, PIERRE JEAN-MARIE BERNARD;
VAN HOOF, STEVEN MAURICE PAULA;
VANDEKERCKHOVE, LEEN ANNA MARIA y
VANDYCK, KOEN**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 525 007 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

Nucleósidos ciclopropílicos de uracilo

5 Campo técnico

Esta invención se refiere a nuevos nucleósidos, que son inhibidores de la polimerasa del virus de la hepatitis C (HCV), y a su uso en el tratamiento o profilaxis del HCV.

10 Antecedentes de la invención

15 El HCV es un virus de ARN monocatenario de sentido positivo, que pertenece a la familia de virus *Flaviviridae* en el género hepacivirus. La región NS5B del polígén de ARN codifica una ARN polimerasa dependiente de ARN (RdRp), que es esencial para la replicación viral. Tras la infección aguda inicial, una mayoría de los individuos infestados desarrolla hepatitis crónica, debido a que el HCV se replica preferentemente en hepatocitos, pero no es directamente citotático. En particular, la falta de una respuesta de linfocitos T vigorosa y la elevada propensión del virus a mutar parecen promover una elevada tasa de infección crónica. La hepatitis crónica puede progresar a fibrosis hepática, conduciendo a cirrosis, enfermedad hepática de fase terminal, y HCC (carcinoma hepatocelular), convirtiéndola en la causa líder de los trasplantes de hígado.

20 Existen seis genotipos principales de HCV y más de 50 subtipos, que están distribuidos geográficamente de modo diferente. El genotipo 1 del HCV es el genotipo predominante en Europa y en los Estados Unidos de América. La amplia heterogeneidad genética del HCV tiene implicaciones diagnósticas y clínicas importantes, explicando quizás las dificultades en el desarrollo de vacunas y la falta de respuesta a la terapia.

25 La transmisión del HCV puede ocurrir por contacto con sangre o productos de sangre contaminados, por ejemplo después de transfusiones de sangre o uso de fármacos intravenosos. La introducción de ensayos de diagnóstico usados en la selección de sangre ha conducido a una tendencia decreciente en la incidencia del HCV post-transfusión. Sin embargo, dada la lenta progresión hasta la enfermedad hepática de fase terminal, las infecciones existentes continuarán presentando una carga médica y económica importante durante décadas.

30 Las terapias actuales del HCV están basadas en interferón alfa (IFN- α) (pegilado) en combinación con ribavirina. Esta terapia de combinación proporciona una respuesta virológica sostenida en más del 40% de los pacientes infectados por HCV de genotipo 1 y aproximadamente 80% de los infectados por los genotipos 2 y 3. Además de la eficacia limitada sobre el genotipo 1 del HCV, esta terapia de combinación tiene efectos secundarios importantes y es deficientemente tolerada en muchos pacientes. Los efectos secundarios principales incluyen síntomas parecidos a la gripe, anormalidades hematológicas, y síntomas neuropsiquiátricos. Por tanto, existe la necesidad de tratamientos más eficaces, convenientes y mejor tolerados.

40 La experiencia con fármacos para el VIH, y en particular inhibidores de la proteasa del VIH, ha enseñado que una farmacocinética insuficiente y regímenes de dosificación complejos dan rápidamente como resultado fracasos accidentales en el cumplimiento terapéutico. Esto significa a su vez que la concentración mínima en 24 horas (concentración plasmática mínima) para los fármacos respectivos en un régimen para el VIH frecuentemente cae por debajo del umbral de CI_{90} o DE_{90} la mayor parte del día. Se considera que una concentración mínima en 24 horas de al menos la CI_{50} , y más realísticamente, la CI_{90} o DE_{90} , es esencial para ralentizar el desarrollo de mutantes de escape al fármaco. Lograr la farmacocinética necesaria y el metabolismo del fármaco para permitir dichas concentraciones mínimas plantea un desafío exigente al diseño de fármacos.

50 La RdRp de NS5B es esencial para la replicación del genoma de ARN de HCV monocatenario, de sentido positivo. Esta enzima ha provocado un interés importante entre los químicos farmacéuticos. Se conocen inhibidores tanto nucleósidos como no nucleósidos de NS5B. Los inhibidores nucleósidos pueden actuar como un terminador de la cadena o como un inhibidor competitivo, que interfieren en la unión del nucleótido a la polimerasa. Para que funcione como un terminador de la cadena, el análogo de nucleósido ha de ser absorbido por la célula y convertido *in vivo* en un trifosfato. Esta conversión en el trifosfato está mediada habitualmente por cinasas celulares que imparten requisitos estructurales adicionales a un potencial inhibidor nucleósido de la polimerasa. Además, esto limita la evaluación directa de nucleósidos como inhibidores de la replicación del HCV a ensayos basados en células, capaces de fosforilación *in situ*.

60 Se han realizado varios intentos para desarrollar nucleósidos como inhibidores de RdRP del HCV, pero mientras que un puñado de compuestos ha entrado en desarrollo clínico, ninguno de ellos ha proseguido todo el camino hasta su registro. Entre los problemas con los que se han topado hasta la fecha los nucleósidos dirigidos contra el

HCV se encuentran la toxicidad, mutagenicidad, falta de selectividad, mala eficacia, mala biodisponibilidad, regímenes de dosificación sub-óptimos, que resultan en una elevada carga de pastillas, y en los costes de los artículos.

5 Varias patentes y solicitudes de patentes, así como publicaciones científicas, describen análogos de nucleósidos que tienen actividad inhibidora del HCV. El documento WO 2004/002999 describe profármacos 2' y 3'-nucleosídicos modificados para tratar infecciones por flaviridae. El documento WO 2008/043704 describe 4-amino-1-((2R,3S,4S,5R)-5-azido-4-hidroxi-5-hidroxi-metil-3-metil-tetrahidrofuran-2-il)-1H-pirimidin-2-ona y derivados de éster como inhibidores de la polimerasa del HCV.

10 Existe la necesidad de inhibidores del HCV que puedan superar las desventajas de la terapia actual del HCV, tales como los efectos secundarios, la eficacia limitada, la aparición de resistencia, y los fracasos en el cumplimiento terapéutico, así como mejorar la respuesta viral sostenida.

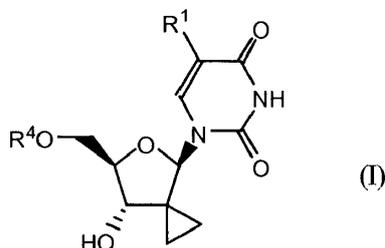
15 La presente invención se refiere a un grupo de derivados de 1-(7-hidroxi-6-hidroximetil-5-oxaespиро[2.4]hept-4-il)-1H,3H-pirimidina-2,4-diona inhibidores de HCV con propiedades útiles en relación con uno o más de los siguientes parámetros: eficacia antiviral, perfil favorable de desarrollo de resistencia, falta de toxicidad y genotoxicidad, farmacocinética y farmacodinámica favorables, y facilidad de formulación y administración. El compuesto 1-((4R,6R,7S)-7-hidroxi-6-hidroximetil-5-oxa-espиро[2.4]hept-4-il)-1H,3H-pirimidin-2,4-diona, también denominado 2'-deoxi-2'-espиро-ciclopropiluridina, se ha descrito en J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 4007-4008.

20 Compuestos de la invención también pueden ser atractivos debido al hecho de que carecen de actividad frente a otros virus, en particular frente a HIV. Pacientes infectados con el HIV padecen a menudo co-infecciones tales como HCV. El tratamiento de este tipo de pacientes con un inhibidor del HCV, que también inhibe HIV, puede conducir a la aparición de cepas del HIV resistentes.

Descripción de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos que pueden representarse por la formula I:

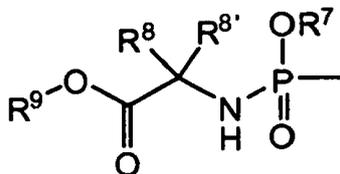
30



incluyendo cualesquiera estereoisómeros posibles de los mismos, en los que:

35 R¹ es hidrógeno o halo;

R⁴ es un éster de monofosfato, difosfato o trifosfato; o R⁴ es un grupo de fórmula



40 R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 o con 3 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alcoxicarbonilo de C₁-C₆, hidroxilo y amino; o R⁷ es naftilo; o R⁷ es indolilo, o N-alquil C₁-C₆-oxi-carbonilindolilo;

45 R⁸ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, bencilo;

R^{8'} es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, bencilo; o

R⁸ y R^{8'}, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman cicloalquilo de C₃-C₇;

5 R⁹ es alquilo de C₁-C₁₀, cicloalquilo de C₃-C₇, alquenilo de C₃-C₆, bencilo, o fenilo, fenilo el cual puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente de hidroxilo, alcoxi de C₁-C₆, amino, mono- y di-alquil C₁-C₆-amino;

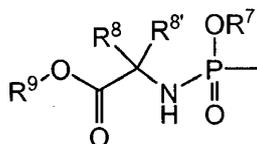
o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato.

10 En un aspecto adicional, la invención se refiere al uso de compuestos de fórmula I, tal como se especifica aquí, para inhibir HCV. Alternativamente, se proporciona el uso para la fabricación de un medicamento de un compuesto de fórmula I, como se especifica aquí. La invención también se refiere al procedimiento para fabricar compuestos de fórmula I, partiendo de un intermedio que tiene la estructura representada anteriormente, pero en la que R⁴ es hidrógeno.

15 El grupo -NH-C(R⁸)(R^{8'})-C(=O)- forma un resto de aminoácido, el cual incluye restos de aminoácidos naturales y no naturales. De interés particular aquellos restos de aminoácidos en los que R⁸ es hidrógeno. Cuando en el último caso R⁸ sea distinto de hidrógeno, la configuración en el átomo de carbono asimétrico puede ser la de un L-aminoácido. Ejemplos son restos de alanina (Ala), valina (Val), isoleucina (Ile), y fenilalanina (Phe), en particular L-Ala, L-Val, L-Ile, y L-Phe. Ejemplos de restos de aminoácido en los que R⁸ y R^{8'} junto con el átomo de carbono al que están unidos forman cicloalquilo de C₃-C₇, es 1,1-ciclopropilaminoácido o 1,1-ciclobutilaminoácido.

Los subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que R¹ es hidrógeno; o en los que R¹ es yodo.

25 Los subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que R⁴ es un grupo de fórmula



30 Los subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que:

35 (a) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, hidroxilo, y amino; o R⁷ es naftilo; o R⁷ es indolilo; o R⁷ es N-t.butiloxicarbonilindolilo.

(b) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₃-C₆, y alcoxi de C₁-C₆; o R⁷ es naftilo;

40 (c) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con halo o alquilo de C₁-C₆, o R⁷ es naftilo;

(d) R⁷ es fenilo, sustituido con alquil C₁-C₄-oxicarbonilo;

45 (e) R⁷ es fenilo, sustituido con alquil C₁-C₂-oxicarbonilo;

(f) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con cloro o alquilo de C₁-C₆; o R⁷ es naftilo;

(g) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo y alquilo de C₁-C₆;

50 (h) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1 ó 2 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, hidroxilo, y amino; o R⁷ es naftilo, o R⁷ es indolilo; o R⁷ es N-t.butiloxicarbonilindolilo;

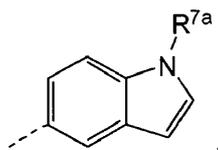
55 (i) R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, hidroxilo, y amino; o R⁷ es naftilo; o R⁷ es indolilo, o R⁷ es N-t.butiloxicarbonilindolilo;

(j) R^7 es fenilo, opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de halo, alquilo de C_1-C_6 , alqueno de C_3-C_6 , y alcoxi de C_1-C_6 ;

(k) R^7 es naftilo,

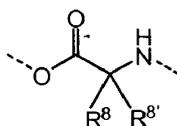
(l) R^7 es 5-indolilo o *N*-t.butiloxicarbonil-5-indolilo.

En una realización, el grupo R^7 , que es indolilo en los compuestos de fórmula I o cualquiera de los subgrupos de los mismos, es 5-indolilo, o el grupo R^7 , que es *N*-alquil C_1-C_6 -oxicarbonil-indolilo, es *N*-t.butiloxicarbonil-5-indolilo, en particular *N*-t.butiloxicarbonil-5-indolilo. El grupo indolilo, cuando está enlazado en su posición 5, se puede representar como sigue:



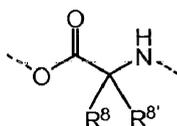
en la que R^{7a} es hidrógeno o alquil C_1-C_6 -oxi-carbonilo, o en particular, R^{7a} es hidrógeno o t.butiloxicarbonilo.

Los subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es metilo o alquilo de C_1-C_6 , tal como isopropilo o isobutilo. Subgrupos de fórmula I son aquellos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que el resto

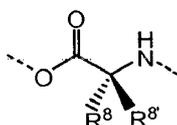


es glicilo, alanilo, o valilo (Gly, Ala, o Val; en particular Gly, L-Ala, o L-Val).

Los subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que el resto



tiene la estructura



en la que R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 , bencilo; o

R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es hidrógeno o alquilo de C_1-C_6 ;

R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es alquilo de C_1-C_2 ;

R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es metilo.

En una realización, R^8 y $R^{8'}$, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman cicloalquilo de C_3-C_7 ; o forman en particular cicloalquilo de C_3-C_4 ; o forman en particular ciclopropilo.

Subgrupos de compuestos de fórmula I son aquellos compuestos de fórmula I, o subgrupos de compuestos de fórmula I, como se definen aquí, en los que

(a) R⁹ es alquilo de C₁-C₁₀, cicloalquilo de C₃-C₇, alqueno de C₃-C₆, o bencilo;

(b) R⁹ es alquilo de C₁-C₈, o bencilo;

(c) R⁹ es alquilo de C₁-C₆ o bencilo;

(d) R⁹ es alquilo de C₁-C₆;

(e) R⁹ es alquilo de C₁-C₄; o

(f) R⁹ es metilo, etilo, isopropilo, 1-metil-propilo, isobutilo, butilo, o t-butilo;

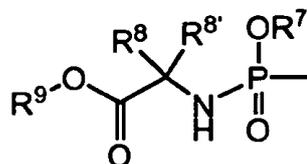
(g) R⁹ es bencilo;

(h) R⁹ es ciclopentilo; 5-hexenilo; 2,2-dimetil-butilo; octilo; 2-propil-pentilo.

De interés son los compuestos mencionados en la parte experimental y las sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de ellos. De particular interés son los compuestos n^{os} 1, 3, 5, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, enumerados en la parte experimental.

Los compuestos de fórmula I tienen varios centros de quiralidad, en particular en los átomos de carbono 1', 3' y 4'. Aunque la estereoquímica en estos átomos de carbono es fija, los compuestos pueden presentar al menos un 75%, preferiblemente al menos un 90%, tal como un exceso de 95%, de pureza enantiomérica en cada uno de los centros quirales.

La quiralidad también puede estar presente en los sustituyentes, tal como cuando R⁴ es



que puede tener quiralidad en el carbono que porta R⁸ (cuando R⁸ y R^{8'} sean diferentes) y en el átomo de fósforo. El centro de fósforo puede estar presente como R_P o S_P, o una mezcla de dichos estereoisómeros, incluidos racematos. Asimismo pueden existir diastereoisómeros que resultan del centro de fósforo quiral y un átomo de carbono quiral.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato, o solvato del mismo, para uso en el tratamiento o profilaxis (o para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis) de una infección por HCV. Genotipos del HCV representativos en el contexto del tratamiento o profilaxis de acuerdo con la invención incluyen el genotipo 1b (que predomina en Europa) o 1a (que predomina en Norteamérica). La invención también proporciona un método para el tratamiento o profilaxis de una infección por HCV, en particular del genotipo 1a o 1b.

Los compuestos de fórmula I se representan como un estereoisómero definido. La configuración absoluta de tales compuestos se puede determinar usando métodos conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, difracción de rayos X o RMN y/o implicación a partir de materiales de partida de estereoquímica conocida. Composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención comprenderán preferiblemente preparaciones sustancialmente estereoisoméricamente puras del estereoisómero indicado.

Formas estereoisoméricas puras de los compuestos e intermedios como se mencionan aquí se definen como isómeros sustancialmente libres de otras formas enantioméricas o diastereoméricas de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o intermedios. En particular, la expresión "estereoisoméricamente puros" se refiere a compuestos o intermedios que tienen un exceso estereoisomérico de al menos 80% (es decir, 90% mínimo de un isómero y 10% máximo de los otros isómeros posibles) hasta un exceso estereoisomérico de 100% (es decir, 100% de un isómero y ninguno del otro), más en particular, compuestos o intermedios con un exceso estereoisomérico de 90% hasta 100%, incluso más en particular, que tienen un exceso estereoisomérico de 94% hasta 100%, y lo más particularmente, que tienen un exceso estereoisomérico de 97% hasta 100%. Las

expresiones “enantioméricamente puros” y “diastereoméricamente puros” deberían entenderse de una manera similar, pero entonces teniendo en cuenta el exceso enantiomérico y el exceso diastereomérico, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

5 Formas estereoisoméricas puras de los compuestos e intermedios de esta invención se pueden obtener mediante la aplicación de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los enantiómeros se pueden separar uno de otro mediante la cristalización selectiva de sus sales diastereoméricas con ácidos o bases ópticamente activos. Ejemplos de los mismos son ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido ditoluitartárico y ácido canfosulfónico. Alternativamente, los enantiómeros se pueden separar por técnicas cromatográficas usando fases estacionarias quirales. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también se pueden derivar de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, con la condición de que la reacción se produzca de manera estereoespecífica. Preferiblemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetiza por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

10 Los racematos diastereoméricos de los compuestos de fórmula I se pueden obtener por separado por métodos convencionales. Métodos de separación física apropiados que se pueden emplear ventajosamente son, por ejemplo, cristalización selectiva y cromatografía, por ejemplo cromatografía en columna.

20 Las sales por adición farmacéuticamente aceptables comprenden las formas terapéuticamente activas de sales de adición de ácidos y bases no tóxicos de los compuestos de fórmula (I). De interés son las formas libres, es decir, no salinas, de los compuestos de fórmula I, o de cualquier subgrupo de compuestos de fórmula I especificados aquí.

25 Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse convenientemente tratando la forma de base con tal ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos halohídricos por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácidos acético, propiónico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico (es decir, ácido hidroxilbutanodioico), tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, cicláxico, salicílico, *p*-aminosalicílico, pamoico y similares. A la inversa, dichas formas de sal se pueden convertir mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

30 Los compuestos de fórmula (I) que contienen un protón ácido también se pueden convertir en sus formas no tóxicas de sales de adición de metales o de aminas mediante tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Formas de sales de bases apropiadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalino-térreos, por ejemplo, las sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo las sales benzatina, *N*-metil-D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos tales, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

40 El término “solvato” cubre cualesquiera solvatos farmacéuticamente aceptables que los compuestos de fórmula I así como las sales de los mismos sean capaces de formar. Tales solvatos son, por ejemplo, hidratos, alcoholatos, por ejemplo etanolatos, propanolatos y similares.

45 Algunos de los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Por ejemplo, formas tautoméricas de grupos amida (-C(=O)-NH-) son iminoalcoholes (-C(OH)=N-), que pueden ser estabilizados en anillos con carácter aromático. La base uridina es un ejemplo de una forma de este tipo. Tales formas, aunque no se indica explícitamente en las fórmulas estructurales representadas aquí, están destinadas a ser incluidas dentro del alcance de la presente invención.

50 Tal como se usa aquí, “alquilo de C₁-C₄”, como un grupo o parte de un grupo, define radicales hidrocarbonados de cadena lineal o ramificada, saturados, que tienen de 1 a 4 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-1-propilo, 2-metil-2-propilo. “Alquilo de C₁-C₆” engloba radicales alquilo de C₁-C₄ y sus homólogos superiores que tienen 5 ó 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 1-pentilo, 2-pentilo, 3-pentilo, 2,2-dimetilpropilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 2-metil-1-butilo, 2-metil-1-pentilo, 2-etil-1-butilo, 3-metil-2-pentilo y similares. De interés entre alquilo de C₁-C₆ es alquilo de C₁-C₄. “Alquilo de C₁-C₁₀” engloba radicales alquilo de C₁-C₆ y sus homólogos superiores que tienen 7, 8, 9 ó 10 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, heptilo, 2-heptilo, 3-heptilo, 2-metilhexilo, octilo, 2-octilo, 3-octilo, nonilo, 2-nonilo, 3-nonilo, 2-butilpentilo, decilo, 2-decilo y similares. De interés entre alquilo de C₁-C₁₀ es alquilo de C₁-C₆.

60 “Alcoxi de C₁-C₆” significa un radical -O-alquilo de C₁-C₆, en el que alquilo de C₁-C₆ es como se define

anteriormente. Ejemplos de alcoxi de C₁-C₆ son metoxi, etoxi, n-propoxi o isopropoxi.

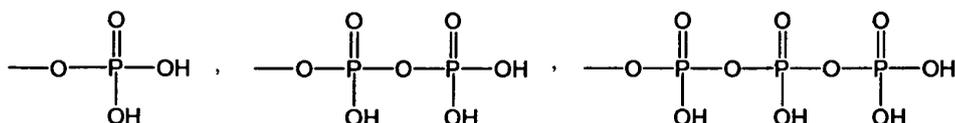
“Cicloalquilo de C₃-C₇” incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. De interés es ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

5 El término “alqueno de C₃₋₆”, como un grupo o parte de un grupo, define radicales hidrocarbonados de cadena lineal o ramificada que tienen enlaces carbono-carbono saturados y al menos un doble enlace, y que tienen de 3 a 6 átomos de carbono, tales como, por ejemplo, 1-propenilo, 2-propenilo (o aliilo), 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 2-metil-2-propenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, 2-metil-2-butenilo, 2-metil-2-pentenilo y similares. En una realización, el átomo de carbono que enlaza el grupo alqueno de C₃₋₆ al resto de la molécula está saturado. De interés entre alqueno de C₃₋₆ es alqueno de C₃₋₄. De interés entre alqueno de C₃₋₆ o alqueno de C₃₋₄ son aquellos radicales que tienen un doble enlace.

15 El término “halo” es genérico para flúor, cloro, bromo y yodo.

Tal como se usa aquí, el término “(=O)” u “oxo” forma un resto carbonilo cuando está unido a un átomo de carbono. Debe señalarse que un átomo sólo puede estar sustituido con un grupo oxo cuando la valencia de ese átomo así lo permite.

20 La expresión “éster de monofosfato, difosfato o trifosfato” se refiere a grupos:



25 Como se usa aquí, las posiciones de un radical en cualquier resto molecular usado en las definiciones pueden estar en cualquier parte sobre tal resto, en tanto que sea químicamente estable. Cuando cualquier variable está presente más de una vez en cualquier resto, cada definición es independiente.

30 Siempre que se use aquí, la expresión “compuestos de fórmula I”, o “los presentes compuestos”, o términos o expresiones similares, pretenden incluir los compuestos de fórmula I, incluyendo las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, y sus sales farmacéuticamente aceptables y solvatos.

35 La presente invención también incluye compuestos de fórmula I o cualquier subgrupo de fórmula I marcados con isótopos, en los que uno o más de los átomos está sustituido por un isótopo que difiere del o de los típicamente encontrados en la naturaleza. Ejemplos de tales isótopos incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ²H y ³H; carbono, tales como ¹¹C, ¹³C y ¹⁴C; nitrógeno, tales como ¹³N y ¹⁵N; oxígeno, tales como ¹⁵O, ¹⁷O y ¹⁸O; fósforo, tales como ³¹P y ³²P; azufre, tal como ³⁵S; flúor, tal como ¹⁸F; cloro, tal como ³⁶Cl; bromo, tal como ⁷⁵Br, ⁷⁶Br, ⁷⁷Br y ⁸²Br; y yodo, tal como ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I y ¹³¹I. Los compuestos de la invención marcados con isótopos se pueden preparar mediante procedimientos análogos a los descritos aquí usando los reactivos o materiales de partida apropiados marcados con isótopos, o mediante técnicas conocidas en la técnica. La elección del isótopo incluido en un compuesto marcado con isótopos depende de la aplicación específica de ese compuesto. Por ejemplo, para ensayos de distribución en tejidos, se incorpora un isótopo radiactivo tal como ³H o ¹⁴C. Para aplicaciones de formación de radio-imágenes, será útil un isótopo que emita positrones, tal como ¹¹C, ¹⁸F, ¹³N u ¹⁵O. La incorporación de deuterio puede proporcionar una mayor estabilidad metabólica, dando como resultado, por ejemplo, una mayor semivida in vivo del compuesto, o menores requisitos de dosificación.

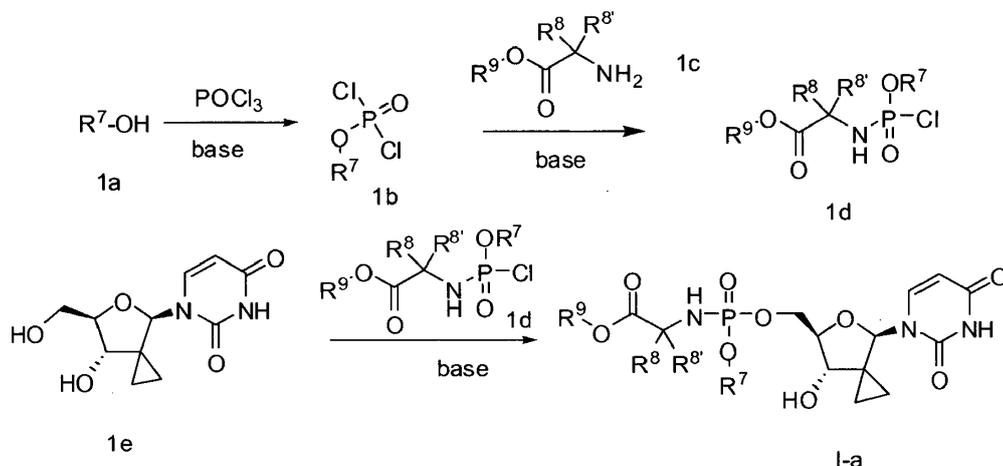
45 Métodos sintéticos generales

El material de partida 2'-desoxi-2'-espirociclopropiluridina se puede preparar como se describe en J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 4007-4008. Los compuestos de fórmula I en la que R⁴ es un grupo



se pueden preparar haciendo reaccionar este material de partida con un éster de ácido fosforamidoclorídico 1d.

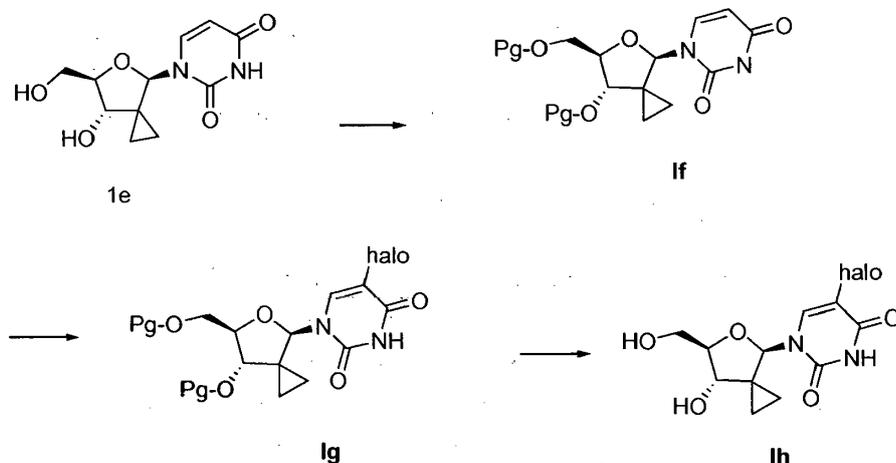
Este último se puede preparar haciendo reaccionar un alcohol 1a con POCl₃ en presencia de una base, obteniendo así dicloruro de fosforilo 1b, que se hace reaccionar adicionalmente con el aminoácido 1c.



Los compuestos de fórmula I en la que R¹ es halo se pueden preparar convirtiendo en primer lugar el intermedio 1e en su forma hidroxi-prottegida 1f, que subsiguientemente se halogena a 1g, por ejemplo con N-halosuccinimida, por ejemplo con N-yodosuccinimida a 1h. Los grupos protectores de hidroxi adecuados son grupos sililo alquilados, en particular grupos sililo alquilados estéricamente impedidos tales como t.butildimetilsililo, triisopropilsililo, o un grupo 1,1,3,3-tetraisopropil-disiloxano-1,3-diilo (TIPDS). Estos grupos se introducen haciendo reaccionar los alcoholes de partida con el derivado de cloruro de sililo apropiado, y se pueden eliminar después con un compuesto de fluoruro, tal como fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF), produciendo los compuestos 1h. Estas reacciones se representan en el siguiente esquema, en el que Pg es un grupo protector de hidroxi tal como los grupos sililo mencionados anteriormente.

10

15



En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I como se especifica aquí, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Una cantidad terapéuticamente eficaz, en este contexto, es una cantidad suficiente para actuar de un modo profiláctico frente a una infección por HCV, para estabilizar o para reducir una infección por HCV, en sujetos infectados o sujetos que están en riesgo de ser infectados. Todavía en un aspecto adicional, esta invención se refiere a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica como se especifica aquí, que comprende mezclar íntimamente un vehículo farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, como se especifica aquí.

30

Por lo tanto, los compuestos de la presente invención, o cualquier subgrupo de los mismos, se pueden formular en diversas formas farmacéuticas para fines de administración. Como composiciones apropiadas, se pueden citar todas las composiciones empleadas habitualmente para administrar fármacos sistémicamente. Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal por adición o complejo metálico, como ingrediente activo, se combina en mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, vehículo el cual puede adoptar una amplia diversidad de formas

dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseables en forma de dosificación unitaria adecuada, particularmente para la administración por vía oral, rectal, percutánea, o mediante inyección parenteral. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tal como, por ejemplo, 5 agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y disoluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas de dosificación unitarias orales más ventajosas, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para 10 composiciones parenterales, el vehículo comprenderá habitualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Se pueden preparar, por ejemplo, disoluciones inyectables, en las que el vehículo comprende disolución salina, disolución de glucosa o una mezcla de disolución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. También se incluyen preparaciones en forma sólida destinados a ser convertidos, poco antes del uso, en preparaciones en forma líquida. En las 15 composiciones adecuadas para la administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, aditivos los cuales no introducen un efecto perjudicial significativo en la piel. Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar a través de inhalación oral o insuflación en forma de una disolución, una suspensión o un polvo seco, usando cualquier sistema de suministro conocido en la técnica.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas antes mencionadas en forma de dosificación unitaria por facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma de dosificación unitaria, 25 como se usa aquí, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosificación unitaria son comprimidos (incluidos comprimidos ranurados o revestidos), cápsulas, píldoras, supositorios, paquetes de polvo, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiples segregados de los mismos. 30

Los compuestos de fórmula I muestran actividad frente a HCV, y se pueden usar en el tratamiento y profilaxis de una infección por HCV o enfermedades asociadas con el HCV. Estas últimas incluyen fibrosis hepática progresiva, inflamación y necrosis que conduce a cirrosis, enfermedad hepática de fase terminal, y HCC. Además, se cree que 35 un cierto número de los compuestos de esta invención son activos frente a cepas mutadas de HCV. Adicionalmente, muchos de los compuestos de esta invención muestran un perfil farmacocinético favorable y tienen propiedades atractivas en términos de biodisponibilidad, incluyendo una semivida aceptable, valores de AUC (área bajo la curva) y pico, y carecen de fenómenos desfavorables tales como un inicio rápido insuficiente y una retención en los tejidos. 40

La actividad antiviral *in vitro* frente a HCV de los compuestos de fórmula I se puede someter a ensayo en un sistema de replicón de HCV celular basado en Lohmann et al. (1999) Science 285:110-113, con las modificaciones adicionales descritas por Krieger et al. (2001) Journal of Virology 75: 4614-4624 (incorporada aquí como referencia), que se ejemplifica adicionalmente en la sección de ejemplos. Este modelo, aunque no es un modelo de 45 infección completo para HCV, es ampliamente aceptado como el modelo más consistente y eficaz de replicación autónoma de ARN de HCV actualmente disponible. Se apreciará que es importante distinguir entre compuestos que interfieren específicamente con funciones de HCV de aquellos que ejercen efectos citotóxicos o citostáticos en el modelo de replicón de HCV y, como consecuencia, provocan una disminución en el ARN de HCV o en la concentración de enzima informadora enlazada. En el sector se conocen ensayos para la evaluación de la citotoxicidad celular basados, por ejemplo, en la actividad de enzimas mitocondriales usando colorantes redox fluorogénicos tales como resazurina. Además, existen sistemas de cribado inversos celulares para la evaluación de la inhibición no selectiva de la actividad del gen informador enlazado, tal como la luciferasa de luciérnaga. Tipos de células apropiados pueden ser equipados, mediante transfección estable, con un gen informador de luciferasa, cuya expresión depende de un promotor génico constitutivamente activo, y tales células se puede usar como un 50 sistema de cribado inverso celular para eliminar inhibidores no selectivos. 55

Debido a sus propiedades antivirales, particularmente sus propiedades anti-HCV, los compuestos de fórmula I, incluyendo cualesquiera posibles esteroisómeros, las sales de adición farmacéuticamente aceptables o solvatos de los mismos, son útiles en el tratamiento de animales de sangre caliente, en particular seres humanos, infectados 60 con HCV, y para la profilaxis de infecciones por HCV. La presente invención se refiere además a un método para tratar un animal de sangre caliente, en particular ser humano, infectado por HCV, o que está en riesgo de ser

infectado por HCV, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad eficaz anti-HCV de un compuesto de fórmula 1, como se especifica aquí.

5 Los compuestos de la presente invención se pueden usar, por lo tanto, como una medicina, en particular como una medicina anti-HCV. Dicho uso como medicina o método de tratamiento comprende la administración sistémica a sujetos infectados por HCV, o a sujetos susceptibles de infección por HCV, de una cantidad eficaz para combatir las afecciones asociadas con la infección por HCV.

10 La presente invención se refiere también al uso de los presentes compuestos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una infección por HCV.

15 En general, se contempla que una cantidad diaria antiviral efectiva sería de alrededor de 0,01 a alrededor de 700 mg/kg, o alrededor de 0,5 a alrededor de 400 mg/kg, o alrededor de 1 a alrededor de 250 mg/kg, o alrededor de 2 a alrededor de 200 mg/kg, o alrededor de 10 a alrededor de 150 mg/kg de peso corporal. Puede ser apropiado administrar la dosis requerida en forma de dos, tres, cuatro o más sub-dosis a intervalos apropiados a lo largo del día. Dichas sub-dosis se pueden formular como formas de dosificación unitaria, por ejemplo que contienen alrededor de 1 a alrededor de 6000 mg, o alrededor de 50 a alrededor de 5000 mg, o alrededor de 100 a alrededor de 2000 mg, o alrededor de 200 a alrededor de 1000 mg, o alrededor de 100 a alrededor de 600 mg, o alrededor de 200 a alrededor de 500 mg de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria.

20 La invención también se refiere a una combinación de un compuesto de fórmula I, una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y otro compuesto antiviral, en particular otro compuesto anti-HCV. El término "combinación" se puede referir a un producto que contiene (a) un compuesto de fórmula I, como se especifica anteriormente, y (b) opcionalmente otro compuesto anti-HCV, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de infecciones por HCV.

30 Los compuestos anti-HCV que se pueden usar en tales combinaciones incluyen inhibidores de la polimerasa de HCV, inhibidores de la proteasa de HCV, inhibidores de otras dianas en el ciclo de vida del HCV, y agentes inmunomoduladores, y sus combinaciones. Los inhibidores de la polimerasa del HCV incluyen NM283 (valopicitabina), R803, JTK-109, JTK-003, HCV-371, HCV-086, HCV-796 y R-1479, R-7128, MK-0608, VCH-759, PF-868554, GS9190, XTL-2125, NM-107, GSK625433, R-1626, BILB-1941, ANA-598, IDX-184, IDX-375, MK-3281, MK-1220, ABT-333, PSI-7851, PSI-6130, VCH-916. Los inhibidores de proteasas del HCV (inhibidores de NS2-NS3 e inhibidores de NS3-NS4A) incluyen BILN-2061, VX-950 (telaprevir), GS-9132 (ACH-806), SCH-503034 (boceprevir), TMC435350 (también denominado TMC435), TMC493706, ITMN-191, MK-7009, BI-12202, BILN-2065, BI-201335, BMS-605339, R-7227, VX-500, BMS650032, VBY-376, VX-813, SCH-6, PHX-1766, ACH-1625, IDX-136, IDX-316. Un ejemplo de un inhibidor de NS5A de HCV es BMS790052, A-831, A-689, NIM-811 y DEBIO-025 son ejemplos de inhibidores ciclofilínicos de NS5B.

40 Inhibidores de otras dianas en el ciclo vital del HCV, incluyendo helicasa NS3; inhibidores de metaloproteasas, inhibidores oligonucleotídicos antisentido, tales como ISIS-14803 e AVI-4065; siRNA's tales como SIRPLEX-140-N; RNA de horquilla corta (shRNA) codificado por vector; DNazimas; ribozimas específicas de HCV tales como heptazima, RPI.13919; inhibidores de entrada tales como HepeX-C, HuMax-HepC; inhibidores de alfa glucosidasas tales como celgosivir, UT-231B y similares; KPE-02003002; y BIVN 401.

45 Agentes inmunomoduladores incluyen compuestos de isoformas de interferón naturales y recombinantes, incluyendo α -interferón, β -interferón, γ -interferón, ω -interferón y similares, tales como Intron A®, Roferon-A®, Canferon-A300®, Advaferon®, Infergen®, Humoferon®, Sumiferon MP®, Alfaferone®, IFN-beta®, Feron® y similares; compuestos de interferón derivatizados con polietilenglicol (pegilados), tales como PEG interferón- α -2a (Pegasys®), PEG interferón- α -2b (PEG-Intron®), e IFN- α -con1 pegilado; formulaciones de acción prolongada y derivatizaciones de compuestos de interferón tales como el interferón fusionado con albúmina albuferón α ; compuestos que estimulan la síntesis de interferón en las células, tales como resiquimod; interleucinas; compuestos que mejoran el desarrollo de respuesta de linfocitos T adyuvantes tipo 1, tales como SCV-07; agonistas de los receptores de tipo TOLL tales como CpG-10101 (actilón), e isatoribina; timosina α -1; ANA-245; ANA-246; dihidrocloruro de histamina; propagermanio; tetraclorodecaóxido; ampligén; IMP-321; KRN-7000; anticuerpos, tales como civacir y XTL-6865; y vacunas profilácticas y terapéuticas tales como InnoVac C, HCV E1E2/MF59.

60 Otros agentes antivirales incluyen ribavirina, amantadina, viramidina, nitazoxanida; telbivudina; NOV-205; taribavirina; inhibidores de la entrada del ribosoma interno, inhibidores virales de amplio espectro, tales como inhibidores de IMPDH, y ácido micofenólico y sus derivados, e incluyendo, pero sin limitarse a, VX-497 (merimepodib), VX-148, y/o VX-944); o combinaciones de cualquiera de los anteriores.

5 Agentes particulares para uso en dichas combinaciones incluyen interferón- α (IFN- α), interferón- α pegilado, o ribavirina, así como agentes terapéuticos basados en anticuerpos dirigidos contra epítomos de VHC, RNA interferente pequeño (si RNA), ribozimas, DNazimas, RNA antisentido, antagonistas de molécula pequeña de, por ejemplo, proteasa NS3, helicasa NS3 y polimerasa NS5B.

10 En otro aspecto, se proporcionan combinaciones de un compuesto de fórmula I como se especifica aquí y un compuesto anti-HIV. Los últimos son preferiblemente aquellos inhibidores de HIV que tienen un efecto positivo sobre el metabolismo de los fármacos y/o la farmacocinética que mejoran la biodisponibilidad. Un ejemplo de tal inhibidor de HIV es ritonavir. Como tal, la invención proporciona adicionalmente una combinación que comprende (a) un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo; y (b) ritonavir o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto ritonavir, sus sales farmacéuticamente aceptables, y los métodos para su preparación se describen en el documento WO 94/14436.

15 La invención también se refiere a un procedimiento para preparar una combinación como se describe aquí, que comprende la etapa de combinar un compuesto de fórmula I, como se especifica anteriormente, y otro agente, tal como un agente antiviral, incluyendo un agente anti-HCV o anti-HIV, en particular aquellos mencionados anteriormente.

20 Las mencionadas combinaciones pueden encontrar uso en la fabricación de un medicamento para tratar infección por HCV en un mamífero infectado con él, comprendiendo dicha composición en particular un compuesto de fórmula I, como se especifica anteriormente, e interferón- α (IFN- α), interferón- α pegilado, o ribavirina. O, la invención proporciona un método para tratar un mamífero, en particular un ser humano, infectado con HCV, que comprende la administración a dicho mamífero de una cantidad eficaz de una combinación como se especifica aquí. En particular, dicho tratamiento comprende la administración sistémica de la mencionada combinación, y una cantidad eficaz es una cantidad de manera que sea eficaz para tratar las afecciones clínicas asociadas con la infección por HCV.

30 En una realización, las combinaciones mencionadas anteriormente se formulan en forma de una composición farmacéutica que incluye los ingredientes activos descritos anteriormente y un vehículo, como se describe anteriormente. Cada uno de los ingredientes activos se puede formular separadamente, y las formulaciones se pueden coadministrar, o se puede proporcionar una formulación que contiene a ambos y, si se desea, otros ingredientes activos. En el primer caso, las combinaciones también se pueden formular como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en terapia contra HCV. La mencionada composición puede tomar cualquiera de las formas descritas anteriormente. En una realización, ambos ingredientes se formulan en una forma de dosificación tal como una combinación de dosis fija. En una realización particular, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende (a) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I, incluyendo una posible forma estereoisomérica del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y (b) una cantidad terapéuticamente eficaz de ritonavir o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y (c) un vehículo.

45 Los componentes individuales de las combinaciones de la presente invención se pueden administrar por separado en momentos diferentes durante el curso de la terapia, o simultáneamente en formas de combinación divididas o unitarias. La presente invención pretende englobar la totalidad de tales regímenes de tratamiento simultáneo o alterno, y el término "administrar" debe interpretarse de acuerdo con ello. En una realización preferida, las formas de dosificación separadas se administran simultáneamente.

50 En una realización, las combinaciones de la presente invención contienen una cantidad de ritonavir, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es suficiente para mejorar clínicamente la biodisponibilidad del compuesto de fórmula I con relación a la biodisponibilidad cuando dicho compuesto de fórmula I se administra solo. O, las combinaciones de la presente invención contienen una cantidad de ritonavir, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es suficiente para aumentar al menos una de las variables farmacocinéticas del compuesto de fórmula I, seleccionada de $t_{1/2}$, C_{min} , C_{max} , C_{SS} , AUC a las 12 horas, o AUC a las 24 horas, con relación a dicha al menos una variable farmacocinética cuando el compuesto de fórmula I se administra solo.

60 Las combinaciones de esta invención se pueden administrar a seres humanos en intervalos de dosificación específicos para cada componente comprendido en dichas combinaciones, por ejemplo el compuesto de fórmula I como se especifica anteriormente, y ritonavir o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden tener niveles de dosificación del orden de 0,02 a 10,0 g/día.

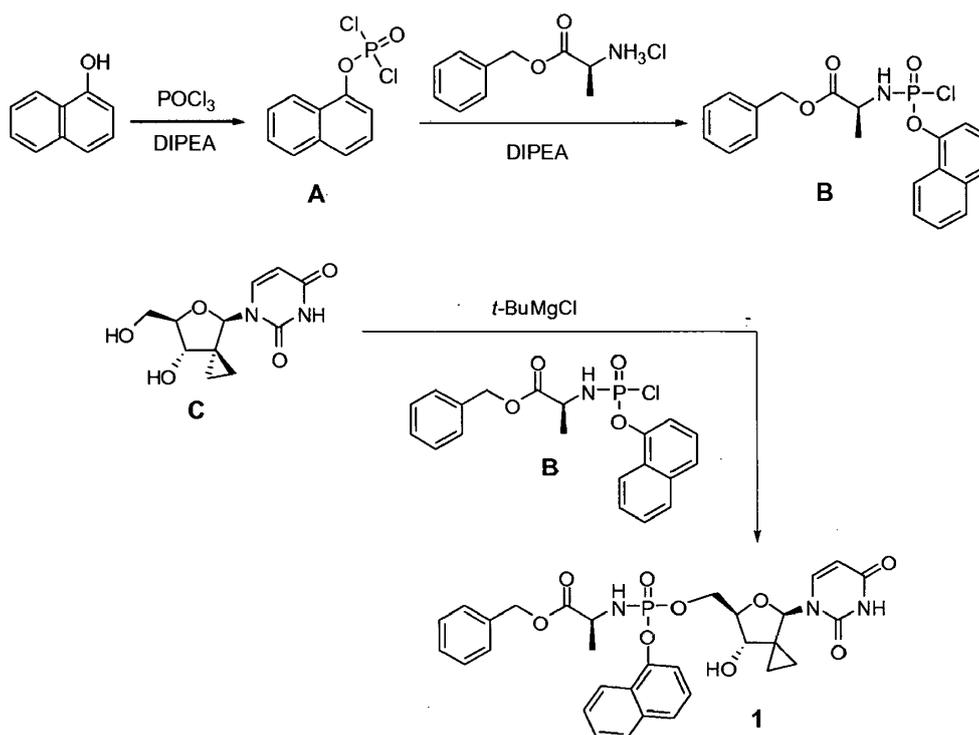
La relación en peso del compuesto de fórmula I a ritonavir puede estar en el intervalo de alrededor de 30:1 a alrededor de 1:15, o alrededor de 15:1 a alrededor de 1:10, o alrededor de 15:1 a alrededor de 1:1, o alrededor de 10:1 a alrededor de 1:1, o alrededor de 8:1 a alrededor de 1:1, o alrededor de 5:1 a alrededor de 1:1, o alrededor de 3:1 a alrededor de 1:1, o alrededor de 2:1 a 1:1. El compuesto de fórmula I y ritonavir se pueden coadministrar una o dos veces al día, preferiblemente de forma oral, en el que la cantidad del compuesto de fórmula I por dosis es como se describe anteriormente; y la cantidad de ritonavir por dosis es de 1 a alrededor de 2500 mg, o alrededor de 50 a alrededor de 1500 mg, o alrededor de 100 a alrededor de 800 mg, o alrededor de 100 a alrededor de 400 mg, o 40 a alrededor de 100 mg de ritonavir.

10 Ejemplos

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la invención y no se deberían de interpretar como una limitación de su alcance.

15 En cada caso, se da el tiempo de retención (R_t (min.)) y m/z observado. Cuando la separación de los dos diastereómeros se observó en el LC-MS, se especifican dos tiempos de retención. Cuando en un compuesto no se da indicador estereoquímico para el átomo de fósforo, ese compuesto es una mezcla 1:1 de los dos diastereómeros de fósforo. En algunos casos, esta mezcla se separó pero sin conocer la configuración estereoquímica exacta. Tales compuestos se denominaron A y B, y se pueden caracterizar por sus propiedades físicoquímicas.

20 Ejemplo 1: Síntesis del compuesto (1)



25 A 1-naftol (1,0 eq., 69,4 mmoles, 10,0 g) en éter dietílico (250 ml) se añadió oxiclورو de fósforo (1,0 eq., 69,4 mmoles, 6,5 ml), y la disolución se enfrió hasta -78°C . Se añadió *N,N*-diisopropiletamina seca (DIPEA; 1,0 eq., 69,4 mmoles, 12,1 ml), y la disolución resultante se dejó calentar hasta la temperatura ambiente toda la noche. La suspensión blanca se filtró bajo una atmósfera inerte, y todos los volátiles se eliminaron para dar A como un líquido incoloro, que se usó sin purificación adicional en la etapa siguiente.

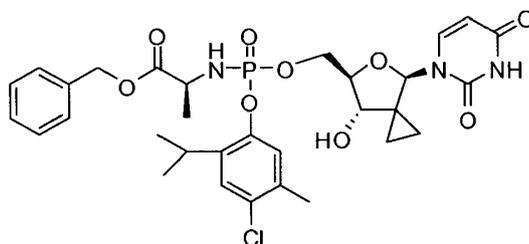
30 Una disolución de A (1,0 eq., 4,6 mmoles, 1,0 g) e hidroc্লورو del éster bencílico del ácido 2-amino-propiónico (1,0 eq., 4,6 mmoles, 1,2 g) en CH_2Cl_2 (40 ml) se enfrió hasta -80°C . Se añadió gota a gota DIPEA seca (2,0 eq., 9,3 mmoles, 1,6 ml). Después de 1 hora, la reacción se calentó hasta la temperatura ambiente. La agitación se continuó durante 1 hora más, y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se añadió éter dietílico seco, y el precipitado se separó por filtración y se lavó dos veces con éter dietílico seco bajo una atmósfera de argón. El filtrado se evaporó hasta sequedad para dar B, que se almacenó como una disolución 0,97 M en tetrahidrofurano

(THF) a -18°C .

A una disolución de C (1,0 eq., 0,59 mmoles, 150 mg) en THF seco (6 ml) se añadió *t*-butilMgCl (1,5 eq., 0,89 mmoles, 521 μl , disolución 1,7 M en THF) a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota una disolución de B (1,4 eq., 0,83 mmoles, 852 μl , disolución 0,97 M en THF), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Se añadieron treinta gotas de NH_4Cl acuoso saturado, y la mezcla de reacción se evaporó sobre sílice, y después se purificó mediante cromatografía en columna (0-5% de metanol en CH_2Cl_2) para dar 1 (74 mg, rendimiento = 19%, pureza = 96%) como una mezcla de diastereómeros. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,39 - 0,61 (m, 3 H); 1,01 - 1,12 (m, 1 H); 1,18 - 1,33 (m, 3 H); 3,88 - 4,09 (m, 3 H); 4,16 - 4,31 (m, 1 H); 4,31 - 4,42 (m, 1 H); 4,96 - 5,16 (m, 2 H); 5,35 - 5,49 (m, 2 H); 5,95 (s, 1 H); 6,25 - 6,37 (m, 1 H); 7,26 - 7,35 (m, 5 H); 7,36 - 7,62 (m, 5 H); 7,74 (d, $J=8,02$ Hz, 1 H); 7,95 (d, $J=7,82$ Hz, 1 H); 8,11 (t, $J=7,92$ Hz, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,21$ min., $m/z = 620$ (M-H) $^-$.

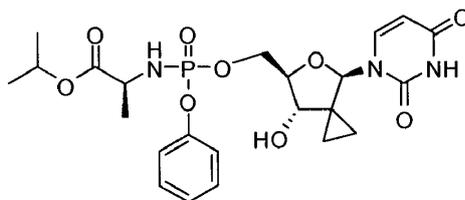
Los compuestos enumerados aquí más abajo se prepararon usando un procedimiento similar como para el ejemplo 1. Los compuestos se aislaron como una mezcla de diastereoisómeros. Para el compuesto (7), los diastereoisómeros se aislaron y se ensayaron separadamente.

Compuesto (2)



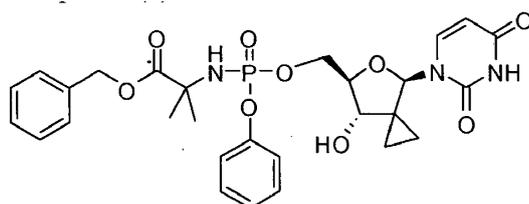
RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,47 - 0,62 (m, 3 H); 1,04 - 1,17 (m, 7 H); 1,24 - 1,34 (m, 3 H); 2,20 (s, 3 H); 3,12 - 3,25 (m, 1 H); 3,86 - 3,98 (m, 2 H); 3,99 - 4,07 (m, 1 H); 4,09 - 4,23 (m, 1 H); 4,24 - 4,35 (m, 1 H); 5,02 - 5,17 (m, 2 H); 5,36 - 5,46 (m, 1 H); 5,48 - 5,57 (m, 1 H); 5,92 - 5,99 (m, 1 H); 6,16 - 6,30 (m, 1 H); 7,23 - 7,39 (m, 7 H); 7,51 - 7,60 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,64$ min., $m/z = 660$ (M-H) $^-$.

Compuesto (3)



RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,47 - 0,62 (m, 3 H); 1,01 - 1,09 (m, 1 H); 1,14 (d, 6 H); 1,17 - 1,24 (m, 3 H); 3,67 - 3,84 (m, 1 H); 3,85 - 3,96 (m, 1 H); 3,99 - 4,07 (m, 1 H); 4,09 - 4,23 (m, 1 H); 4,23 - 4,35 (m, 1 H); 4,78 - 4,89 (m, 1 H); 5,34 - 5,44 (m, 1 H); 5,51 - 5,59 (m, 1 H); 5,90 - 5,96 (m, 1 H); 5,96 - 6,07 (m, 1 H); 7,11 - 7,25 (m, 3 H); 7,31 - 7,40 (m, 2 H); 7,52 - 7,63 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,24$ min. y 2,36 min., $m/z = 522$ (M-H) $^-$.

Compuesto (4)

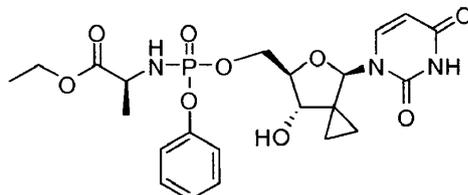


RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ ppm 0,43 - 0,63 (m, 3 H); 1,00 - 1,11 (m, 1 H); 1,31 - 1,46 (m, 6 H); 3,84 - 3,92 (m, 1 H); 3,96 - 4,06 (m, 1 H); 4,09 - 4,20 (m, 1 H); 4,22 - 4,32 (m, 1 H); 5,06 (s, 2 H); 5,33 - 5,43 (m, 1 H); 5,47 -

5,56 (m, 1 H); 5,88 - 6,01 (m, 2 H); 7,10 - 7,23 (m, 3 H); 7,24 - 7,40 (m, 7 H); 7,46 - 7,60 (m, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,07$ min., $m/z = 584$ (M-H)⁻.

Compuesto (5)

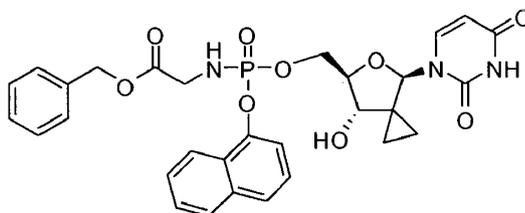
5



10 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,44 - 0,67 (m, 3 H); 0,99 - 1,33 (m, 7 H); 3,74 - 3,97 (m, 2 H); 3,97 - 4,10 (m, 3 H); 4,10 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,39 (m, 1 H); 5,32 - 5,45 (m, 1 H); 5,51 - 5,62 (m, 1 H); 5,88 - 5,98 (m, 1 H); 5,98 - 6,12 (m, 1 H); 7,11 - 7,27 (m, 3 H); 7,30 - 7,44 (m, 2 H); 7,52 - 7,66 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,10$ min. y 2,23, $m/z = 508$ (M-H)⁻.

Compuesto (6)

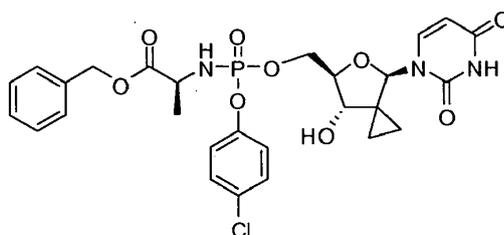
15



20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,38 - 0,61 (m, 3 H); 1,01 - 1,12 (m, 1 H); 3,73 - 3,86 (m, 2 H); 3,90 - 3,98 (m, 1 H); 4,00 - 4,11 (m, 1 H); 4,23 - 4,33 (m, 1 H); 4,33 - 4,43 (m, 1 H); 5,09 (s, 2 H); 5,35 - 5,49 (m, 2 H); 5,96 (s, 1 H); 6,08 - 6,27 (m, 1 H); 7,22 - 7,61 (m, 9 H); 7,74 (d, $J=7,69$ Hz, 1 H); 7,95 (d, $J=7,10$ Hz, 1 H); 8,12 (d, $J=7,72$ Hz, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,12$ min., $m/z = 606$ (M-H)⁻.

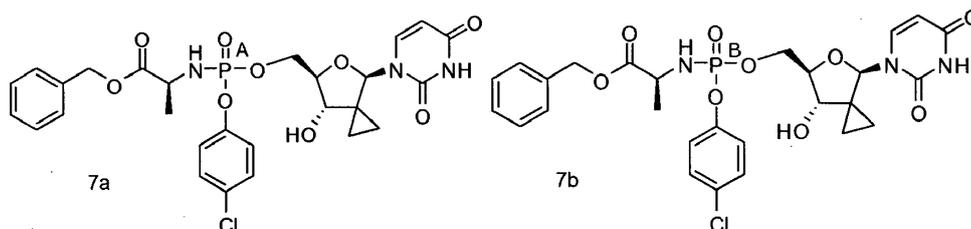
Compuesto (7)

25



30 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,63 (m, 3 H); 1,01 - 1,13 (m, 1 H); 1,20 - 1,31 (m, 3 H); 3,84 - 3,98 (m, 2 H); 3,99 - 4,06 (m, 1 H); 4,10 - 4,23 (m, 1 H); 4,24 - 4,34 (m, 1 H); 5,02 - 5,14 (m, 2 H); 5,35 - 5,44 (m, 1 H); 5,53 - 5,61 (m, 1 H); 5,90 - 5,98 (m, 1 H); 6,11 - 6,24 (m, 1 H); 7,14 - 7,24 (m, 2 H); 7,28 - 7,42 (m, 7 H); 7,52 - 7,61 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,98$ min. y 3,07 min., $m/z = 604$ (M-H)⁻.

30



Compuesto (7a) (isómero A)

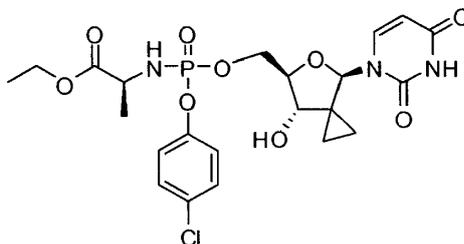
35 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,45 - 0,61 (m, 3 H); 1,01 - 1,15 (m, 1 H); 1,24 (d, $J=6,46$ Hz, 3 H); 3,82 - 3,95

(m, 2 H); 3,96 - 4,07 (m, 1 H); 4,13 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,34 (m, 1 H); 5,09 (s, 2 H); 5,36 - 5,48 (m, 1 H); 5,58 (d, $J=7,63$ Hz, 1 H); 5,95 (s, 1 H); 6,20 (t, $J=11,35$ Hz, 1 H); 7,17 (d, $J=7,82$ Hz, 2 H); 7,29 - 7,43 (m, 7 H); 7,55 (d, $J=7,63$ Hz, 1 H); 11,33 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 4,02$ min., $m/z = 604$ (M-H)⁻.

5 Compuesto (7b) (isómero B)

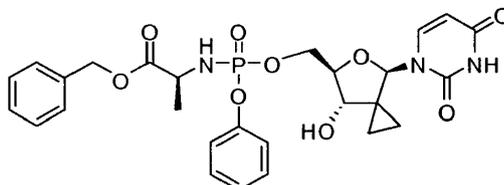
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm RMN 1H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,48 - 0,61 (m, 3 H); 1,02 - 1,13 (m, 1 H); 1,26 (d, $J=7,04$ Hz, 3 H); 3,86 - 3,98 (m, 2 H); 3,99 - 4,05 (m, 1 H); 4,09 - 4,20 (m, 1 H); 4,24 - 4,32 (m, 1 H); 5,03 - 5,13 (m, 2 H); 5,34 - 5,44 (m, 1 H); 5,57 (d, $J=8,02$ Hz, 1 H); 5,94 (s, 1 H); 6,18 (dd, $J=12,91, 10,17$ Hz, 1 H); 7,21 (d, $J=8,61$ Hz, 2 H); 7,30 - 7,41 (m, 7 H); 7,57 (d, $J=8,22$ Hz, 1 H); 11,32 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 4,07$ min., $m/z = 604$ (M-H)⁻.

Compuesto (8)



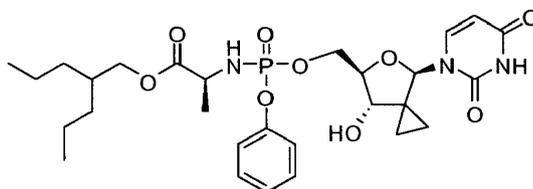
15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,65 (m, 3 H); 1,02 - 1,11 (m, 1 H); 1,14 (t, $J=7,05$ Hz, 3 H); 1,18 - 1,32 (m, 3 H); 3,73 - 3,962 (m, 2 H); 3,97 - 4,09 (m, 3 H); 4,11 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,36 (m, 1 H); 5,34 - 5,46 (m, 1 H); 5,53 - 5,62 (m, 1 H); 5,90 - 5,98 (m, 1 H); 6,05 - 6,18 (m, 1 H); 7,17 - 7,28 (m, 2 H); 7,43 (d, $J=8,80$ Hz, 2 H); 7,54 - 7,62 (m, 1 H); 11,33 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,41$ min. y 2,51 min., $m/z = 542$ (M-H)⁻.

Compuesto (9)



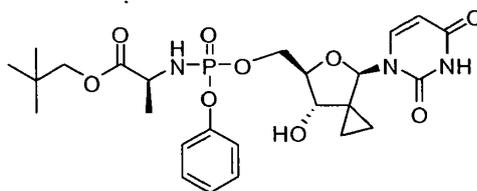
25 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,41 - 0,64 (m, 3 H); 0,99 - 1,14 (m, 1 H); 1,16 - 1,33 (m, 3 H); 3,82 - 3,97 (m, 2 H); 4,02 (d, $J=5,28$ Hz, 1 H); 4,08 - 4,23 (m, 1 H); 4,23 - 4,34 (m, 1 H); 5,01 - 5,15 (m, 2 H); 5,34 - 5,45 (m, 1 H); 5,56 (d, $J=8,02$ Hz, 1 H); 5,95 (s, 1 H); 6,04 - 6,17 (m, 1 H); 7,19 (d, $J=7,43$ Hz, 3 H); 7,26 - 7,41 (m, 7 H); 7,51 - 7,62 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 1,98$ min., $m/z = 570$ (M-H)⁻.

Compuesto (10)



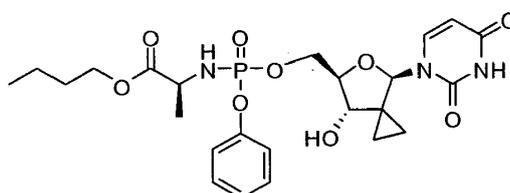
35 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,43 - 0,66 (m, 3 H); 0,83 (d, $J=5,09$ Hz, 6 H); 1,03 - 1,12 (m, 1 H); 1,12 - 1,34 (m, 11 H); 1,53 - 1,66 (m, 1 H); 3,76 - 4,09 (m, 5 H); 4,10 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,36 (m, 1 H); 5,34 - 5,50 (m, 1 H); 5,56 (d, $J=7,63$ Hz, 1 H); 5,92 - 5,98 (m, 1 H); 5,99 - 6,12 (m, 1 H); 7,14 - 7,24 (m, 3 H); 7,36 (t, $J=7,53$ Hz, 2 H); 7,52 - 7,63 (m, 1 H); 11,32 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,53$ min., $m/z = 594$ (M+H)⁺.

40 Compuesto (11)



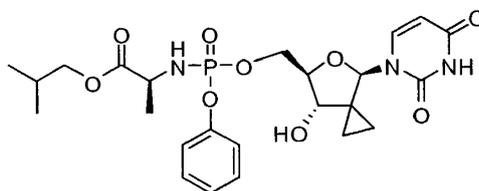
5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,43 - 0,63 (m, 3 H); 0,86 (s, 9 H); 0,99 - 1,12 (m, 1 H); 1,19 - 1,32 (m, 3 H); 3,62 - 3,71 (m, 1 H); 3,72 - 3,80 (m, 1 H); 3,80 - 3,97 (m, 2 H); 4,02 (br. s., 1 H); 4,08 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,37 (m, 1 H); 5,29 - 5,46 (m, 1 H); 5,55 (d, *J*=7,43 Hz, 1 H); 5,94 (d, *J*=7,24 Hz, 1 H); 6,00 - 6,13 (m, 1 H); 7,07 - 7,25 (m, 3 H); 7,35 (t, *J*=7,73 Hz, 2 H); 7,49 - 7,66 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,08 min., m/z = 552 (M+H)⁺.

Compuesto (12)



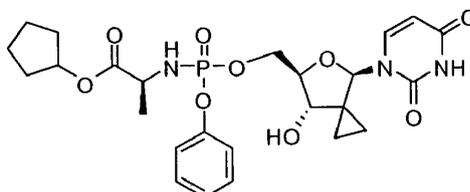
15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,63 (m, 3 H); 0,81 - 0,90 (m, 3 H); 1,04 - 1,12 (m, 1 H); 1,17 - 1,36 (m, 5 H); 1,45-1,56 (m, 2 H); 3,73-4,09 (m, 5 H); 4,10-4,24 (m, *J*=11,32, 11,32, 5,66, 5,46 Hz, 1 H); 4,24- 4,36 (m, 1 H); 5,33 - 5,46 (m, 1 H); 5,52 - 5,60 (m, 1 H); 5,91 - 5,98 (m, 1 H); 5,98 - 6,09 (m, 1 H); 7,10 - 7,28 (m, 3 H); 7,29 - 7,43 (m, 2 H); 7,51 - 7,65 (m, 1 H); 11,29 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,63 min. y 2,74, m/z = 538 (M+H)⁺.

Compuesto (13)



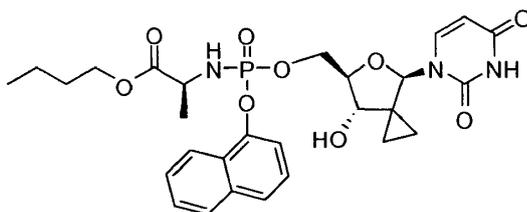
25 RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0,54 - 0,78 (m, 3 H); 0,85 - 0,98 (m, 6 H); 1,20 - 1,33 (m, 1 H); 1,33 - 1,48 (m, 3 H); 1,84 - 2,01 (m, *J*=10,05, 6,68, 3,34, 3,34 Hz, 1 H); 3,64 - 4,52 (m, 9 H); 5,52 - 5,78 (m, 1H); 5,99 - 6,10 (m, 1 H); 7,14 - 7,59 (m, 6 H); 8,64 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,57 min. y 2,68 min., m/z = 536 (M-H)⁻.

Compuesto (14)



30 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,25 - 11,38 (1 H, m); 7,54 - 7,63 (1 H, m); 7,32 - 7,42 (2 H, m); 7,14 - 7,25 (3 H, m); 5,97 - 6,06 (1 H, m); 5,92 - 5,97 (1 H, m); 5,53 - 5,60 (1 H, m); 5,36 - 5,44 (1 H, m); 4,98 - 5,07 (1 H, m); 4,25 - 4,37 (1 H, m); 4,09 - 4,25 (1 H, m); 4,00-4,09 (1 H, m); 3,87 - 3,98 (1 H, m); 3,67 - 3,84 (1 H, m); 1,70 - 1,88 (2 H, m); 1,44 - 1,69 (6 H, m); 1,16 - 1,27 (3 H, m); 1,02 - 1,15 (1 H, m); 0,46 - 0,64 (3 H, m). LC-MS: R_t = 2,65 min. y 2,76 min., m/z = 548(M-H)⁻.

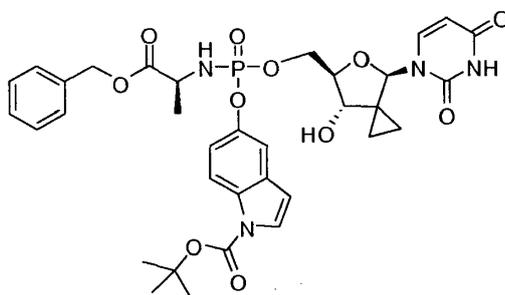
Compuesto (15)



5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,42 - 0,62 (m, 3 H); 0,74 - 0,86 (m, 3 H); 1,02 - 1,10 (m, 1 H); 1,11 - 1,32 (m, 5 H); 1,34 - 1,52 (m, 2 H); 3,80 - 4,01 (m, 4 H); 4,06 (t, *J*=6,36 Hz, 1 H); 4,16 - 4,32 (m, 1 H); 4,32 - 4,42 (m, 1 H); 5,38 (d, *J*=5,48 Hz, 1 H); 5,40 - 5,51 (m, 1 H); 5,95 (s, 1 H); 6,14 - 6,35 (m, 1 H); 7,40 - 7,63 (m, 5 H); 7,74 (d, *J*=5,67 Hz, 1 H); 7,95 (d, *J*=6,06 Hz, 1 H); 8,05 - 8,18 (m, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,19 min., m/z = 588 (M+H)⁺.

Compuesto (16)

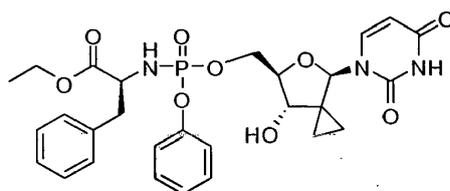
10



15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,43 - 0,64 (m, 3 H); 1,02 - 1,11 (m, 1 H); 1,19 - 1,30 (m, 3 H); 1,62 (s, 9 H); 3,86 - 3,99 (m, 2 H); 4,03 (t, *J*=6,05 Hz, 1 H); 4,11 - 4,24 (m, 1 H); 4,25 - 4,35 (m, 1 H); 5,04 - 5,13 (m, 2 H); 5,33 - 5,42 (m, 1 H); 5,48 - 5,56 (m, 1 H); 5,93 - 5,99 (m, 1 H); 6,00 - 6,13 (m, 1 H); 6,66 (d, *J*=2,93 Hz, 1 H); 7,09 - 7,21 (m, 1 H); 7,23 - 7,36 (m, 5 H); 7,40 - 7,47 (m, 1 H); 7,47 - 7,58 (m, 1 H); 7,69 (d, *J*=2,93 Hz, 1 H); 7,97 (d, *J*=8,20 Hz, 1 H); 11,28 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 3,54 min. y 3,60 min., m/z = 711 (M+H)⁺.

Compuesto (17)

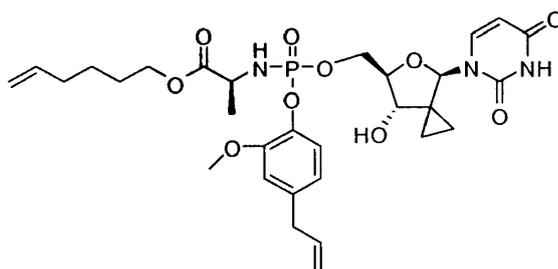
20



25 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,42 - 0,66 (m, 3 H); 0,95 - 1,13 (m, 4 H); 2,76 - 2,87 (m, 1 H); 2,87 - 3,01 (m, 1 H); 3,76 - 4,14 (m, 7 H); 5,32 - 5,43 (m, 1 H); 5,50 - 5,57 (m, 1 H); 5,91 - 6,01 (m, 1 H); 6,09 - 6,27 (m, 1 H); 7,00 - 7,08 (m, 2 H); 7,11 - 7,35 (m, 8 H); 7,46 - 7,56 (m, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,69 min. y 2,78 min., m/z = 586 (M+H).

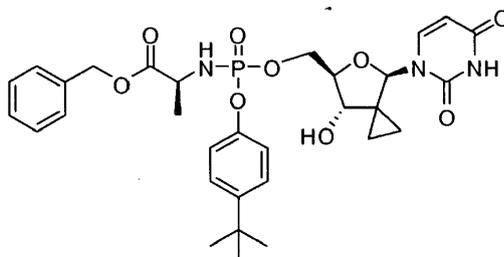
Compuesto (18)

30



5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,63 (m, 3 H); 1,02 - 1,13 (m, 1 H); 1,17 - 1,28 (m, 3 H); 1,30 - 1,43 (m, 2 H); 1,47 - 1,60 (m, 2 H); 1,94 - 2,07 (m, 2 H); 3,75 (s, 3 H); 3,79 - 4,09 (m, 5 H); 4,09 - 4,24 (m, 1 H); 4,25 - 4,37 (m, 1 H); 4,88 - 5,14 (m, 4 H); 5,33 - 5,44 (m, 1 H); 5,55 (d, *J*=8,00 Hz, 1 H); 5,67 - 5,80 (m, 1 H); 5,80 - 5,90 (m, 1 H); 5,89 - 6,03 (m, 2 H); 6,64 - 6,74 (m, 1 H); 6,84 - 6,94 (m, 1 H); 7,13 - 7,23 (m, 1 H); 7,54 - 7,65 (m, 1 H); 11,31 (br. s., 1 H). LC-MS: *R*_t = 3,44 min. y 3,51 min., *m/z* = 634 (M+H)⁺.

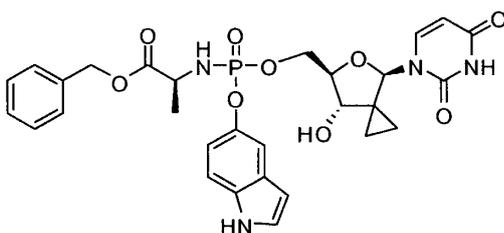
Compuesto (19)



10 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,41 - 0,62 (m, 3 H); 1,00 - 1,11 (m, 1 H); 1,23 (s, 12 H); 3,81 - 3,96 (m, 2 H); 3,96 - 4,05 (m, 1 H); 4,06 - 4,20 (m, 1 H); 4,20 - 4,31 (m, 1 H); 5,00 - 5,12 (m, 2 H); 5,31 - 5,42 (m, 1 H); 5,52 (d, *J*=8,02 Hz, 1 H); 5,93 (s, 1 H); 5,98 - 6,11 (m, 1 H); 7,00 - 7,12 (m, 2 H); 7,25 - 7,38 (m, 7 H); 7,46 - 7,61 (m, 1 H); 11,29 (br. s., 1 H). LC-MS: *R*_t = 2,44 min., *m/z* = 628 (M+H)⁺.

15

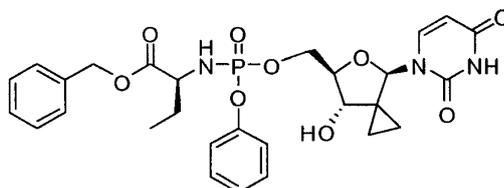
Compuesto (20)



20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,40 - 0,62 (m, 3 H); 1,01 - 1,10 (m, 1 H); 1,19 - 1,30 (m, 3 H); 3,84 - 3,96 (m, 2 H); 3,99 - 4,06 (m, 1 H); 4,08 - 4,22 (m, 1 H); 4,22 - 4,33 (m, 1 H); 5,00 - 5,12 (m, 2 H); 5,39 (br. s., 1 H); 5,45 - 5,52 (m, 1 H); 5,91 - 6,02 (m, 2 H); 6,37 (s, 1 H); 6,92 (t, *J*=10,37 Hz, 1 H); 7,27 - 7,41 (m, 8 H); 7,44 - 7,61 (m, 1 H); 11,12 (br. s., 1 H); 11,29 (br. s., 1 H). LC-MS: *R*_t = 1,89 min., *m/z* = 611 (M+H)⁺.

25

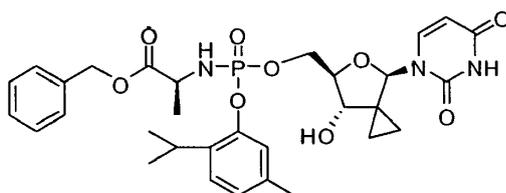
Compuesto (21)



30 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,43 - 0,63 (m, 3 H); 0,71 - 0,85 (m, 3 H); 1,01 - 1,14 (m, 1 H); 1,48 - 1,73 (m, 2 H); 3,64 - 3,80 (m, 1 H); 3,85 - 3,97 (m, 1 H); 3,97 - 4,07 (m, 1 H); 4,07 - 4,23 (m, 1 H); 4,24 - 4,34 (m, 1 H); 5,01 - 5,16 (m, 2 H); 5,32 - 5,46 (m, 1 H); 5,50 - 5,60 (m, 1 H); 5,93 - 5,98 (m, 1 H); 6,00 - 6,11 (m, 1 H); 7,08 - 7,24 (m, 3 H); 7,26 - 7,43 (m, 7 H); 7,50 - 7,62 (m, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: *R*_t = 2,83 min. y 2,94 min., *m/z* = 586 (M+H)⁺.

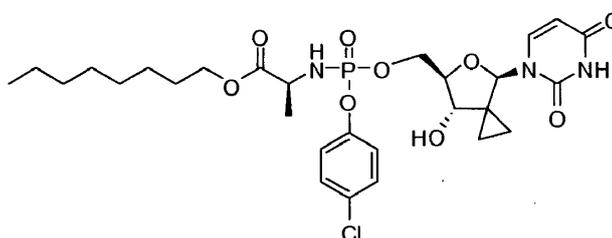
35

Compuesto (22)



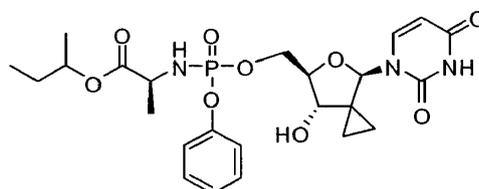
5 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,45 - 0,63 (m, 3 H); 1,02 - 1,18 (m, 7 H); 1,29 (d, *J*=6,06 Hz, 3 H); 2,20 (s, 3 H); 3,12 - 3,28 (m, 1 H); 3,85 - 3,98 (m, 2 H); 3,99 - 4,09 (m, 1 H); 4,09 - 4,23 (m, 1 H); 4,23 - 4,34 (m, 1 H); 5,02 - 5,16 (m, 2 H); 5,35 - 5,45 (m, 1 H); 5,45 - 5,55 (m, 1 H); 5,92 - 6,02 (m, 1 H); 6,08 - 6,24 (m, 1 H); 6,93 (d, *J*=7,63 Hz, 1 H); 7,10 - 7,21 (m, 2 H); 7,34 (br. s., 5 H); 7,50 - 7,63 (m, 1 H); 11,32 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,40 min., *m/z* = 628 (M+H)⁺.

Compuesto (23)



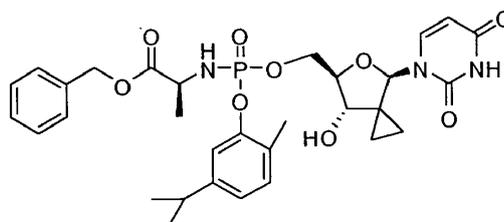
10
15 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,63 (m, 3 H); 0,85 (t, *J*=6,65 Hz, 3 H); 1,04 - 1,12 (m, 1 H); 1,15 - 1,32 (m, 13 H); 1,44 - 1,56 (m, 2 H); 3,73 - 4,08 (m, 5 H); 4,10 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,36 (m, 1 H); 5,35 - 5,45 (m, 1 H); 5,55 - 5,63 (m, 1 H); 5,92 - 5,98 (m, 1 H); 6,05 - 6,20 (m, 1 H); 7,17 - 7,27 (m, 2 H); 7,43 (d, *J*=8,80 Hz, 2 H); 7,55 - 7,62 (m, 1 H); 11,32 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 3,72 min., *m/z* = 626 (M-H)⁺.

Compuesto (24)



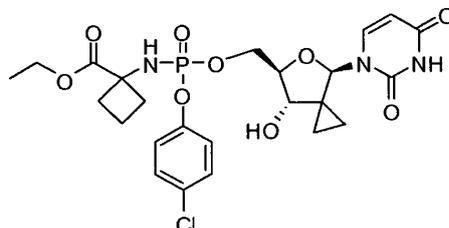
20
25 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,46 - 0,65 (m, 3 H); 0,81 (t, *J*=7,40 Hz, 3 H); 1,02 - 1,17 (m, 4 H); 1,17 - 1,31 (m, 3 H); 1,49 (dq, *J*=7,28, 7,11 Hz, 2 H); 3,67 - 3,87 (m, 1 H); 3,87 - 3,99 (m, 1 H); 3,99 - 4,10 (m, 1 H); 4,10 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,37 (m, 1 H); 4,63 - 4,81 (m, 1 H); 5,32 - 5,44 (m, 1 H); 5,50 - 5,62 (m, 1 H); 5,90 - 5,97 (m, 1 H); 5,97 - 6,07 (m, 1 H); 7,12 - 7,25 (m, 3 H); 7,32 - 7,41 (m, 2 H); 7,54 - 7,62 (m, 1 H); 11,30 (s, 1 H). LC-MS: R_t = 2,58 min. y 2,69 min., *m/z* = 536 (M-H)⁺.

Compuesto (25)



30
35 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,45 - 0,63 (m, 3 H); 1,04 - 1,09 (m, 1 H); 1,10 - 1,17 (m, 6 H); 1,22 - 1,33 (m, 3 H); 2,09 - 2,21 (m, 3 H); 2,78 (spt, *J*=6,91 Hz, 1 H); 3,84 - 3,97 (m, 2 H); 3,98 - 4,07 (m, 1 H); 4,09 - 4,24 (m, 1 H); 4,24 - 4,34 (m, 1 H); 5,03 - 5,16 (m, 2 H); 5,34 - 5,45 (m, 1 H); 5,48 - 5,57 (m, 1 H); 5,92 - 6,00 (m, 1 H); 6,07 - 6,17 (m, 1 H); 6,93 (d, *J*=7,82 Hz, 1 H); 7,12 (d, *J*=7,82 Hz, 1 H); 7,15 (s, 1 H); 7,27 - 7,39 (m, 5 H); 7,58 (d, *J*=8,02 Hz, 1 H); 11,30 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 2,44 min., *m/z* = 628 (M+H)⁺.

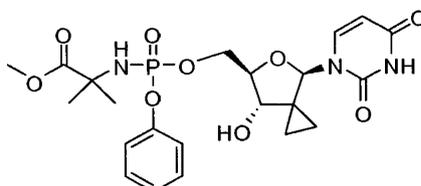
Compuesto (26)



5 RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,27 - 11,35 (1 H, m); 7,51 - 7,64 (1 H, m); 7,39 - 7,48 (2 H, m); 7,17 - 7,28 (1 H, m); 6,27 - 6,38 (1 H, m); 5,90 - 5,97 (1 H, m); 5,53 - 5,60 (1 H, m); 5,34 - 5,42 (1 H, m); 4,26 - 4,38 (1 H, m); 4,14 - 4,26 (1 H, m); 3,97 - 4,12 (3 H, m); 3,85 - 3,96 (1 H, m); 2,34 - 2,44 (2 H, m); 2,17 - 2,28 (1 H, m); 2,05 - 2,17 (1 H, m); 1,67 - 1,88 (2 H, m); 1,11 - 1,19 (3 H, m); 1,04 - 1,11 (1 H, m); 0,46 - 0,64 (3 H, m).

10 LC-MS: R_t = 2,57 min., m/z = 568 (M-H) $^-$.

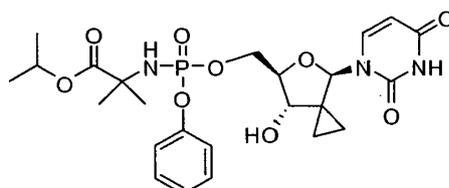
Compuesto (27)



15 RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,27 - 11,36 (1 H, m); 7,50 - 7,65 (1 H, m); 7,30 - 7,43 (2 H, m); 7,12 - 7,25 (3 H, m); 5,86 - 5,98 (2 H, m); 5,50 - 5,59 (1 H, m); 5,36 - 5,45 (1 H, m); 4,24 - 4,36 (1 H, m); 4,14 - 4,24 (1 H, m); 3,98 - 4,11 (1 H, m); 3,87 - 3,97 (1 H, m); 3,52 - 3,60 (3 H, m); 1,28 - 1,42 (6 H, m); 1,02 - 1,13 (1 H, m); 0,45 - 0,64 (3 H, m). LC-MS: R_t = 1,57 min., m/z = 510 (M+H) $^+$.

20

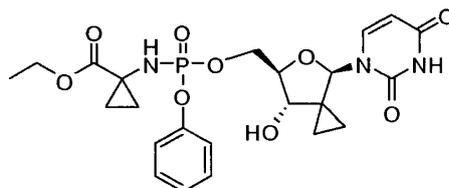
Compuesto (28)



25 RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,17 - 11,41 (1 H, m); 7,48 - 7,64 (1 H, m); 7,30 - 7,41 (2 H, m); 7,12 - 7,26 (3 H, m); 5,91 - 5,96 (1 H, m); 5,74 - 5,86 (1 H, m); 5,49 - 5,57 (1 H, m); 5,32 - 5,41 (1 H, m); 4,77 - 4,90 (1 H, m); 4,26 - 4,36 (1 H, m); 4,14 - 4,25 (1 H, m); 3,99 - 4,10 (1 H, m); 3,87 - 3,95 (1 H, m); 1,28 - 1,41 (6 H, m); 1,11 - 1,20 (6 H, m); 1,04 - 1,10 (1 H, m); 0,45 - 0,63 (3 H, m). LC-MS: R_t = 2,41 min., m/z = 536 (M-H) $^-$.

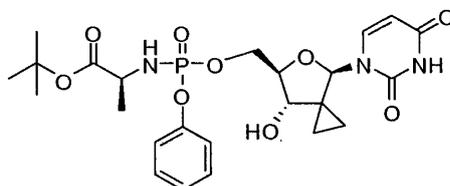
30

Compuesto (29)



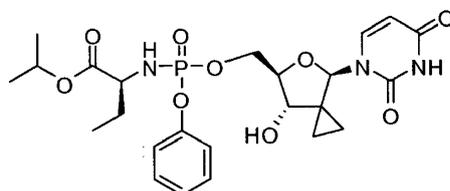
35 RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 11,24 - 11,38 (1 H, m); 7,49 - 7,65 (1 H, m); 7,29 - 7,41 (2 H, m); 7,11 - 7,23 (3 H, m); 6,41 - 6,56 (1 H, m); 5,90 - 5,97 (1 H, m); 5,51 - 5,60 (1 H, m); 5,34 - 5,44 (1 H, m); 4,26 - 4,38 (1 H, m); 4,15 - 4,26 (1 H, m); 3,95 - 4,08 (3 H, m); 3,87 - 3,95 (1 H, m); 1,19 - 1,33 (2 H, m); 1,02 - 1,17 (5 H, m); 0,92 - 1,02 (1 H, m); 0,45 - 0,63 (3 H, m). LC-MS: R_t = 1,59 min., m/z = 522 (M+H) $^+$.

Compuesto (30)



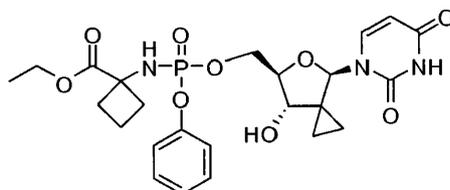
5
 10
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,23 - 11,38 (1 H, m); 7,53 - 7,64 (1 H, m); 7,29 - 7,43 (2 H, m); 7,11 - 7,26 (3 H, m); 5,85 - 6,01 (2 H, m); 5,50 - 5,62 (1 H, m); 5,34 - 5,46 (1 H, m); 4,25 - 4,38 (1 H, m); 4,09 - 4,25 (1 H, m); 3,99 - 4,09 (1 H, m); 3,86 - 3,98 (1 H, m); 3,59 - 3,77 (1 H, m); 1,30 - 1,43 (9 H, m); 1,14 - 1,28 (3 H, m); 1,00 - 1,13 (1 H, m); 0,44 - 0,64 (3 H, m). LC-MS: R_t = 1,90 min., m/z = 538 (M+H)⁺.

Compuesto (31)



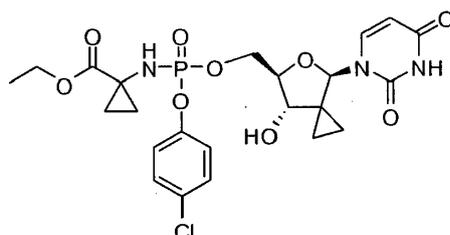
15
 20
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,19 - 11,38 (1 H, m); 7,52 - 7,63 (1 H, m); 7,30 - 7,41 (2 H, m); 7,12 - 7,24 (3 H, m); 5,90 - 6,01 (2 H, m); 5,52 - 5,60 (1 H, m); 5,33 - 5,43 (1 H, m); 4,79 - 4,92 (1 H, m); 4,24 - 4,35 (1 H, m); 4,09 - 4,24 (1 H, m); 3,99 - 4,08 (1 H, m); 3,85 - 3,97 (1 H, m); 3,51 - 3,67 (1 H, m); 1,45 - 1,71 (2 H, m); 1,10 - 1,19 (6 H, m); 1,03 - 1,10 (1 H, m); 0,75 - 0,84 (3 H, m); 0,47 - 0,62 (3 H, m). LC-MS: R_t = 2,36 min. y 2,46 min., m/z = 536 (M-H)⁻.

Compuesto (32)



25
 30
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 11,21 - 11,40 (1 H, m); 7,49 - 7,66 (1 H, m); 7,30 - 7,43 (2 H, m); 7,12 - 7,25 (3 H, m); 6,21 - 6,31 (1 H, m); 5,90 - 5,98 (1 H, m); 5,50 - 5,59 (1 H, m); 5,36 - 5,44 (1 H, m); 4,26 - 4,37 (1 H, m); 4,15 - 4,26 (1 H, m); 3,98 - 4,11 (3 H, m); 3,88 - 3,97 (1 H, m); 2,32 - 2,45 (2 H, m); 2,17 - 2,29 (1 H, m); 2,04 - 2,18 (1 H, m); 1,67 - 1,88 (2 H, m); 1,11 - 1,21 (3 H, m); 1,01 - 1,11 (1 H, m); 0,45 - 0,65 (3 H, m). LC-MS: R_t = 1,76 min., m/z = 536 (M+H)⁺.

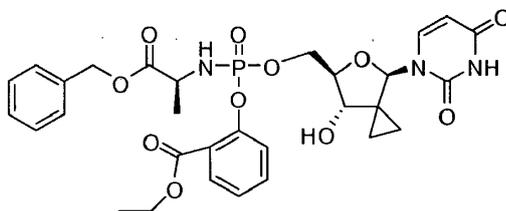
Compuesto (33)



35
 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,45 - 0,65 (m, 3 H); 0,93 - 1,04 (m, 1 H); 1,04 - 1,17 (m, 5 H); 1,21 - 1,35 (m, 2 H); 3,86 - 3,95 (m, 1 H); 3,95 - 4,09 (m, 3 H); 4,16 - 4,26 (m, 1 H); 4,27 - 4,38 (m, 1 H); 5,35 - 5,43 (m, 1 H); 5,54 - 5,62 (m, 1 H); 5,94 (s, 1 H); 6,50 - 6,64 (m, 1 H); 7,17 - 7,26 (m, 2 H); 7,38 - 7,47 (m, 2 H); 7,50 - 7,63 (m, 1 H);

11,31 (s, 1 H). LC-MS: $R_t = 2,29$ min., $m/z = 554$ (M-H)⁻.

Compuesto (34)



5

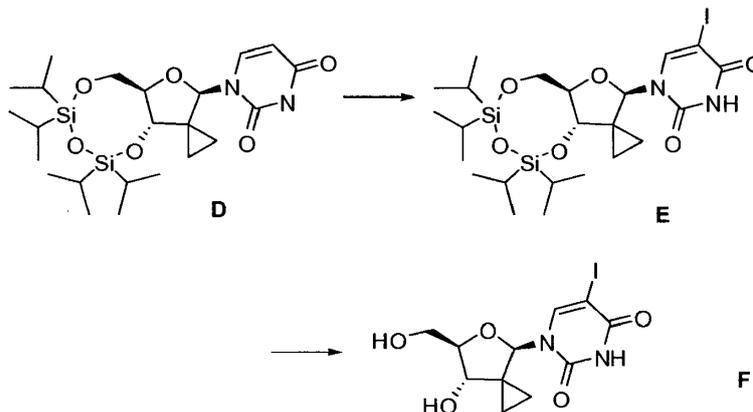
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,44 - 0,65 (m, 3 H); 1,01 - 1,13 (m, 1 H); 1,18 - 1,33 (m, 6 H); 3,84 - 4,08 (m, 3 H); 4,12 - 4,37 (m, 4 H); 4,99 - 5,16 (m, 2 H); 5,31 - 5,43 (m, 1 H); 5,50 - 5,61 (m, 1 H); 5,91 - 6,00 (m, 1 H); 6,00 - 6,17 (m, 1 H); 7,21 - 7,40 (m, 6 H); 7,40 - 7,50 (m, 1 H); 7,50 - 7,63 (m, 2 H); 7,69 - 7,83 (m, 1 H); 11,29 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 2,96$ min., $m/z = 644$ (M+H)⁺.

10

Ejemplo 2:

El Compuesto (F), el análogo yodado de (C), se preparó usando el siguiente procedimiento.

15



A una disolución de (D) (1,44 g, 2,9 mmoles) en DMF seca (30 ml) se añadió a temperatura ambiente N-yodosuccinimida (1,63 g, 7,25 mmoles, 2,5 eq.). La mezcla de reacción se calentó hasta 110°C y se agitó a esa temperatura toda la noche. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, la reacción se paralizó mediante la adición de una disolución al 7,5% p/v de NaHSO₃ en una disolución saturada de NaHCO₃. La mezcla se diluyó adicionalmente con disolución saturada de NaHCO₃ (250 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron para producir un aceite amarillo. La purificación mediante cromatografía en columna (gradiente de heptano/acetato de etilo 10 hasta 30%) dio (E) como un sólido blanco (1,44 g, 80%). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,54 (dt, *J*=10,05, 5,12 Hz, 1 H); 0,62 - 0,70 (m, 1 H); 0,76 (dt, *J*=10,05, 5,12 Hz, 1 H); 0,87 - 1,14 (m, 29 H); 3,74 - 3,82 (m, 1 H); 3,96 (dd, *J*=12,88, 2,34 Hz, 1 H); 4,09 (dd, *J*=12,88, 3,90 Hz, 1 H); 4,53 (d, *J*=7,80 Hz, 1 H); 5,73 (s, 1 H); 7,89 (s, 1 H); 11,73 (s, 1 H). LC-MS: $R_t = 8,94$ min., $m/z = 645$ (M+Na)⁺.

20

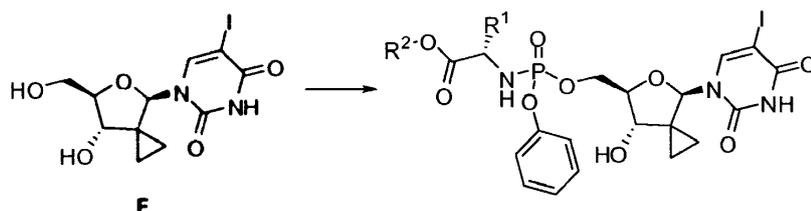
25

A una suspensión de (E) (1,24 g, 1,99 mmoles) en metanol (20 ml) se añadió a temperatura ambiente fluoruro de amonio (369 mg, 5 eq.). La mezcla de reacción se calentó hasta 50°C en argón y se agitó durante 7 horas. Tras concentrar la mezcla, el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna (gradiente de diclorometano/metanol 2,5 hasta 10%). Esto produjo (F) como un sólido blanco (711 mg, 92%). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,50 - 0,65 (m, 3 H); 1,05 (t, *J*=5,95 Hz, 1 H); 3,56 - 3,67 (m, 1 H); 3,70 - 3,80 (m, 2 H); 4,05 - 4,15 (m, 1 H); 5,13 - 5,27 (m, 2 H); 5,85 (s, 1 H); 8,44 (s, 1 H); 11,65 (br. s., 1 H). LC-MS: $R_t = 1,32$ min., $m/z = 403$ (M+Na)⁺.

30

35

Ejemplo 3: Síntesis de fosforamidatos (35-38)



- (35) R¹=Me, R²=Bn
 (36) R¹=Et, R²=Bn
 (37) R¹=Me, R²=Et
 (38) R¹=Me, R²=iPr

Bn = bencilo

5

(F) (120 mg, 0,316 mmoles), presecado co-evaporando con piridina, se disolvió en N-metilimidazol (0,3 ml, 3,79 mmoles, 12 eq.) y se añadió diclorometano seco (3,2 ml) a temperatura ambiente en argón una disolución ~1M del fosforamidocloridato apropiado (1,2 eq.). La reacción se agitó durante 3 horas. Se añadió reactivo extra si se necesitó. Tras la consumición completa del material de partida, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con una disolución acuosa 0,5M de HCl. La capa acuosa se extrajo con diclorometano, y las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (gradiente de diclorometano/metanol 1 hasta 10%) para producir los productos 36-39 como sólidos blancos (rendimientos 68-77%).

15

Compuesto (35)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,50 - 0,62 (m, 3 H); 1,01 - 1,11 (m, 1 H); 1,19 - 1,31 (m, 3 H); 3,84 - 4,00 (m, 2 H); 4,01 - 4,09 (m, 1 H); 4,11 - 4,33 (m, 2 H); 5,02 - 5,14 (m, 2 H); 5,29 - 5,41 (m, 1 H); 5,83 - 5,95 (m, 1 H); 6,00 - 6,14 (m, 1 H); 7,11 - 7,23 (m, 3 H); 7,26 - 7,40 (m, 7 H); 7,93 (s, 1 H); 11,69 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 5,27 min., m/z = 698 (M+H)⁺.

20

Compuesto (36)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,44 - 0,64 (m, 3 H); 0,70 - 0,86 (m, 3 H); 1,00 - 1,12 (m, 1 H); 1,46 - 1,73 (m, 2 H); 3,67 - 3,82 (m, 1 H); 3,84 - 3,98 (m, 1 H); 4,00 - 4,10 (m, 1 H); 4,10 - 4,36 (m, 2 H); 4,98 - 5,15 (m, 2 H); 5,27 - 5,40 (m, 1 H); 5,83 - 5,94 (m, 1 H); 5,94 - 6,07 (m, 1 H); 7,09 - 7,24 (m, 3 H); 7,26 - 7,43 (m, 7 H); 7,87 - 7,99 (m, 1 H); 11,69 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 5,58 min., m/z = 712 (M+H)⁺.

25

Compuesto (37)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,48 - 0,64 (m, 3 H); 1,02 - 1,11 (m, 1 H); 1,14 (t, J=6,93 Hz, 3 H); 1,18 - 1,30 (m, 3 H); 3,74 - 3,86 (m, 1 H); 3,86 - 3,97 (m, 1 H); 3,98 - 4,10 (m, 3 H); 4,11 - 4,37 (m, 2 H); 5,27 - 5,42 (m, 1 H); 5,84 - 5,92 (m, 1 H); 5,93 - 6,06 (m, 1 H); 7,11 - 7,27 (m, 3 H); 7,31 - 7,42 (m, 2 H); 7,93 (s, 1 H); 11,70 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 4,24 min., m/z = 653 (M+ NH₄)⁺.

35

Compuesto (38)

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,49 - 0,63 (m, 3 H); 1,02 - 1,10 (m, 1 H); 1,15 (d, J=5,07 Hz, 6 H); 1,18 - 1,25 (m, 3 H); 3,70 - 3,84 (m, 1 H); 3,86 - 3,97 (m, 1 H); 4,02 - 4,10 (m, 1 H); 4,12 - 4,34 (m, 2 H); 4,78 - 4,90 (m, 1 H); 5,29 - 5,40 (m, 1 H); 5,85 - 5,91 (m, 1 H); 5,91 - 5,99 (m, 1 H); 7,12 - 7,24 (m, 3 H); 7,31 - 7,40 (m, 2 H); 7,93 (s, 1 H); 11,70 (br. s., 1 H). LC-MS: R_t = 4,74 min., m/z = 667 (M+NH₄)⁺.

40

Ejemplos biológicos

45

Ensayo de replicones

Los compuestos de fórmula I se examinaron en busca de actividad en la inhibición de la replicación del ARN de VHC en un ensayo celular dirigido a identificar compuestos que inhiben una estirpe celular replicante funcional de VHC, también conocida como replicones de VHC. El ensayo celular estaba basado en un constructo de expresión bicistrónico, como se describe por Lohmann et al. (1999) Science vol. 285 p. 110-113 con las modificaciones descritas por Krieger et al. (2001) Journal of Virology 75: 4614-4624, en una estrategia de cribado multidiana.

50

El ensayo usó la estirpe celular Huh-7 luc/neo transfectada de manera estable (a la que se hace referencia en lo sucesivo como Huh-Luc). Esta estirpe celular alberga un ARN que codifica un constructo de expresión bicistrónico

55

que comprende las regiones NS3-NS5B de tipo salvaje del HCV tipo 1b traducidas desde un Sitio de Entrada de Ribosoma Interno (IRES) del virus de la encefalomiocarditis (EMCV), precedidas por una porción informadora (F₁-luciferasa), y una porción marcadora seleccionable (neo^R, neomicina fosfotransferasa). El constructo está limitado por NTRs (regiones no traducidas) 5' y 3' del HCV tipo 1b. El cultivo continuado de las células del replicón en presencia de G418 (neo^R) depende de la replicación del ARN de HCV. Las células del replicón transfectadas establemente que expresan ARN de HCV, que se replica autónomamente y a niveles elevados, que codifica *entre otros* luciferasa, se usaron para cribar los compuestos antivirales.

Las células del replicón se colocaron en placas de 384 pocillos en presencia de los compuestos de ensayo y de control, que se añadieron a diversas concentraciones. Después de una incubación de tres días, la replicación del HCV se midió por ensayo de la actividad de luciferasa (usando sustratos y reactivos estándar de ensayo de luciferasa, y un procesador de imágenes de microplacas Perkin Elmer ViewLux™ ultraHTS). Las células del replicón en los cultivos de control tienen expresión elevada de luciferasa en ausencia de cualquier inhibidor. La actividad inhibidora del compuesto sobre la actividad de luciferasa se monitorizó en las células Huh-Luc, haciendo posible una curva de respuesta frente a la dosis para cada compuesto de ensayo. Después se calcularon los valores EC₅₀, valor que representa la cantidad del compuesto requerida para reducir al 50% el nivel de actividad de luciferasa detectada, o más específicamente, la capacidad del ARN del replicón de HCV enlazado genéticamente para replicarse.

20 Toxicidad celular

La toxicidad celular se determinó en el ensayo de replicones de Huh7-CMV-Luc. Las células del replicón (2500 células/pocillo), transformadas de forma estable con un gen informador de luciferasa bajo el control del promotor constitutivo de citomegalovirus (CMV), se cultivaron en presencia o ausencia de concentraciones de compuesto de ensayo. Después de tres días de incubación a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% humidificada, se cuantificó la proliferación celular midiendo la actividad de Luc, y se expresó como valores de CC₅₀ (citotoxicidad, concentración inhibidora del 50% del crecimiento celular). Los ensayos se llevaron a cabo en placas de 384 pocillos.

30 Ensayo de HIV

Los compuestos de la invención se examinaron en busca de su potencia frente al virus de la inmunodeficiencia humana de tipo salvaje (HIV). La actividad antiviral se evaluó usando un ensayo celular realizado según el siguiente procedimiento. Se manipuló la estirpe de linfocitos T humana MT4 con proteína fluorescente verde (GFP) y un promotor específico del HIV, la repetición terminal larga (LTR) de HIV-1. Esta estirpe celular, denominada MT4 LTR-EGFP, se puede usar para la evaluación *in vitro* de la actividad anti-HIV de compuestos bajo investigación. En células infectadas con HIV-1 se produce la proteína Tat, que aumenta el promotor LTR y conduce eventualmente a la estimulación de la producción del informador GFP, permitiendo medir fluorométricamente la infección por HIV continuada. Se pueden determinar valores de concentración eficaz, tal como concentración eficaz al 50% (EC₅₀), y habitualmente se expresan en μM. Un valor de EC₅₀ se define como la concentración de compuesto de ensayo que reduce en un 50% la fluorescencia de células infectadas por HIV. La monitorización de la infección por HIV-1 se realizó usando un microscopio de barrido. El análisis de imágenes permite la detección muy sensible de la infección viral. Las medidas se realizaron antes de la necrosis celular, que tiene lugar habitualmente alrededor de cinco días tras la infección; en particular, las medidas se realizaron tres días tras la infección. La columna IIIB en la tabla enumera los valores de EC₅₀ frente a la cepa IIIB de tipo salvaje.

Los resultados en la Tabla 1 ilustran que los compuestos de la presente invención muestran actividad frente a HCV, mientras que carecen de actividad frente a HIV. Muestran resultados favorables en términos de toxicidad, y tienen un índice de selectividad aceptable (relación entre EC₅₀ y CC₅₀).

50 Resultados

La Tabla 1 muestra los resultados del replicón (EC₅₀, replicón) y los resultados de citotoxicidad (CC₅₀, (μM) (Huh-7)) obtenidos para compuestos de los ejemplos dados anteriormente. También se da la actividad de HIV (EC₅₀ de HIV (μM)) y la toxicidad celular en estirpe celular de HIV ((CC₅₀, (μM) (MT-4)).

Tabla 1

Número de compuesto	EC ₅₀ (μM) replicón	CC ₅₀ (μM) (Huh-7)	EC ₅₀ VIH (μM)	CC ₅₀ (μM) (MT-4)
1	2,8	>98	>50	>32
2	14,3	>32	>50	>32
3	9,6	>98	>98	>98

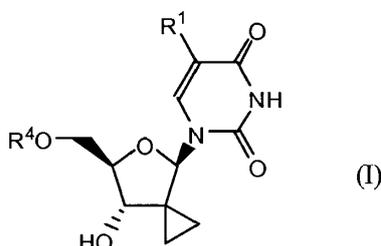
ES 2 525 007 T3

Número de compuesto	EC ₅₀ (μM) replicón	CC ₅₀ (μM) (Huh-7)	EC ₅₀ VIH (μM)	CC ₅₀ (μM) (MT-4)
4	23,9	>98	>98	>98
5	9,2	>98	>90	>98
6	16,5	>98	>90	>98
7	6,1	>90	>90	>64
7a	10,9	58,4	>60	>50
7b	3,4	>98	>98	>90
8	5,9	>98	>98	>98
9	2,9	>98	>85	>98
10	2,8	>32	>60	29
11	2,8	>98	>98	>98
12	3,1	>98	>98	>98
13	3,2	>98	>98	>98
14	3,3	>98	>98	>98
15	3,6	>98	>60	>60
16	4,2	>32	>98	>32
17	4,4	>98	>98	>98
18	5,1	>98	>98	>64
19	7,2	>32	>32	>32
20	7,6	>32	>98	>98
21	7,8	>98	>98	>80
22	9,2	>32	1,65	2,1
23	11,2	>32	>98	>30
24	12,4	>98	>98	>98
25	23,1	>32	>98	23
26	73,7	>98	>98	>98
27	91,4	>98	>98	>98
28	>98	>98	>98	>98
29	>98	>98	>98	>98
30	>98	>98	>98	>98
31	>98	>98	>95	>98
32	>98	>98	>98	>98
33	>98	>98	>98	>98
34	11,0	>98	-	-

"-" significa que el resultado del ensayo no está disponible

REIVINDICACIONES

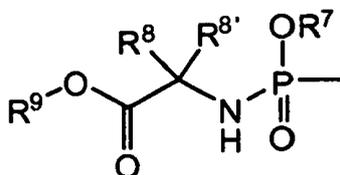
1. Un compuesto de fórmula I:



incluyendo cualesquiera estereoisómeros posibles del mismo, en el que:

R¹ es hidrógeno o halo;

R⁴ es un éster de monofosfato, difosfato o trifosfato; o R⁴ es un grupo de fórmula



R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 o con 3 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alcoxicarbonilo de C₁-C₆, hidroxilo y amino; o R⁷ es naftilo; o R⁷ es indolilo, o *N*-alquil C₁-C₆-oxi-carbonilindolilo;

R⁸ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, bencilo;

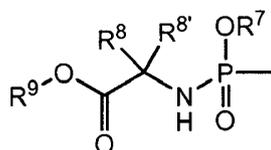
R⁸ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, bencilo; o

R⁸ y R^{8'}, junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman cicloalquilo de C₃-C₇;

R⁹ es alquilo de C₁-C₁₀, cicloalquilo de C₃-C₇, alqueno de bencilo, o fenilo, fenilo el cual puede estar opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes, cada uno seleccionado independientemente de hidroxilo, alcoxi de C₁-C₆, amino, mono- y di-alquil C₁-C₆-amino;

o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato.

2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁴ es un grupo de fórmula



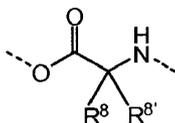
3. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₃-C₆, y alcoxi de C₁-C₆; o R⁷ es naftilo.

4. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que R⁷ es fenilo, opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados cada uno independientemente de halo y alquilo de C₁-C₆.

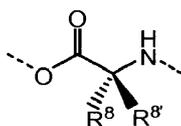
5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que R⁷ es R⁷ fenilo, opcionalmente sustituido con halo, o alquilo de C₁-C₆, o R⁷ es naftilo.

6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que R^8 es hidrógeno, y $R^{8'}$ es hidrógeno o alquilo de C_1-C_6 .

5 7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que
el resto



10 tiene la estructura



15 en la que R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es hidrógeno, alquilo de C_1-C_6 , bencilo.

8. El compuesto según la reivindicación 7, en el que R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es alquilo de C_1-C_2 .

9. El compuesto según la reivindicación 7, en el que R^8 es hidrógeno y $R^{8'}$ es metilo.

20 10. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que R^9 es alquilo de C_1-C_{10} , cicloalquilo de C_3-C_7 , alqueno de C_3-C_6 , o bencilo.

25 11. El compuesto según la reivindicación 10, en el que R^9 es alquilo de C_1-C_8 , o bencilo.

12. El compuesto según la reivindicación 10, en el que R^9 es metilo, etilo, isopropilo, 1-metil-propilo, isobutilo, butilo, t-butilo, bencilo, ciclopentilo, 5-hexenilo, 2,2-dimetil-butilo, octilo o 2-propil-pentilo.

30 13. El compuesto según la reivindicación 10, en el que R^9 es etilo, isobutilo, butilo, bencilo, ciclopentilo, 5-hexenilo, 2,2-dimetil-butilo, o 2-propil-pentilo.

14. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad anti-viralmente eficaz de un compuesto de fórmula I como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-13 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

35 15. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para uso como un inhibidor de HCV.