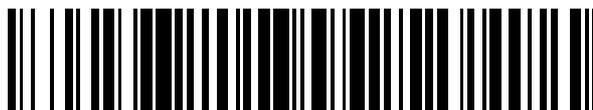


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 844**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/472 (2006.01)
A61K 31/4725 (2006.01)
A61K 31/427 (2006.01)
A61K 31/4402 (2006.01)
A61P 31/18 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.08.2003 E 14164659 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.12.2015 EP 2801576**

54 Título: **Composición y actividad antivírica de derivados de piperazina con sustitución de azaindoloacético**

30 Prioridad:

07.08.2002 US 214982

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

23.02.2016

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

72 Inventor/es:

**WANG, TAO;
ZHANG, ZHONGXING;
MEANWELL, NICHOLAS A.;
KADOW, JOHN F.;
YIN, ZHIWEI;
XUE, QIUFEN MAY;
REGUEIRO-REN, ALICIA;
MATISKELLA, JOHN D. y
UEDA, YASUTSUGU**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 560 844 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

Composición y actividad antivírica de derivados de piperazina con sustitución de azaindoloacético

5 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona compuestos que tienen propiedades de fármaco y de efecto biológico, sus composiciones farmacéuticas y un procedimiento de uso. En particular, la invención se refiere a derivados de azaindol piperazin diamida, que poseen actividad antivírica única. Más particularmente, la presente invención se refiere a compuestos útiles en el tratamiento de VIH y SIDA.

La presente invención se define por medio de las reivindicaciones adjuntas. Las materias objetivo que no quedan englobadas por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

15 **Técnica anterior**

La infección por VIH-1 (virus-1 de inmunodeficiencia en humanos) sigue constituyendo un problema médico, con estimaciones de población afectada de 42 millones de personas a nivel mundial en 2002. El número de casos de VIH y SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) ha aumentado de forma rápida. En 2002, se detectaron ~ 5,0 millones de nuevas infecciones, y 3,1 millones de personas fallecieron debido a SIDA. Los fármacos actualmente disponibles para el tratamiento de VIH incluyen inhibidores de la transcriptasa inversa de nueve nucleótidos (RT) o combinaciones aprobadas de una sola píldora (zidovudina o AZT (o Retrovir®), didanosina (o Videx®), estavudina (o Zerit®), lamivudina (o 3TC o Epivir®), zalcitabina (o DDC o Hivid®), succinato de abacavir (o Ziagen®), sal de fumarato de disoproxil y Tenofovir (o Viread®), Combivir® (contienen -3TC más AZT), Trizivir® (contiene abacavir, lamivudina y zidovudina); inhibidores de transcriptasa inversa de tres especies que no son nucleosidos: nevirapina (o Viramune®), delavirdina (o Rescriptor®) y efavirenz (o Sustiva®) y ocho inhibidores de proteasa peptidomimética o formulaciones aprobadas; saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, Kaletra® (lopinavir y Ritonavir) y Atazanavir (Reyataz®). Cada uno de estos fármacos únicamente puede impedir la replicación vírica de forma transitoria si se emplea solo. No obstante, cuando se usan en combinación, estos fármacos presentan un profundo efecto sobre el avance de la enfermedad y la viremia. De hecho, recientemente se han documentado reducciones importantes en las tasas de defunción entre pacientes con SIDA como consecuencia de la aplicación generalizada de la terapia de combinación. No obstante, a pesar de los presentes resultados impresionantes, la combinación de terapias de fármacos falló al final en 30 a 50 % de los pacientes. Potencia de fármaco insuficiente, falta de cumplimiento terapéutico, penetración tisular restringida y limitaciones específicas del fármaco en determinados tipos de células (por ejemplo, la mayoría de los análogos de nucleósidos no pueden ser fosforilados en las células en reposo) pueden suponer causas de la supresión incompleta de los virus sensibles. Además, la elevada tasa de replicación y la rápida renovación de VIH-1 combinado con la incorporación frecuente de mutaciones, conducen a la aparición de variantes resistentes a fármacos y fallos de tratamiento cuando están presentes concentraciones de fármaco sub-óptimas (Larder y Kemp; Gulick; Kuritzkes; Morris-Jones y col.; Schinazi y col.; Vacca y Condra; Flexner; Berkhout y Ren y col; (Ref. 6-14)). Por tanto, se necesitan nuevos agentes anti-VIH que muestren patrones de resistencia diferentes y farmacocinéticas favorables así como perfiles de seguridad con el fin de proporcionar más opciones de tratamiento.

Los fármacos de VIH-1 actualmente comercializados están dominados bien por cualesquiera inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósido o por inhibidores de proteasa peptidomimética. Los inhibidores de transcriptasa inversa que no son de nucleósido (NNRTIs) han adquirido recientemente un papel cada vez más importante en la terapia de las infecciones de VIH (Pedersen & Pedersen, Ref. 15). Se han descrito al menos 30 clases diferentes de NNRTI en la bibliografía (De Clercq, Ref. 16) y se han evaluado varios NNRTIs en ensayos clínicos. Dipiridodiazepinona (nevirapina), benzoxazinona (efavirenz) y derivados de bis(heteroaril)piperazina (delavirdina) han sido aprobados para su uso clínico. No obstante, el principal inconveniente del desarrollo y aplicación de NNRTIs es la tendencia al surgimiento rápido de cepas resistentes al fármaco, tanto el cultivos de células de tejidos como en individuos tratados, en particular los sometidos a monoterapia. Como consecuencia de ello, existe un considerable interés en la identificación de NNRTIs que presente menos tendencia al desarrollo de resistencia (Pedersen & Pedersen, Ref. 15).

Se han presentado varios derivados de indol que incluyen indol-3-sulfonas, piperazino indoles, pirazino indoles, y derivados de 5H-indolo[3,2-b][1,5]benzotiazepina como inhibidores de transcriptasa inversa de VIH-1 (Greenlee y col, Ref. 1, Williams y col., Ref. 2; Romero y col., Ref. 3; Front y col., Ref. 17; Romero y col., Ref. 18; Young y col., Ref. 19; Genin y col, Ref. 20; Silvestri y col., Ref. 21). También se han descrito indol-2-carboxamidas como inhibidores de la adhesión celular e infección por VIH (Boschelli y col, documento de EE.UU. 5.424.329, Ref. 4). Finalmente, se han descrito productos naturales de indol con sustitución 3 (Semicocliodinol A y B, didemetilasterriquinona y isococliodinol) como inhibidores de la proteasa de VIH-1 (Fredenhagen y col., Ref. 22). Otros derivados de indol que exhiben actividad antivírica útiles para el tratamiento de VIH se describen en el documento PCT WO 00/76521 (Ref. 93). También, los derivados de indol se describen en PCT WO 00/71535 (Ref. 94).

Los derivados de aza-indol amida relacionados estructuralmente han sido divulgados previamente (Kato y col. Ref. 23; Levacher y col., Ref. 24; Dompe Spa, documento WO-09504742, Ref. 5(a); SmithKline Beecham PLC, documento WO-09611929, Ref. 5(b); Schering Corp., documento de EE.UU. 05023265, Ref. 5(cc)). No obstante, estas estructuras difieren de las que se reivindican en el presente documento en que son aza-indol mono-amida en lugar de derivados de aza-indol piperazina diamida asimétricos, y no se hace mención alguna del uso de los presentes compuestos para el tratamiento de las infecciones víricas, en particular VIH. También se han descrito otros azaindazoles por parte de Wang y col, Ref. 95. Los derivados que contienen indol y azaindol piperazina han sido descrito en cuatro PCT diferentes y solicitudes de patente de EE.UU. expedidas (Referencia 93-95, 106). Ninguna de las presentes referencia debe entenderse que divulga o sugiere los nuevos compuestos de la presente invención y su uso para inhibir la infección por VIH.

Referencias citadas

Documentos de patente

1. Greenlee, W.J.; Srinivasan, P.C. Indole reverse transcriptase inhibitors. Patente US 5,124,327.
2. Williams, T.M.; Ciccarone, T.M.; Saari, W. S.; Wai, J.S.; Greenlee, W.J.; Balani, S.K.; Goldman, M.E.; Theohrides, A.D. Indoles as inhibitors of HIV reverse transcriptase. European Patent 530907.
3. Romero, D.L.; Thomas, R.C.; Preparation of substituted indoles as anti-AIDS pharmaceuticals. PCTWO93/01181.
4. Boschelli, D.H.; Connor, D.T.; Unangst, P.C. Indole-2-carboxamides as inhibitors of cell adhesion. . Patente US 5,424,329.
5. (a) Mantovanini, M.; Melillo, G.; Daffonchio, L. Tropol 7-azaindol-3-ylcarboxyamides as antitussive agents. PCT WO 95/04742 (Dompe Spa). (b) Cassidy, F.; Hughes, I.; Rahman, S.; Hunter, D. J. Bisheteroaryl-carbonyl and carboxamide derivatives with 5HT 2C/2B antagonists activity. PCT WO 96/11929. (c) Scherlock, M. H.; Tom, W. C. Substituted 1H-pyrrolopyridine-3-carboxamides. . Patente US 5,023,265.

Otras publicaciones

6. Larder, B.A.; Kemp, S.D. Multiple mutations in the HIV-1 reverse transcriptase confer high-level resistance to zidovudine (AZT). *Science*, 1989, 246,1155-1158.
7. Gulick, R.M. Current antiretroviral therapy: An overview. *Quality of Life Research*, **1997**, 6, 471-474.
8. Kuritzkes, D.R. HIV resistance to current therapies. *Antiviral Therapy*, 1997, 2 (Supplement 3), 61-67.
9. Morris-Jones, S.; Moyle, G.; Easterbrook, P.J. Antiretroviral therapies in HIV-1 infection. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 1997, 6(8),1049-1061.
10. Schinazi, R.F.; Larder, B.A.; Mellors, J.W. Mutations in retroviral genes associated with drug resistance. *International Antiviral News*, 1997, 5,129-142.
11. Vacca, J.P.; Condra, J.H. Clinically effective HIV-1 protease inhibitors. *Drug Discovery Today*, 1997, 2, 261-272.
12. Flexner, D. HIV-protease inhibitors. *Drug Therapy*, 1998, 338, 1281-1292.
13. Berkhout, B. HIV-1 evolution under pressure of protease inhibitors: Climbing the stairs of viral fitness. *J. Biomed. Sci.*, 1999, 6, 298-305.
14. Ren, S.; Lien, E. J. Development of HIV protease inhibitors: A survey. *Prog. Drug Res.*, 1998, 51, 1-31.
15. Pedersen, O.S.; Pedersen, E.B. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: the NNRTI boom. *Antiviral Chem. Chemother.* 1999,10, 285-314.
16. (a) De Clercq, E. The role of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV-1 infection. *Antiviral Research*, 1998, 38, 153-179. (b) De Clercq, E. Perspectives of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in the therapy of HIV infection. *IL. Farmaco*, 1999, 54, 26-45.
17. Font, M.; Monge, A.; Cuartero, A.; Elorriaga, A.; Martinez-Irujo, J.J.; Alberdi, E.; Santiago, E.; Prieto, I.; Lasarte, J.J.; Sarobe, P. and Borras, F. Indoles and pyrazino[4,5-b]indoles as nonnucleoside analog inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase. *Eur. J. Med. Chem.*, 1995, 30, 963-971.

18. Romero, D.L.; Morge, R.A.; Genin, M.J.; Biles, C.; Busso, M.; Resnick, L.; Althaus, I.W.; Reusser, F.; Thomas, R.C and Tarpley, W.G. Bis(heteroaryl)piperazine (BHAP) reverse transcriptase inhibitors: structure-activity relationships of novel substituted indole analogues and the identification of 1-[(5-methanesulfonamido-1H-indol-2-yl)-carbonyl]-4-[3-[1-methylethyl]amino]-pyridinyl]piperazine momomethansulfonate (U-90152S), a second generation clinical candidate. *J. Med. Chem.*, 1993, 36, 1505-1508.
19. Young, S.D.; Amblard, M.C.; Britcher, S.F.; Grey, V.E.; Tran, L.O.; Lumma, W.C.; Huff, J.R.; Schleif, W.A.; Emini, E.E.; O'Brien, J.A.; Petti bone, D.J. 2-Heterocyclic indole-3-sulfones as inhibitors of HIV-reverse transcriptase. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1995, 5, 491-496.
20. Genin, M.J.; Poel, T.J.; Yagi, Y.; Biles, C.; Althaus, I.; Keiser, B.J.; Kopta, L.A.; Friis, J.M.; Reusser, F.; Adams, W.J.; Olmsted, R.A.; Voorman, R.L.; Thomas, R.C. and Romero, D.L. Synthesis and bioactivity of novel bis(heteroaryl)piperazine (BHAP) reverse transcriptase inhibitors: structure-activity relationships and increased metabolic stability of novel substituted pyridine analogs. *J. Med. Chem.*, 1996, 39, 5267-5275.
21. Silvestri, R.; Artico, M.; Bruno, B.; Massa, S.; Novellino, E.; Greco, G.; Marongiu, M.E.; Pani, A.; De Montis, A and La Colla, P. Synthesis and biological evaluation of 5H-indolo[3,2-b][1,5]benzothiazepine derivatives, designed as conformationally constrained analogues of the human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase inhibitor L-737,126. *Antiviral Chem. Chemother.* 1998, 9, 139-148.
22. Fredenhagen, A.; Petersen, F.; Tintelnot-Blomley, M.; Rosel, J.; Mett, H and Hug, P. J. Semicochlordinol A and B: Inhibitors of HIV-1 protease and EGF-R protein Tyrosine Kinase related to Asterriquinones produced by the fungus *Chrysosporium nerdarium*. *Antibiotics*, 1997, 50, 395-401.
23. Kato, M.; Ito, K.; Nishino, S.; Yamakuni, H.; Takasugi, H. New 5-HT₃ (Serotonin-3) receptor antagonists. IV. Synthesis and structure-activity relationships of azabicycloalkaneacetamide derivatives. *Chem. Pharm. Bull.*, 1995, 43, 1351-1357.
24. Levacher, V.; Benoit, R.; Duflos, J.; Dupas, G.; Bourguignon, J.; Queguiner, G. Broadening the scope of NADH models by using chiral and non chiral pyrrolo [2,3-b] pyridine derivatives. *Tetrahedron*, 1991, 47, 429-440.
25. Shadrina, L.P.; Dormidontov, Yu.P.; Ponomarev, V.G.; Lapkin, I.I. Reactions of organomagnesium derivatives of 7-aza- and benzoindoles with diethyl oxalate and the reactivity of ethoxalylindoles. *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1987, 1206-1209.
26. Sycheva, T.V.; Rubtsov, N.M.; Sheinker, Yu.N.; Yakhontov, L.N. Some reactions of 5-cyano-6-chloro-7-azaindoles and lactam-lactim tautomerism in 5-cyano-6-hydroxy-7-azaindolines. *Khim. Geterotsikl. Soedin.*, 1987, 100-106.
27. (a) Desai, M.; Watthey, J.W.H.; Zuckerman, M. A convenient preparation of 1-arylpiperazines. *Org. Prep. Proced. Int.*, 1976, 8, 85-86. (b) Adamczyk, M.; Fino, J.R. Synthesis of procainamide metabolites. N-acetyl desethyl-procainamide and desethylprocainamide. *Org. Prep. Proced Int.* 1996, 28, 470-474. (c) Rossen, K.; Weissman, S.A.; Sager, J.; Reamer, R.A.; Askin, D.; Volante, R.P.; Reider, P.J. Asymmetric Hydrogenation of tetrahydropyrazines: Synthesis of (S)-piperazine 2-tert-butylcarboxamide, an intermediate in the preparation of the HIV protease inhibitor Indinavir. *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 6419-6422. (d) Wang, T.; Zhang, Z.; Meanwell, N.A. Benzoylation of Dianions: Preparation of mono-Benzoylated Symmetric Secondary Diamines. *J.Org.Chem.*, 1999, 64,7661-7662.
28. Li, H.; Jiang, X.; Ye, Y.-H.; Fan, C.; Romoff, T.; Goodman, M. 3-(Diethoxyphosphoryloxy)-1,2,3-benzotriazin-4 (3H)-one (DEPBT):A new coupling reagent with remarkable resistance to racemization. *Organic Lett.*, 1999,1,91-93.
29. Harada, N.; Kawaguchi, T.; Inoue, I.; Ohashi, M.; Oda, K.; Hashiyama, T.; Tsujihara, K. Synthesis and antitumor activity of quaternary salts of 2-(2'-oxoalkoxy)-9-hydroxyellipticines. *Chem. Pharm. Bull.*, 1997, 45, 134-137.
30. Schneller, S.W.; Luo, J.-K. Synthesis of 4-amino-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (1,7-Dideazaadenine) and 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridin-4-ol (1,7-Dideazahypoxanthine). *J. Org. Chem.*, 1980, 45, 4045-4048.
31. Shiotani, S.; Tanigochi, K. Furopyridines. XXII [1]. Elaboration of the C-substituents alpha to the heteronitrogen atom of furo[2,3-b]-, -[3,2-b]-, -[2,3-c]- and -[3,2-c]pyridine. *J. Het. Chem.*, 1997, 34, 901-907.
32. Minakata, S.; Komatsu, M.; Ohshiro, Y. Regioselective functionalization of 1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine via its N-oxide. *Synthesis*, 1992, 661-663.

33. Klemm, L. H.; Hartling, R. Chemistry of thienopyridines. XXIV. Two transformations of thieno[2,3-b]pyridine 7-oxide (1). *J. Het. Chem.*, 1976, 13, 1197-1200.
- 5 34. Antonini, I.; Claudi, F.; Cristalli, G.; Franchetti, P.; Crifantini, M.; Martelli, S. Synthesis of 4-amino-1-h-D-ribofuranosyl-1H-pyrrolo[2,3-b]pyridine (1-Deazatubercidin) as a potential antitumor agent. *J. Med. Chem.*, 1982, 25, 1258-1261.
- 10 35. (a) Regnouf De Vains, J.B.; Papet, A.L.; Marsura, A. New symmetric and unsymmetric polyfunctionalized 2,2'-bipyridines. *J. Het. Chem.*, 1994, 31, 1069-1077. (b) Miura, Y.; Yoshida, M.; Hamana, M. Synthesis of 2,3-fused quinolines from 3-substituted quinoline 1-oxides. Part II, *Heterocycles*, 1993, 36, 1005-1016. (c) Profft, V.E.; Rolle, W. Uber 4-merkaptoverbindungendes 2-methylpyridins. *J. Prakt. Chem.*, 1960, 283 (11), 22-34.
- 15 36. Nesi, R.; Giomi, D.; Turchi, S.; Tedeschi, P., Ponticelli, F. A new one step synthetic approach to the isoxazolo [4,5-b]pyridine system. *Synth. Comm.*, 1992, 22, 2349-2355.
- 20 37. (a) Walser, A.; Zenchoff, G.; Fryer, R.I. Quinazolines and 1,4-benzodiazepines. 75. 7-Hydroxyaminobenzodiazepines and derivatives. *J. Med. Chem.*, 1976, 19, 1378-1381. (b) Barker, G.; Ellis, G.P. Benzopyrone. Part I. 6-Amino- and 6-hydroxy-2-substituted chromones. *J. Chem. Soc.*, 1970, 2230-2233.
- 25 38. Ayyangar, N.R.; Lahoti, R J.; Daniel, T. An alternate synthesis of 3,4-diaminobenzophenone and mebendazole. *Org. Prep. Proced. Int.*, 1991, 23, 627-631.
- 30 39. Mahadevan, I.; Rasmussen, M. Ambident heterocyclic reactivity: The alkylation of pyrrolopyridines (azaindoles, diazaindenes). *Tetrahedron*, 1993, 49, 7337-7352.
- 35 40. Chen, B.K.; Saksela, K.; Andino, R.; Baltimore, D. Distinct modes of human immunodeficiency type 1 proviral latency revealed by superinfection of nonproductively infected cell lines with recombinant luciferase-encoding viruses. *J. Virol.*, 1994, 68, 654-660.
- 40 41. Bodanszky, M.; Bodanszky, A. "The Practice of Peptide Synthesis 2nd Ed., Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, Germany, 1994.
42. Albericio, F. et al. *J. Org. Chem.* 1998, 63, 9678.
- 45 43. Knorr, R. et al. *Tetrahedron Lett.* 1989, 30, 1927.
44. (a) Jaszay Z. M. et al. *Synth. Commun.*, 1998 28, 2761 and references cited therein; (b) Bernasconi, S. et al. *Synthesis*, 1980, 385.
- 40 45. (a) Jaszay Z. M. et al. *Synthesis*, 1989, 745 and references cited therein; (b) Nicolaou, K. C. et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* 1999, 38, 1669.
46. Ooi, T. et al. *Synlett.* 1999, 729.
- 45 47. Ford, R. E. et al. *J. Med. Chem.* 1986, 29, 538.
48. (a) Yeung, K.-S. et al. Bristol-Myers Squibb Unpublished Results. (b) Wang, W. et al. *Tetrahedron Lett.* 1999, 40, 2501.
- 50 49. Brook, M. A. et al. *Synthesis*, 1983, 201.
50. Yamazaki, N. et al. *Tetrahedron Lett.* 1972, 5047.
- 55 51. Barry A. Bunin "The Combinatorial Index" 1998 Academic Press, San Diego / London pages 78-82.
52. Richard C. Larock *Comprehensive Organic Transformations* 2nd Ed. 1999, John Wiley and Sons New York.
53. M.D. Mullican et al. *J. Med. Chem.* 1991, 34, 2186-2194.
- 60 54. *Protective groups in organic synthesis 3rded./Theodora W. Greene and Peter G.M. Wuts. NewYork: Wiley,1999.*
- 65 55. Katritzky, Alan R. Lagowski, Jeanne M. *The principles of heterocyclic Chemistry NewYork: Academic Press,1968.*

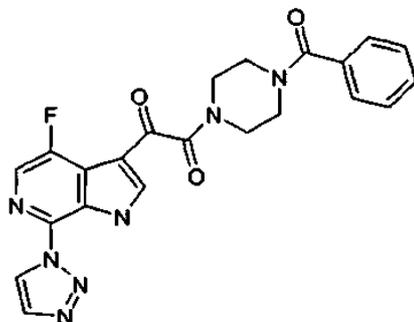
56. Paquette, Leo A. Principles of modern heterocyclic chemistry New York : Benjamin.
57. Katritzky, Alan R.; Rees, Charles W.; Comprehensive heterocyclic chemistry: the structure, reactions, synthesis, and uses of heterocyclic compounds 1st ed. Oxford (Oxfordshire) ; New York: Pergamon Press, 1984. 8 v.
58. Katritzky, Alan R. Handbook of heterocyclic 1st ed Oxford (Oxfordshire) ; New York : Pergamon Press, 1985.
59. Davies, David I Aromatic Heterocyclic Oxford ; New York : Oxford University Press, 1991.
60. Ellis, G. P. Synthesis of fused Chichester [Sussex] ; New York: Wiley, c1987-c1992. Chemistry of heterocyclic compounds ; v. 47.
61. Joule, J. A Mills, K. Smith, G. F. Heterocyclic Chemistry, 3rd ed London; New York Chapman & Hall, 1995.
62. Katritzky, Alan R., Rees, Charles W. , Scriven, Eric F. V. Comprehensive heterocyclic chemistry II: a review of the literature 1982-1995.
63. The structure, reactions, synthesis, and uses of heterocyclic compounds 1st ed. Oxford ; New York: Pergamon, 1996. 11 v. in 12 : ill. ; 28 cm.
64. Eicher, Theophil, Hauptmann, Siegfried. The chemistry of heterocycles: structure, reactions, syntheses, and applications Stuttgart ; New York : G. Thieme, 1995.
65. Grimmett, M. R. Imidazole and benzimidazole Synthesis London; San Diego: Academic Press, 1997.
66. Advances in heterocyclic chemistry. Published in New York by Academic Press, starting in 1963-present.
67. Gilchrist, T. L. (Thomas Lonsdale) Heterocyclic chemistry 3rd ed. Harlow, Essex : Longman, 1997. 414 p. : ill. ; 24 cm.
68. Farina, Vittorio; Roth, Gregory P. Recent advances in the Stille reaction; Adv. Met.-Org. Chem. 1996, 5, 1-53.
69. Farina, Vittorio; Krishnamurthy, Venkat; Scott, William J. The Stille reaction; Org. React. (N. Y.) (1997), 50, 1-652.
70. Stille, J. K. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1986, 25, 508-524.
71. Norio Miyaura and Akiro Suzuki Chem Rev. 1995, 95, 2457.
72. Home, D.A. Heterocycles 1994, 39, 139.
73. Kamitori, Y. et al. Heterocycles, 1994, 37(1), 153.
74. Shawali, J. Heterocyclic Chem. 1976, 13, 989.
75. a) Kende, A.S. et al. Org. Photochem. Synth. 1972, 1, 92. b) Hankes, L.V.; Biochem. Prep. 1966, 11, 63. c) Synth. Meth. 22, 837.
76. Hulton et. al. Synth. Comm. 1979, 9, 789.
77. Pattanayak, B.K. et.al. Indian J. Chem. 1978, 16, 1030.
78. Chemische Berichte 1902, 35, 1545.
79. Chemische Berichte Ibid 1911, 44, 493.
80. Moubarak, I., Vessiere, R. Synthesis 1980, Vol. 1, 52-53.
81. Ind J. Chem. 1973, 11, 1260.
82. Roomi et al. Can J. Chem. 1970, 48, 1689.
83. Sorrel, T.N. J. Org. Chem. 1994, 59, 1589.

84. Nitz, T.J. et. al. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 5828-5832.
85. Bowden, K. et.al. *J. Chem. Soc.* 1946, 953.
- 5 86. Nitz, T.J. et. al. *J. Org. Chem.* 1994, 59, 5828-5832.
87. Scholkopf et. al. *Angew. Int. Ed. Engl.* 1971, 10(5), 333.
88. (a) Behun, J. D.; Levine, R. *J. Org. Chem.* 1961, 26, 3379. (b) Rossen, K.; Weissman, S.A.; Sager, J.; Reamer, R.A.; Askin, D.; Volante, R.P.; Reider, P.J. Asymmetric Hydrogenation of tetrahydropyrazines: Synthesis of (S)-pip-erazine 2-tert-butylcarboxamide, an intermediate in the preparation of the HIV protease inhibitor Indinavir. *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36, 6419-6422. (c) Jenneskens, L. W.; Mahy, J.; den Berg, E. M. M. de B.-v.; Van der Hoef, I.; Lugtenburg, J. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* 1995, 114, 97.
- 10 89. Wang, T.; Zhang, Z.; Meanwell, N.A. Benzoylation of Dianions: Preparation of mono-Benzoylated Symmetric Secondary Diamines. *J. Org. Chem.*, 1999, 64, 7661-7662.
90. (a) Adamczyk, M.; Fino, J.R. Synthesis of procainamide metabolites. N-acetyl desethylprocainamide and desethylprocainamide. *Org. Prep. Proced. Int.* 1996, 28, 470-474. (b) Wang, T.; Zhang, Z.; Meanwell, N.A. Regioselective mono-Benzoylation of Unsymmetrical Piperazines. *J. Org. Chem.* 2000, 65, 4740.
- 20 91. Masuzawa, K.; Kitagawa, M.; Uchida, H. *Bull Chem. Soc. Jpn.* 1967, 40, 244-245.
92. Furber, M.; Cooper, M. E.; Donald, D. K. *Tetrahedron Lett.* 1993, 34, 1351-1354.
- 25 93. Blair, Wade S.; Deshpande, Milind; Fang, Haiquan; Lin, Pin-fang; Spicer, Timothy P.; Wallace, Owen B.; Wang, Hui; Wang, Tao; Zhang, Zhongxing; Yeung, Kap-sun. Preparation of antiviral indoleoxoacetyl piperazine derivatives US patent 6,469,006. Preparation of antiviral indoleoxoacetyl piperazine derivatives. PCT Int. Appl. (PCT/US00/14359), WO 0076521 A1, presentada el 24 de Mayo de 2000, publicada el 21 de diciembre de 2000.
- 30 94. Wang, Tao; Wallace, Owen B.; Zhang, Zhongxing; Meanwell, Nicholas A.; Bender, John A. Antiviral azaindole derivatives. U.S. patent 6476034 and Wang, Tao; Wallace, Owen B.; Zhang, Zhongxing; Meanwell, Nicholas A.; Bender, John A. Preparation of antiviral azaindole derivatives. PCT Int. Appl. (PCT/US01/02009), WO 0162255 A1, presentada el 19 de enero de 2001, publicada el 30 de agosto de 2001.
- 35 95. Wallace, Owen B.; Wang, Tao; Yeung, Kap-Sun; Pearce, Bradley C.; Meanwell, Nicholas A.; Qiu, Zhilei; Fang, Haiquan; Xue, Qiufen May; Yin, Zhiwei. Composition and antiviral activity of substituted indoleoxoacetic piperazine derivatives. U.S. Patent Application Serial Number 10/027,612 presentada el 19 de diciembre de 2001, que es una solicitud de continuación en parte de U.S. Serial Number 09/888,686 presentada el 25 de junio de 2001 (que corresponde a PCT Int. Appl. (PCT/US01/20300), WO 0204440 A1, presentada el 26 de junio de 2001, publicada el 17 de enero de 2002.
- 40 96. J. L. Marco, S. T. Ingate, and P. M. Chinchon *Tetrahedron* 1999, 55, 7625-7644.
- 45 97. C. Thomas, F. Orecher, and P.Gmeiner *Synthesis* 1998, 1491.
98. M. P. Pavia, S. J. Lobbestael, C. P. Taylor, F. M. Hershenson, and D. W. Miskell
99. Buckheit, Robert W., Jr. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2001, 10(8), 1423-1442.
- 50 100. Balzarini, J.; De Clercq, E.. *Antiretroviral Therapy* 2001, 31-62.
101. E. De clercq *Journal of Clinical Virology*, 2001, 22,73-89.
- 55 102. Merour, Jean-Yves; Joseph, Benoit. *Curr. Org. Chem.* (2001), 5(5), 471-506.
103. T. W. von Geldern et al. *J. Med. Chem* 1996, 39, 968.
104. M. Abdaoui et al. *Tetrahedron* 2000, 56, 2427.
- 60 105. W. J. Spillane et al. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 1982, 3, 677
106. Wang, Tao; Wallace, Owen B.; Zhang, Zhongxing; Meanwell, Nicholas A.; Kadow, John F. Yin, Zhiwei. Composition and Antiviral Activity of Substituted Azaindoleoxoacetic Piperazine Derivatives. U.S. Patent Application Serial Number 10/214,982 filed August 7, 2002, which is a continuation-in-part application of U.S. Serial Number 10/038,306 filed January 2, 2002 (corresponding to PCT Int. Appl. (PCT/US02/00455), WO
- 65

02/062423 A1, filed January 2, 2002, published August 15, 2002.

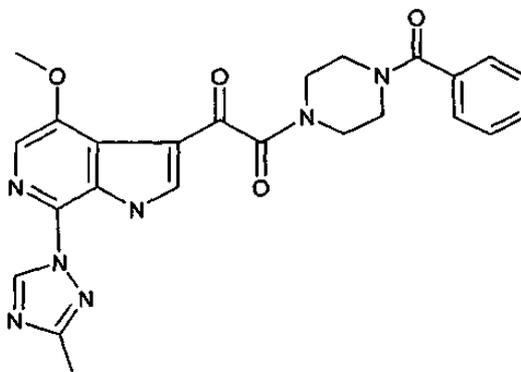
Sumario de la invención

5 La invención se refiere a un compuesto, incluyendo sus sales aceptables farmacéuticamente,



10

o al compuesto, incluyendo sus sales aceptables farmacéuticamente,



15

Una realización de la invención es una formulación farmacéutica que comprende una cantidad antivírica eficaz de un compuesto de la invención, incluyendo sus sales aceptables farmacéuticamente y un vehículo aceptable farmacéuticamente. Cuando se usa en el tratamiento de la infección por VIH, dicha formulación puede contener de manera adicional y opcional una cantidad antivírica eficaz de un agente de tratamiento de SIDA escogido entre el grupo que consiste en: un agente antivírico de SIDA; un agente anti-infeccioso; un inmuno-modulador; e inhibidores de entrada de VIH.

20

Una realización adicional de la invención es un compuesto de la invención para su uso en un procedimiento para el tratamiento de mamíferos infectados con un virus, tal como VIH, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad antivírica eficaz de un compuesto de la invención, incluyendo sus sales aceptables farmacéuticamente, un vehículo aceptable farmacéuticamente, de manera opcional en combinación con un cantidad antivírica eficaz de un agente de tratamiento de SIDA escogido entre el grupo que consiste en: (a) un agente antivírico de SIDA; (b) un agente anti-infeccioso; (c) un inmuno-modulador; y (d) inhibidores de entrada de VIH.

25

Descripción detallada de la invención

30

Debido a que los compuestos de la presente invención pueden poseer centros asimétricos y, por tanto, aparecer como mezclas de diastereoisómeros y enantiómeros, la presente divulgación incluye formas diastereoisoméricas individuales y enantioméricas de los compuestos de la invención, además de sus mezclas.

35

Las sales aceptables fisiológicamente de los compuestos divulgados en el presente documento se encuentran dentro del ámbito de la presente invención. Se pretende que la expresión "sal aceptable farmacéuticamente", según se usa en el presente documento y en las reivindicaciones, incluya sales de adición de base no tóxicas. Sales apropiadas incluye las procedentes de ácidos orgánicos e inorgánicos tales como, sin limitación, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido sulfínico, ácido cítrico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido sórbico, ácido aconítico, ácido salicílico, ácido ftálico y similares. Se pretende que la expresión "sal aceptable farmacéuticamente", según se usa en el presente documento, incluya sales de grupos de ácido, tales como carboxilato, con contra-iones tales como amonio, sales de metales alcalinos, en particular de sodio y potasio, sales de metales alcalino-térreos, en particular de calcio o magnesio, y sales con bases orgánicas apropiadas tales como alquilaminas inferiores (metilamina, etilamina,

40

ciclohexilamina y similares) o con alquilaminas inferiores sustituidas (por ejemplo, alquilaminas con sustitución de hidroxilo tales como dietanolamina, trietanolamina o tris(hidroximetil)-aminometano) o con bases tales como piperidina o morfolina.

5 En la presente invención, la expresión "cantidad eficaz antivírica" significa la cantidad total de cada componente activo que resulta suficiente para mostrar un beneficio positivo sobre el paciente, es decir, curación de condiciones agudas caracterizada por la inhibición de la infección por VIH. Cuando se aplica a un principio activo individual, administrado solo, la expresión se refiere al ingrediente solo. Cuando se aplica a una combinación, la expresión se refiere a cantidades combinadas de los principios activos que tienen como resultado el efecto terapéutico, ya sea
10 administrado en combinación, en serie o de forma simultánea. Los términos "tratar y tratamiento" según se usan en el presente documento y en las reivindicaciones, significa evitar o mejorar las enfermedades asociadas con la infección por VIH.

15 La presente invención también va destinada a combinaciones de los compuestos con uno o más agentes útiles en el tratamiento de SIDA. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención se pueden administrar de forma eficaz, ya sea en períodos de pre-exposición y/o de pos-exposición, en combinación con cantidades eficaces de los antivíricos de SIDA, inmuno-moduladores, anti-infecciosos o vacunas, tales como los de la tabla siguiente.

ANTIVÍRICOS

Nombre del fármaco	Fabricante	Indicación
097	Hoechs/Bayer	infección por VIH, SIDA, ARC (Inhibidor de transcriptasa inversa que no es nucleósido (RT))
Amprenivir 141 W94GW 141	Glaxo Wellcome	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Abacavir (1592U89) GW 1592	Glaxo Wellcome	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de RT)
Acemanan	Carrington Labs (Irving, TX)	ARC
Acyclovir	Burroughs Wellcome	infección por VIH, SIDA, ARC, en combinación con AZT
AD-439	Tanox Biosystems	Infección por VIH, SIDA, ARC
AD-519	Tanox Biosystems	Infección por VIH, SIDA, ARC
Adefovir dipivoxilo AL-721	Gilead Sciences Ethigen (Los Angeles, CA)	Infección por VIH, ARC, PGL, VIH positivo, SIDA
Interferon Alfa	Glaxo Wellcome	Sarcoma de Kaposi, VIH en combinación w/Retrovir
Ansamicina LM 427	Adria Laboratories (Dublin, OH) Erbamont (Stamford, CT)	ARC
Anticuerpo que neutraliza el alfa interfeerón aberrante lábil de pH	Advanced Biotherapy Concepts (Rockville, MD)	SIDA, ARC
AR177	Aronex Pharm	Infección por VIH, SIDA, ARC
Beta-fluoro-ddA	Nat'l Cancer Institute	Enfermedades asociadas a SIDA

ES 2 560 844 T3

BMS-232623 (CGP-73547)	Bristol-Myers Squibb/ Novartis	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
BMS-234475 (CGP-61755)	Bristol-Myers Squibb/ Novartis	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
CI-1012 Cidofovir	Warner-Lambert Gilead Science	Infección por VIH-1, retinitis CMV, herpes, papillomavirus
Sulfato de Curdlan	AJI Pharma USA	infección por VIH
Citomegalovirus Inmunoglobulina	MedImmune	Retinitis CMV
Cytovene Ganciclovir	Syntex	Riesgo para la vista CMV, CMV periférica retinitis
Delaviridina	Pharmacia-Upjohn	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de RT)
Sulfato de dextrano	Ueno Fine Chem. Ind. Ltd. (Osaka, Japan)	SIDA, ARC, VIH positivo asintomático
ddC Dideoxicitidina	Hoffman-La Roche	Infección por VIH, SIDA, ARC
ddI Dideoxiinosina	Bristol-Myers Squibb	Infección por VIH, SIDA, ARC; combinación con AZT/d4T
DMP-450	AVID (Camden, NJ)	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Efavirenz (DMP 266) (-)-6-cloro-4-(S)-ciclopropiletinil-4 (S)-trifluorometil-1,4-dihidro-2H-3,1-benzoxazin-2-ona, STOCRINE	DuPont Merck	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de RT que no es nucleosido)
EL10	Elan Corp, PLC (Gainesville, GA)	Infección por VIH
Famciclovir	Smith Kline	herpes zoster, herpes simplex
FTC	Emory University	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de transcriptasa inversa)
GS 840	Gilead	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de transcriptasa inversa)
HBY097	Hoechst Marion Roussel	Infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de transcriptasa inversa que no es nucleósido)

ES 2 560 844 T3

Hipericina	VIMRx Pharm.	Infección por VIH, SIDA, ARC
Interferon Beta humano recombinante	Triton Biosciences (Alameda, CA)	SIDA, sarcoma de Kaposi, ARC
Interferon alfa-n3	Interferon Sciences	ARC, SIDA
Indinavir	Merck	Infección por VIH, SIDA, ARC, VIH positivo asintomático, también en combinación con AZT/ddT/ddC
ISIS 2922	ISIS Pharmaceuticals	retinitis CMV
KNI-272	Nat'l Cancer Institute	enfermedades asociadas a VIH
Lamivudina, 3TC	Glaxo Wellcome	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de transcriptasa inversa); también con AZT
Lobucavir Nelfinavir	Bristol-Myers Squibb Agouron Pharmaceuticals	infección por CMV infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Nevirapina	Boeheringer Ingleheim	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de RT)
Novapreno	Novaferon Labs, Inc. (Akron, OH)	inhibidor de VIH
Octapéptido Secuencia de Péptido T	Peninsula Labs (Belmont, CA)	SIDA
Fosfonoformiato de trisodio	Astra Pharm. Products, Inc.	retinitis CMV, infección por VIH, otras infecciones por CMV
PNU-140690	Pharmacia Upjohn	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Probucol	Vyrex	infección por VIH, SIDA
RBC-CD4	Sheffield Med. Tech (Houston, TX)	infección por VIH, SIDA, ARC
Ritonavir	Abbott	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Saquinavir	Hoffmann-LaRoche	infección por VIH, SIDA, ARC (inhibidor de proteasa)
Stavudina; d4T Dideshidrodeseoxy-timidina	Bristol-Myers Squibb	infección por VIH, SIDA, ARC
Valaciclovir	Glaxo Wellcome	HSV genital e infecciones por CMV

ES 2 560 844 T3

Virazol Ribavirina	Viratek/ICN (Costa Mesa, CA)	VIH positivo asintomático, LAS, ARC
VX-478	Vertex	infección por VIH, SIDA, ARC
Zalcitabina	Hoffmann-LaRoche	infección por VIH, SIDA, ARC, con AZT
Zidovudina; AZT	Glaxo Wellcome	infección por VIH, SIDA, ARC, sarcoma de Kaposi, en combinación con otras terapias
Tenofovir disoproxilo, sal de fumarato (Viread®)	Gilead	infección por VIH, SIDA, (inhibidor de transcriptasa inversa)
Combivir®	GSK	infección por VIH, SIDA, (inhibidor de transcriptasa inversa)
Succinato de abacavir (o Ziagen®)	GSK	infección por VIH, SIDA, (inhibidor de transcriptasa inversa)
REYATAZ® (o atazanavir)	Bristol-Myers Squibb	infección por VIH, SIDA, inhibidor de proteasa
FUZEON (o T-20)	Roche / Trimeris	infección por VIH, SIDA, inhibidor de fusión vírica

INMUNO-MODULADORES

Nombre del fármaco	Fabricante	Indicación
AS-101	Wyeth-Ayerst	SIDA
Bropirimina	Pharmacia Upjohn	SIDA avanzado
Acemanano	Carrington Labs, Inc. (Irving, TX)	SIDA, ARC
CL246,738	American Cyanamid Lederle Labs	SIDA, sarcoma de Kaposi
EL10	Elan Corp, PLC (Gainesville, GA)	Infección por VIH
FP-21399	Fuki ImmunoPharm	Bloques de fusión de VIH con células CD4
Interferon gamma	Genentech	ARC, en combinación con w/TNF (factor de necrosis tumoral)
Factor estimulador de colonia de macrófagos de granulocito	la Genetics Institute Sandoz	SIDA
Factor estimulador de colonia de macrófagos de granulocito	la Hoechst-Roussel Immunex	SIDA

ES 2 560 844 T3

Factor estimulador de la colonia de macrófagos de granulocito	la Schering-Plough	SIDA, combinación w/AZT
Inmunoestimulante de Rorer partículas de núcleo de VIH		seropositivo VIH
IL-2 Interleucina-2	Cetus	SIDA, combinación w/AZT
IL-2 Interleucina-2	Hoffman-LaRoche Immunex	SIDA, ARC, HIV, en combinación w/AZT
IL-2 Interleucina-2 (aldeslucina)	Chiron	SIDA, aumento en el conteo de células CD4
Inmunoglobulina intravenosa (humana)	Cutter Biological (Berkeley, CA)	SIDA pediátrico, en combinación w/AZT
IMREG-1	Imreg (New Orleans, LA)	SIDA, sarcoma de Kaposi, ARC, PGL
IMREG-2	Imreg (New Orleans, LA)	SIDA, sarcoma de Kaposi, ARC, PGL
Ditio carbamato de imunitiol y dietilo	Merieux Institute	SIDA, ARC
Interferon alfa-2	Schering Plough	sarcoma de Kaposi w/AZT, SIDA
Metionina-Encefalina	TNI Pharmaceutical (Chicago, IL)	SIDA, ARC
MTP-PE	Ciba-Geigy Corp.	sarcoma de Kaposi
Factor estimulador de colonia de granulocito muramilo-tripéptico	Amgen	SIDA, en combinación w/AZT
Remune	Immune Response Corp.	Inmunoterapéutico
rCD4 CD4 humano soluble recombinante	Genentech	SIDA, ARC
Híbridos rCD4-IgG		SIDA, ARC
CD4 humano soluble recombinante	Biogen	SIDA, ARC
Interferon Alfa 2a	Hoffman-La Roche	sarcoma de Kaposi, SIDA, ARC, en combinación w/AZT
SK&F106528 Soluble T4	Smith Kline	infección por VIH

ES 2 560 844 T3

Timopentina	Immunobiology Research Institute (Annandale, NJ)	infección por VIH
Factor de necrosis tumoral; TNF	Genentech	ARC, en combinación con interferon w/gamma

ANTI-INFECCIOSOS

Nombre del fármaco	Fabricante	Indicación
Clindamicina con Primaquina	Pharmacia Upjohn	PCP
Fluconazol	Pfizer	meningitis criptocócica, candidiasis
Pastille Nistatina Pastille	Squibb Corp.	Prevención de la candidiasis oral
Ornidilo Eflornitina	Merrell Dow	PCP
Isetionato de pentamida (IM & IV)	LyphoMed (Rosemont, IL)	Tratamiento de PCP
Trimethoprim		Antibacteriano
Trimethoprim/sulfa		Antibacteriano
Piritrexim	Burroughs Wellcome	Tratamiento de PCP
Isetionato de pentamidina para inhalación	Fisons Corporation	Profilaxis de PCP
Espiramicina	Rhone-Poulenc diarrhea	Histoplasmosis criptosporidial;
Intraconazole-R51211	Janssen-Pharm.	Meningitis criptocócica
Trimetrexato	Warner-Lambert	PCP
Daunorubicina	NeXstar, Sequus	sarcoma de Kaposi
Eiytropoyetina recombinante humana	Ortho Pharm. Corp.	Anemia grave asociada a terapia de AZT
Hormona de crecimiento humano recombinante	Serono	residuos relacionados con SIDA, caquexia
Acetato de megestrol	Bristol-Myers Squibb	Treatment of anorexia assoc. W/AIDS
Testosterona	Alza, Smith Kline	residuos relacionados con SIDA

Nutrición entérica total

Norwich Eaton Pharmaceuticals

diarrea y disfunción de absorción
relacionadas con SIDA

De manera adicional, los compuestos de la presente invención del presente documento se pueden usar en combinación con otra clase de agentes para el tratamiento de SIDA que son denominados inhibidores de la entrada de VIH. Ejemplos de tales inhibidores de la entrada de VIH se estudian en DRUGS OF THE FUTURE 1999 24(12), pp. 1355-1362; CELL, vol 9, pp. 243-246, 29 de octubre, 1999; y DRUG DISCOVERY TODAY, vol. 5, N^o. 5, mayo 2000, pp. 183-194.

Debe entenderse que el ámbito de las combinaciones de los compuestos de la presente invención con los antivíricos de SIDA, inmuno-moduladores, anti-infecciosos, inhibidores de la entrada de VIH o vacunas no se limita al listado de la Tabla anterior, sino que incluye en principio cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para el tratamiento de SIDA.

Las combinaciones preferidas son tratamientos simultáneos o alternativos con un compuesto de la presente invención y un inhibidor de la proteasa de VIH y/o un inhibidor que no es nucleosido de transcriptasa inversa de VIH. Un cuarto componente opcional en la combinación es un inhibidor de nucleosido de transcriptasa inversa de VIH, tal como AZT, 3TC, ddC o ddl. Un inhibidor preferido de proteasa de VIH es indinavir, que es la sal de sulfato de etanolato de N-(2-(R)-hidroxi-1-(S)-indanil)-2(R)-fenilmetil-4-(S)-hidroxi-5-(1-(4-(3-piridil-metil)-2(S)-N-(t-butilcarboxamido)-piperazinil))-pentamida, y se sintetiza de acuerdo con el documento de EE.UU. 5.413.999. En general, indinavir se administra a una dosificación de 800 mg tres veces al día. Otra clase preferida de inhibidores de proteasa son nelfinavir y ritonavir. Otro inhibidor preferido de proteasa de VIH es saquinavir que se administra en una dosificación de 600 ó 1200 mg tid. Inhibidores transcriptasa inversa de VIH preferidos que no son de nucleosido incluyen efavirez. La preparación de ddC, ddl y AZT también se describe en EPO 0.484.071. Estas combinaciones pueden presentar efectos no esperados sobre la limitación de la dispersión y el grado de la infección de VIH. Combinaciones preferidas incluyen con los siguientes (1) indinavir con efavirez, y, de manera opcional, AZT y/o 3TC y/o ddl y/o ddC; (2) indinavir, y cualquiera de AZT y/o ddl y/o ddC y/o 3TC, en particular, indinavir y AZT y 3TC; (3) estavudina y 3TC y/o zidovudina; (4) zidovudina y lamivudina y 141W94 y 1592U89; (5) zidovudina y lamivudina.

En dichas combinaciones el compuesto de la presente invención y los otros agentes activos se pueden administrar por separado o juntos. Además, la administración de un elemento puede ser antes de, de manera concurrente con, o después de la administración del otro agente(s).

Los procedimientos preparativos y la actividad anti-VIH-1 de los compuestos de la invención se resuelve a continuación.

35 **Abreviaturas**

Las siguientes abreviaturas, la mayoría de las cuales son abreviaturas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica, se usan en la memoria descriptiva de la invención y en los ejemplos. Algunas de las abreviaturas usadas son las siguientes:

40	h	= hora(s)
	Ta	= temperatura ambiente
	mol	= mol(es)
	mmol	= milimol(es)
45	g	= gramo(s)
	mg	= miligramo(s)
	ml	= mililitro(s)
	TFA	= Ácido trifluoroacético
	DCE	= 1,2-Dicloroetano
50	CH ₂ Cl ₂	= Diclorometano
	TPAP	= Perrutenato de tetrapropilamonio
	THF	= Tetrahidrofurano
	DEPBT	= 3-(Dietoxifosforiloxi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona
	DMAP	= 4-dimetilaminopiridina
55	P-EDC	= polímero sobre soporte 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	EDC	= 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	DMF	= N,N-dimetilformamida
	Hunig's Base	= N,N-Diisopropiletilamina
	mCPBA	= Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
60	azaindole	= 1H-Pirrol-piridina
	4-azaindole	= 1H-pirrol[3,2-b]pyridina
	5-azaindole	= 1H-Pirrol[3,2-c]pyridina
	6-azaindole	= 1H-pirrol[2,3-c]pyridina

	7-azaindole	= 1 <i>H</i> -Pirrolo[2,3- <i>b</i>]piridina
	PMB	= 4-Metoxibenzilo
	DDQ	= 2, 3-Dicloro-5, 6-diciano-1, 4-benzoquinona
	OTf	= Trifluorometanosulfonoxi
5	NMM	= 4-Metilmorfolina
	PIP-COPh	= 1-Benzoilpiperazina
	NaHMDS	= Hexametildisilazida de sodio
	EDAC	= 1-(3-Dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	TMS	= Trimetilsililo
10	DCM	= Diclorometano
	DCE	= Dicloroetano
	MeOH	= Metanol
	THF	= Tetrahidrofurano
	EtOAc	= Acetato de etilo
15	LDA	= diisopropilamida de litio
	TMP-Li	= 2,2,6,6-tetrametilpiperidinil litio
	DME	= Dimetoxietano
	DIBALH	= Hidruro de diisobutilaluminio
	HOBT	= 1-hidroxibenzotriazol
20	CBZ	= Benciloxicarbonilo
	PCC	= Clorocromato de piridinio
	Me	= Metilo
	Ph	= Fenilo

25 Química

La presente invención comprende compuestos de la invención, sus formulaciones farmacéuticas y su uso en pacientes que padecen o que son susceptibles a la infección por VIH. Los compuestos de la invención incluyen sus sales aceptables farmacéuticamente.

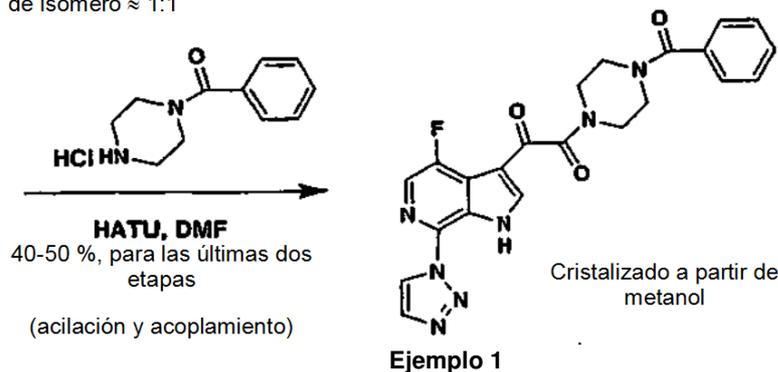
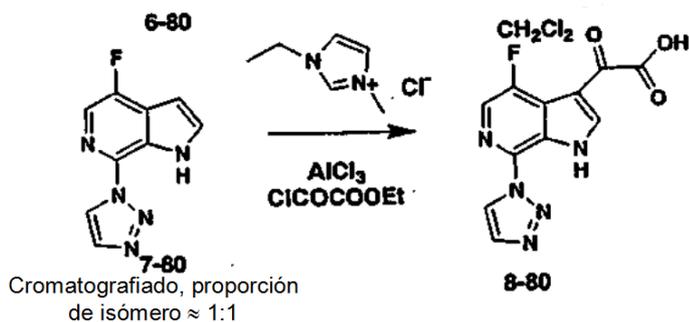
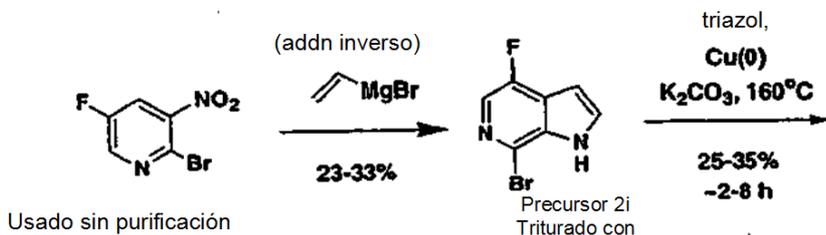
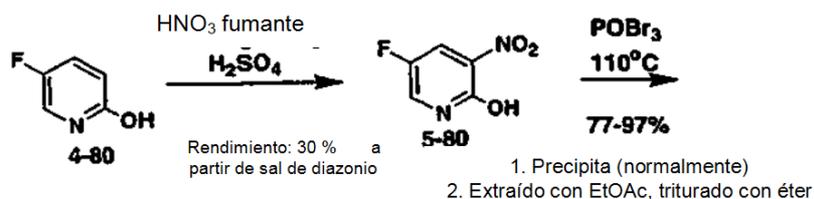
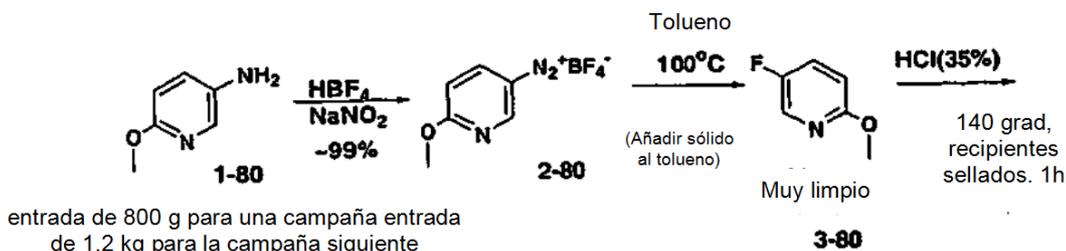
Los procedimientos generales para crear las diamidas de piperazina de azaindol sustituidas de la invención y los intermedios útiles para su síntesis se describen en el siguiente esquema 1.

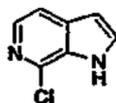
El Esquema 1 es un procedimiento preferido para la preparación del compuesto del Ejemplo 1. La síntesis de 2-hidroxi-3-nitro-5-fluoropiridina **5-80**, tal y como se muestra, se llevó a cabo en general por medio de procedimientos de A. Marfat y R.P. Robinson patente de EE.UU. 5.811.432 (columna 25, ejemplo 5) y Nesnow y Heidleberger (J. Heterocyclic Chem. 1973, 10, p. 779), exceptuando que se incorporó un número de mejoras procedimentales tal y como se afirma en la descripción de cada etapa. 2-Hidroxi-5-fluoropiridina **4-80** también se encuentra disponible comercialmente. La formación de la sal de tetrafluoroborato de diazonio **2-80** a partir de 5-amino-2-metoxi piridina **1-80** avanzó con un rendimiento esencialmente cuantitativo y se aisló por medio de filtración. La reacción de Shiemann proporcionó rendimientos pobres de la 2-metoxi-fluoropiridina deseada usando las condiciones de la bibliografía debido principalmente a la contaminación importante con 3-fluoro 1-(*N*)-metil piridona y otros sub-productos. No obstante, la adopción de un procedimiento similar al descrito en Sanchez, J.P.; Rogowski, J.W.; J. Heterocycl Chem 1987, 24, 215 para un compuesto relacionado proporcionó rendimientos muy elevados de 2-metoxi-5-fluoro-piridina **3-80** esencialmente limpia pero volátil en forma de solución en tolueno. En interés de la experiencia, se logró la desmetilación a gran escala usando HCl acuoso en botellas de presión a 140 °C durante 1 hora. Antes del calentamiento, se agitó la solución de tolueno con HCl ac y posteriormente se retiró el tolueno por medio de decantación. El procedimiento de la bibliografía para llevar a cabo la presente etapa que usa HBr a 100 °C también resultó satisfactorio a pequeña escala y presentó la ventaja de evitar el uso de botellas de presión. La nitración de **4-80** como se describe por parte de Marfat proporcionó rendimientos menores de lo esperado de manera que el procedimiento se modificó ligeramente, usando la recomendación de A. G. Burton, P. J. Hallis y A. R. Katritzky (Tetrahedron Letters 1971, 24, 2211-2212) sobre el control de la regio-química de nitración de piridonas por medio de la modulación de la acidez del medio. Los rendimientos químicos de 2-hidroxi-3-nitro-5-fluoro piridina **5-80** mejoraron de forma significativa usando el procedimiento descrito en la sección experimental. De manera ocasional, el producto falló para precipitar durante el procesado y posteriormente fueron necesarios esfuerzos considerables para aislar el presente compuesto altamente soluble en agua de la fase acuosa. Usando POBr₃ en exceso puro, el compuesto **5-80** fue convertido en 2-bromo-3-nitro-5-fluoro piridina **6** que se pudo usar sin purificación adicional en la posterior reacción de formación de azaindol. La adición de la piridina **6** al exceso de bromuro de vinil magnesio en THF a baja temperatura permitió el 4-fluoro-7-bromo-6-azaindol (**precursor 2i**) deseado con rendimientos de hasta 35 % seguido de procesado ácido y aislamiento por medio de cristalización. Una desventaja del presente procedimiento es que el procesado resulta difícil debido a la gran cantidad de sales formada como co-productos en la reacción y la baja conversión hasta el producto aún limpio. La reacción también es exotérmica y de este modo requiere precaución a gran escala. A pesar de los rendimientos moderados, como se ha mencionado anteriormente, la reacción avanza de manera limpia y proporciona el **precursor 2i** de producto puro sin cromatografía de manera que constituye una anterioridad el hecho de que estudios más detallados de la presente química podrían dar como resultado mejoras de rendimiento. El desplazamiento selectivo con mediación de carbonato de cobre/potasio del

5 grupo 7-bromo por medio de 1,2,3-triazol disponible comercialmente proporcionó una mezcla aproximadamente 1:1 de triazoles a partir de la cual se aisló el **7-80** deseado por medio de cromatografía con rendimientos de 25-35 %.

También se puede usar cobre-bronce en lugar de polvo de cobre para llevar a cabo transformaciones similares. No se debe permitir el sobre-calentamiento de la presente reacción ya que es posible que tenga lugar el desplazamiento concomitante de flúor, y de hecho se ha observado. La acilación tuvo lugar, de la manera más eficaz, bajo condiciones que utilizaron un exceso de líquido iónico de cloro aluminato de imidazolio ácido para proporcionar un reactivo glioxilante altamente activado (K.S. Yeung y col., Tetrahedron Lett. 2002, 43, 5793). Normalmente, la acilación de **7-80** no avanza hasta la finalización y normalmente da como resultado una conversión de aproximadamente 75 % medido por medio de LC/MS. Una ventaja de las presentes condiciones es que la siguiente etapa típica, hidrólisis de éster, avanzó *in situ* para proporcionar **8-80** ácido deseado que se aisló directamente por medio de precipitación durante el procesado. Se comprobó que el acoplamiento de la benzamida de piperazina era más limpio y produjo rendimientos más elevados del compuesto del **Ejemplo 1** usando el HATU mostrado, basado en el acoplamiento, que en el caso otros reactivos de acoplamiento estándar tales como EDC o DEPBT.

Esquema 1

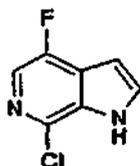


Precursor 2a

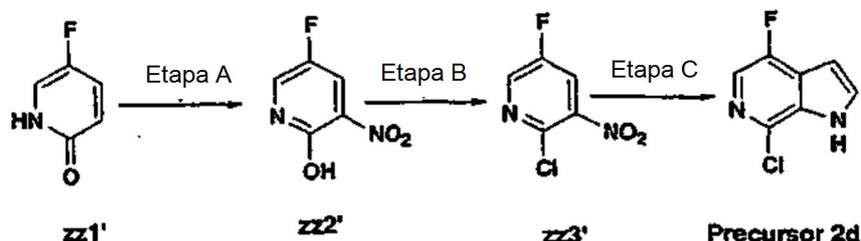
5 *Procedimiento típico para la preparación de indazol a partir de nitropiridina:* Preparación de 7-cloro-6-azaindazol, Precursor 2a, se disolvió 2-cloro-3-nitropiridina (5,0 g, 31,5 mmol) en THF seco (200 ml). Después de enfriarse la solución hasta -78 °C, se añadió gota a gota bromuro de vinil magnesio (1,0M en THF, 100 ml). Se mantuvo la temperatura de reacción a -78 °C durante 1 h, y posteriormente a -20 °C durante otras 12 h antes de la inactivación mediante la adición de solución acuosa de NH₄Cl de 20 % (150 ml). Se sometió a extracción la fase acuosa con EtOAc (3 x 150 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO₄, se filtró y se concentró el filtrado a vacío para dar un residuo que se purificó por medio de cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc/hexano 1/10) para permitir 1,5 g (31 %) de 7-cloro-6-azaindazol, Precursor 2a. ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 7,84 (d, 1H, J= 107 Hz), 7,55 (dd, 1H, J= 10,9, 5,45 Hz), 6,62 (d, 1H, J= 5,54 Hz), 4,89 (s, 1H). MS m/z: (M+H)⁺ calculado para C₇H₆ClN₂: 153,02; encontrado 152,93. Tiempo de retención de HPLC: 0,43 minutos (columna A).

Precursor 2d

15



Se preparó el precursor 2d, 4-fluoro-7-cloro-6-azaindazol (anterior) de acuerdo con el siguiente esquema:



20

- A) HNO₃ fumante, H₂SO₄;
 B) POCl₃/DMF, 110 °C;
 C) bromuro de vinilmagnesio, THF, -78° C ≈ -20 °C

25

Debería apreciarse que se pueden preparar 2-cloro-5-fluoro-3-nitro piridina, zz3', por medio del procedimiento del ejemplo 5B de la referencia Marfat, A.; y Robinson, R.P.; "Azaoxindole Derivatives" patente de EE.UU. 5.811.432, 1998. La preparación siguiente proporciona algunos detalles que mejoran los rendimientos de la presente ruta.

30 En la etapa A, se disolvió el compuesto zz1' (1,2 g, 0,01 mol) en ácido sulfúrico (2,7 ml) a temperatura ambiente. Se añadió gota a gota ácido nítrico fumante pre-mezclado (1 ml) y ácido sulfúrico a 5-10 °C a la solución del compuesto zz1'. Posteriormente se calentó la mezcla de reacción a 85 °C durante 1 hora, posteriormente se enfrió hasta temperatura ambiente y se vertió en hielo (20 g). Se recogió el precipitado sólido de color amarillo mediante filtración, se lavó con agua y se secó al aire para proporcionar 1,01 g del compuesto zz2'.

35

En la etapa B, se disolvió el compuesto zz2' (500 mg, 3,16 mmol) en oxiclورو de fósforo (1,7 ml, 18,9 mmol) y dimetoxietano a temperatura ambiente. Se calentó la reacción hasta 110 °C durante 5 horas. Posteriormente, se retiró el exceso de oxiclورو de fósforo por medio de concentración de la mezcla de reacción a vacío. Se sometió el residuo a cromatografía sobre gel de sílice, se sometió a elución con cloroformo (100 %) para obtener 176 mg de producto zz3'.

40

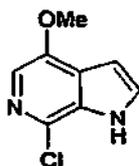
En la etapa C, se disolvió el compuesto zz3' (140 mg, 0,79 mmol) en THF (5 ml) y se enfrió hasta -78 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió a esta solución, gota a gota, una solución de bromuro de vinil magnesio (1,2 mmol, 1,0 M en éter dietílico, 1,2 ml). Posteriormente, se mantuvo la mezcla de reacción a -20 °C durante 15 horas. A continuación se interrumpió la mezcla de reacción con cloruro de amonio saturado y se sometió a extracción con acetato de etilo. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio,

45

se filtraron y se concentró el filtrado a vacío. Se sometió a cromatografía el residuo sobre sílice para proporcionar 130 mg de precursor 2d ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7,78 (s, 1H), 7,60 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,71 (d, 1H, $J = 3,05$ Hz); MS m/z: $(\text{M}+\text{H})^+$ calculado para $\text{C}_7\text{H}_6\text{ClFN}_2$: 171,10; encontrado 171,00. Tiempo de retención de HPLC: 1,22 minutos (columna A).

5 Se preparó el Precursor 2d, 4-fluoro-7-cloro-6-azaindazol, por medio del mismo procedimiento que el Precursor 2a, comenzando a partir de 2-cloro-3-nitro-5-fluoro-piridina que se preparó de acuerdo con el procedimiento anterior. Los detalles experimentales de la presente preparación están contenidos en Wang et al. PCT WO 01/6225. ^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ 7,78 (s, 1H), 7,60 (d, 1H, $J = 3,0$ Hz), 6,71 (d, 1H, $J = 3,05$ Hz); MS m/z: $(\text{M}+\text{H})^+$ calculado para $\text{C}_7\text{H}_6\text{ClFN}_2$: 171,10; encontrado 171,00. Tiempo de retención de HPLC: 1,22 minutos (columna A).

Precursor 2e

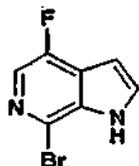


15 Se preparó el precursor 2e por cualquiera de los Procedimientos A o B siguientes:

20 Procedimiento A: se calentó una mezcla de 4-bromo-7-cloro-6-azaindol (1 g), CuI (0,65 g) y NaOMe (4 ml, 25 % en metanol) en MeOH (16 ml) a 110-120 °C durante 16 horas en un tubo sellado. Tras enfriar a temperatura ambiente, se neutralizó la mezcla de reacción con HCl 1 N hasta pH 7. Se sometió a extracción la solución acuosa con EtOAc (3 x 30 ml). Posteriormente se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró el filtrado a vacío para permitir la obtención de un residuo, que se purificó por medio del uso de cromatografía de gel para dar 0,3 g de 4-metoxi-7-cloro-6-azaindol, Precursor 2e. MS m/z: $(\text{M}+\text{H})^+$ calculado para $\text{C}_8\text{H}_8\text{ClN}_2\text{O}$: 183,0; encontrado 183,09. Tiempo de retención de HPLC: 1,02 minutos (columna B).

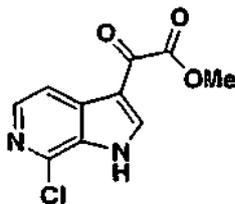
25 Procedimiento B: se calentó una mezcla de 4-bromo-7-cloro-6-azaindol (6 g), CuBr (3,7 g) y NaOMe (30 ml, 5 % en metanol) a 110 °C durante 24 horas en un tubo sellado. Tras enfriar a temperatura ambiente, se añadió la mezcla sobre NH_4Cl acuoso saturado. Se sometió a extracción la solución acuosa con EtOAc (3 x 30 ml). Posteriormente se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO_4 , se filtró y se concentró el filtrado a vacío para permitir la obtención de un residuo, que se purificó por medio del uso de cromatografía de gel para dar 1,8 g de 4-metoxi-7-cloro-6-azaindol, Precursor 2e.

Precursor 2i



35 Se preparó el Precursor 2i, 4-fluoro-7-bromo-6-azaindol, por medio del mismo procedimiento que el Precursor 2e, usando POBr_3 en la etapa B en lugar de POCl_3 . MS m/z: $(\text{M}+\text{H})^+$ calculado para $\text{C}_7\text{H}_5\text{BrFN}_2$: 214,96; encontrado 214,97. Tiempo de retención de HPLC: 1,28 minutos (columna G).

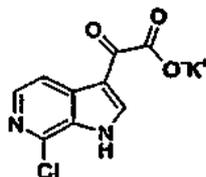
Precursor 3a



45 *Procedimiento típico para acilación de azaindol:* Preparación de (7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de metilo. Se añadió 7-cloro-6-azaindol, Precursor 2a (0,5 g, 3,3 mmol) a una suspensión de AlCl_3 (2,2 g, 16,3 mmol) en CH_2Cl_2 (100 ml). Se continuó la agitación a T_a durante 10 minutos antes de añadir cloroacetato de metilo (2,0 g, 16,3 mmol) gota a gota. Se agitó la reacción durante 8 h. Se inactivó la reacción con una solución acuosa de NH_4OAc enfriada en hielo (10 %, 200 ml). Se sometió a extracción la fase acuosa con CH_2Cl_2 (3 x 100 ml). Se secó la fase

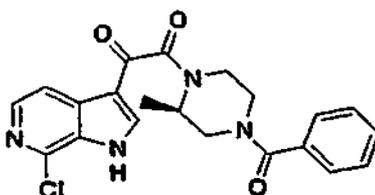
orgánica combinada sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró el filtrado a vacío para dar lugar a un residuo que se llevó hasta la siguiente etapa sin purificación adicional. Precursor 3a, (7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de metilo. MS m/z: $(M+H)^+$ calculado para $C_{10}H_8ClFN_2O_3$: 239,02; encontrado 238,97. Tiempo de retención de HPLC: 1,07 minutos (columna A).

5

Precursor 4a

10 *Procedimiento típico de hidrólisis de éster:* Preparación de (7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de potasio, Precursor 4a. Se disolvieron (7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de metilo puro, Precursor 3a y un exceso de K_2CO_3 (2 g) en MeOH (20 ml) y H_2O (20 ml). Trascurridas 8 h, se concentró la solución y se purificó el residuo por medio de cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar 200 mg de (7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de potasio. Se observó MS m/z: $(M+H)^+$ del ácido correspondiente; calculado para $C_9H_6ClN_2O_3$: 225,01; encontrado 225,05. Tiempo de retención de HPLC: 0,83 minutos (columna A).

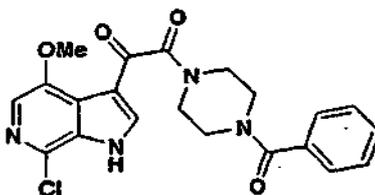
15

Precursor 5a

20

25 *Procedimiento típico para acoplamiento de derivado de piperazina y ácido de azaindol:* Preparación de 1-benzoyl-3-(R)-metil-4-[(7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetil]piperazina. Precursor 5. Se combinaron 7-cloro-6-azaindol-3-glioxilato de potasio, Precursor 4a, (100 mg, 0,44 mmol), 3-(R)-metil-1-benzoilpiperazina (107 mg, 0,44 mol), 3-(dietoxifosforiloxi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona (DEPBT) (101 mg, 0,44 mol) y Base de Hunig (diisopropiletilamina, 0,5 ml) en 5 ml de DMF. Se agitó la mezcla a Ta durante 8 h. Se retiró DMF por medio de evaporación a presión reducida y se purificó el residuo usando un Sistema de HPLC preparativo automatizado Shimadzu para dar 1-(benzoil)-3-(R)-metil-4-[(7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetil]-piperazina (70 mg, 39 %). MS m/z: $(M+H)^+$ calculado para $C_{21}H_{20}ClN_4O_3$: 411,12; encontrado 411,06. Tiempo de retención de HPLC: 1,32 minutos (columna A).

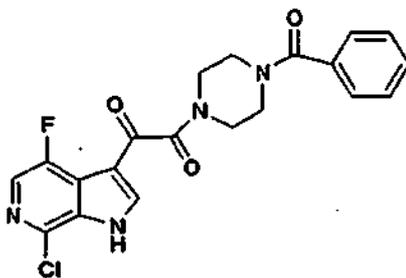
25

Precursor 5b

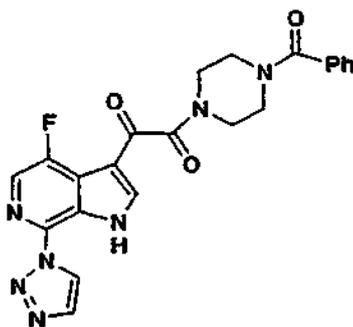
30

35 Se preparó el precursor 5b, 1-benzoil-4-[(7-cloro-4-metoxi-6-azaindol-3-il)-oxoacetil]piperazina por medio del mismo procedimiento que el Precursor 5a comenzando a partir de (7-cloro-4-metoxi-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de potasio, Precursor 4d, y 1-benzoilpiperazina. MS m/z: $(M+H)^+$ calculado para $C_{21}H_{20}ClN_4O_4$: 427,12; encontrado 427,12. Tiempo de retención de HPLC: 1,28 minutos (columna A).

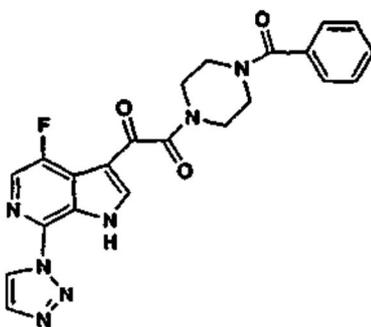
40

Precursor 5i

- 5 La adición del precursor 2d a una solución de tricloruro de aluminio en diclorometano en agitación a temperatura ambiente seguido 30 minutos después de oxalato de clorometilo y cloroetilo (de acuerdo con el procedimiento descrito para el precursor 3a) proporciona el éster bien de metilo o de etilo, respectivamente. La hidrólisis con KOH (como en el procedimiento estándar de hidrólisis descrito para el precursor 4a) proporcionó (7-cloro-4-fluoro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de potasio. Posteriormente se hizo reaccionar (7-cloro-4-fluoro-6-azaindol-3-il)-oxoacetato de potasio con 1-benzoyl piperazina en presencia de DEPBT en condiciones estándar (como se ha descrito para el precursor 5a) para proporcionar 1-benzoyl-4-[(4-fluoro-7-cloro-6-azaindol-3-il)-oxoacetyl]piperazina, precursor 5i. ¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ 8,40 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,46 (bs, 5H), 3,80-3,50 (m, 8H); LC/MS (ES⁺) m/z: (M+H)⁺ 415 observado; tiempo de retención 1,247 minutos; procedimiento LC/MS: YMC ODS-A C18 S7 3,0 x 50 mm columna; Comienzo % de B= 0; Final % de B = 100, Tiempo de gradiente = 2 minutos; Caudal = 5 ml/min; Longitud de onda del detector = 220 nm.

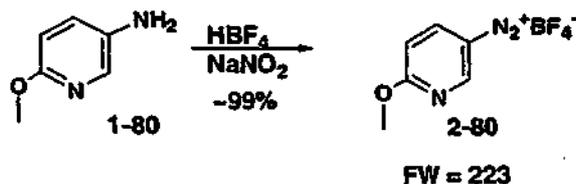
Ejemplo 1

- 20 Se preparó el Ejemplo 1 a partir del precursor 5i y 1,2,3-triazol siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. ¹H NMR (500MHz, CDCl₃): 11,16 (bs, 1H); 8,75 (s, 1H); 8,37-8,37 (s, 1H); 8,15 (s, 1H); 7,92 (s, 1H); 7,43 (bs, 5H); 3,99-3,48 (m, 8H). LC/MS: (ES⁺) m/z (M+H)⁺ = 448. Ta = 1,28 min



Ejemplo 1

25

Procedimientos experimentales sintéticos para la mejor preparación del Ejemplo 1 (Esquema 80)

5 Se añadió 5-amino 2-metoxipiridina (50 g, 0,4 mol) a una mezcla en agitación de etanol absoluto (280 ml) y HBF₄ (48 % en agua, 172 ml) y se enfrió hasta 0 °C. Se disolvió nitrito de sodio (129 g) en agua (52 ml) y se añadió por partes durante 1h. Se continuó la agitación a 0 °C durante 2 h. Se diluyó la mezcla de reacción con éter (1 l). Se recogió el producto sólido por medio de filtración y se lavó con 500 ml de EtOH/éter 50:50 y posteriormente varias veces con éter hasta que el producto adquirió un color ligeramente rosado. Se mantuvo el sólido de color rosa palo 90 g (≈ 100 % de rendimiento) en un desecados sobre P₂O₅.

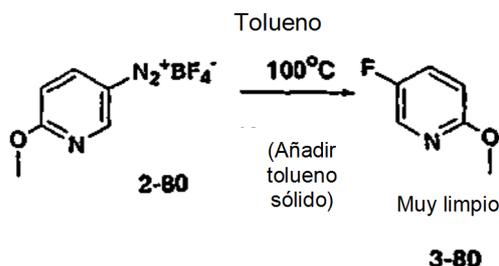
Se siguió el mismo procedimiento para llevar a cabo la reacción a mayor escala:

(1) (200 g, 1,6 mol); HBF₄ (688 ml); NaNO₂ (116 g); EtOH (1,12 l); H₂O (208 ml)

15 La reacción se ejecutó 4 veces (total de 800 gramos (1-80)). Se secó el producto sobre P₂O₅ durante 48 h (únicamente 24 h para el primer lote).

Se obtuvo un total de 1,293 g (2-80) (91% de rendimiento).

20 **Ref: J. Heterocyclic Chem., 10, 779, 1973 (para las reacciones anteriores, incluyendo los datos analíticos)**



25 Se llevó a cabo la descomposición de la sal de diazonio en 3 lotes de:

206 g, 219 g y 231 g usando 1,3 l, 1,4 l y 1,6 l de tolueno anhidro, respectivamente.

30 Se precalentó el tolueno bajo nitrógeno hasta 100 °C (temperatura interna) en un matraz de fondo de redondo de 2l de 3 bocas provisto de un agitador mecánico. Se añadió el sólido por partes por medio de una toma a través de un embudo para polvo que se encontraba unido a un adaptador con un ligero flujo de nitrógeno positivo hacia afuera. Durante la adición, se mantuvo la temperatura entre 99-102 °C (fijada en 100 °C) y se agitó de forma vigorosa. El tiempo total de adición fue de 60 min. para los dos lotes pequeños y de 70 min. para el último. Una vez concluida la adición, se calentó cada reacción en agitación a 110 °C durante 1h. Se retiró la manta de calentamiento y se detuvo la agitación. Se dejaron las reacciones en reposo durante 2 h (hasta que se alcanzó la temperatura ambiente). **Nota de seguridad: La reacción contiene BF₃ de manera que trabajar con la reacción en caliente supone la exposición a vapores que provocan irritación cutánea en determinadas personas. No se apreciaron incidentes a temperatura ambiente (6 personas diferentes).** Se vertió el tolueno caliente procedente de la reacción en un erlenmeyer de 4 l (un aceite de color marrón oscuro y un residuo permanecieron en el matraz). Se lavó el residuo con 50 ml de tolueno y se vertió en los extractos de tolueno originales.

Se añade 1,5 l de NaOH 1 N a la fase de tolueno, se extrae y se lava con 100 ml de NaCl ac.

45 Se combina el NaCl con la fase de NaOH, se somete a re-extracción con 150 ml de tolueno, se lava con 50 ml de de NaCl sat.

Se combinan las fases de tolueno.

50 Se añade 1 l de NaOH 1N a residuo en el matraz de reacción y se crea un vórtice para disolver tanto residuo como resulte posible, posteriormente se añaden 500 ml de Et₂O y se vierte en el erlenmeyer.

Se añaden ≈ 500 ml más de NaOH 1N al matraz de reacción y se crea un vórtice de ≈ 500 ml de Et2O.

Se combina Et2O de color oscuro y los lavados de NaOH en el matraz erlenmeyer.

5 Se vierte la mezcla de Et2O/NaOH a través del embudo para polvo que contenía un tapón de lana de vidrio para recoger el sólido viscoso de color oscuro (Añadir ≈ 500 ml más de éter para lavar) a un embudo de separación de 6 l.

Extraer. Lavar la fase de éter con ≈ 200 ml de H2O y posteriormente 100 ml de NaCl sat.

10 Combinar todos los lavados con la fase de NaOH ac. original y re-extraer con 500 ml de éter. Lavar con 100 ml de H2O y 100 ml de NaCl.

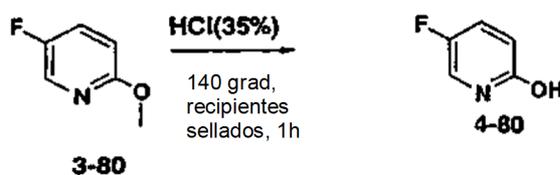
Combinar los extractos de éter. Se evaluaron el tolueno y los extractos de éter por medio de LC/MS del producto limpio.

15 Se concentró el éter en un evaporador rotatorio y se combinó el residuo con los extractos de tolueno para preparar una solución homogénea que se llevó hasta la siguiente etapa como tal.

Se combinaron los otros dos rxns y se procesó de la misma forma.

20 Se evaluaron todas las fases acuosas por medio de LC/MS = sin producto.

Ref: J. Heterocyclic Chem., 10, 779, 1973 (para las reacciones anteriores, incluyendo los datos analíticos).

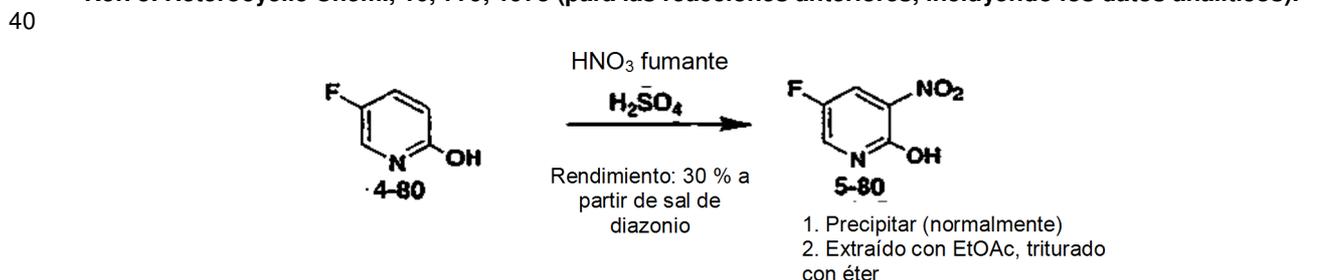


25 Se colocó un total de 4,6 l de solución de tolueno que contenía **3-80** en varios tubos sellados y se trató con 900 ml de HCl de 35 % a 145 °C durante 2 h. LC/MS no mostró material original, únicamente 4. Se decantó la solución de tolueno y se desechó. Se lavó la fase acuosa con EtOAc y se concentró para retirar los volátiles con el fin de permitir la obtención de un sólido de color marrón que contenía fluoro-hidroxipiridina **4-80** deseada.

Se recogió un total de 244 g del presente sólido y se llevo hasta la siguiente etapa como tal (no estaba completamente seco).

35 Nota: posteriormente los inventores han llevado la presente operación decantando la fase de tolueno en primer lugar antes del calentamiento para reducir los volúmenes. Se llevó a cabo la misma reacción usando HBr (48 % en H2O) a 100 °C durante 6 h con un resultado similar al rendimiento de 49 % del procedimiento de la bibliografía.

Ref: J. Heterocyclic Chem., 10, 779, 1973 (para las reacciones anteriores, incluyendo los datos analíticos).



Se dividió el sólido a partir de lo anterior que contenía (**4-80**) en 4 lotes y se trató con H2SO4 y HNO3 fumante como se muestra a continuación. Las cantidades usadas fueron:

45

	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
(1)	25g	54g	75g	90g
HNO ₃ fumante	20,8 ml	45 ml	62,4 ml)	75,ml
H ₂ SO ₄ (para adición)	5,6 ml+	12 ml+	16,8 ml+	20 ml+
(para solución)	56 ml	120 ml	168 ml	200 ml

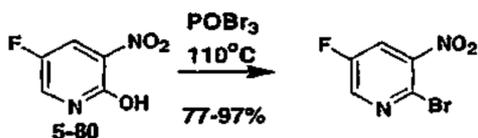
Se disolvió el compuesto **4-80** en ácido sulfúrico (las cantidades grandes indicadas anteriormente) a Ta y posteriormente se calentó hasta 65 °C. Se añadió, gota a gota, una solución preformada de ácido nítrico fumante y ácido sulfúrico (las cantidades pequeñas indicadas anteriormente). Se mantuvo la temperatura entre 65 °C y 80 °C (rxn es exotérmica y aunque el baño se encuentra a 65 °C, la temperatura aumenta, normalmente 75, con frecuencia 80 °C). Una vez que la adición fue completa, se calentó la mezcla de reacción a 65 °C durante 1h adicional. A continuación, se enfrió la mezcla de reacción hasta Ta y se vertió en un matraz que contenía hielo) (20 g de hielo/gr de compuesto, tuvo lugar el desprendimiento del gas). Se recogió un precipitado sólido mediante filtración (1HNM mostró **4-80** y algo más (desechado)).

Se sometió a extracción la fase acuosa con AcOEt varias veces (3-5) y se concentró en un evaporador rotatorio a vacío para permitir la obtención de un sólido que se trituroó con éter para permitir la obtención de **5-80** en forma de sólido de color amarillo claro. Se recogieron un total de 117 g de producto deseado en el primer cultivo (27 % de rendimiento a partir de sal de diazonio). Una parte no cristalizó: se trituroó el presente aceite con MeOH y Et₂O para permitir la obtención de 3,6 g de **5-80**; otra precipitación a partir del líquido madre permitió la obtención de 6,23 g adicionales del producto deseado **5-80**.

Total: 117,0 + 3,6 + 6,23 = 126,83. 30,4 %. Rendimiento para 3 etapas (descomposición de la sal de diazonio; desprotección y nitración).

Datos analíticos procedentes de anotaciones: 53877-115: ¹HRMN (δ, MeOD): 8,56-8,27 (dd, J = 7,5, 3,3 Hz, 1H), 8,01 (d, J= 3,3 Hz, 1H); LC/MS(M+1)⁺ = 158,9; Ta= 0,15 min.

Nota: Se tomó una parte de la solución ácida acuosa y se neutralizó con Na₂CO₃ hasta que al efervescencia se detuvo y posteriormente se sometió a extracción con AcOEt ⇒ Se obtuvo un producto diferente. No se encontró producto deseado en los presentes extractos.

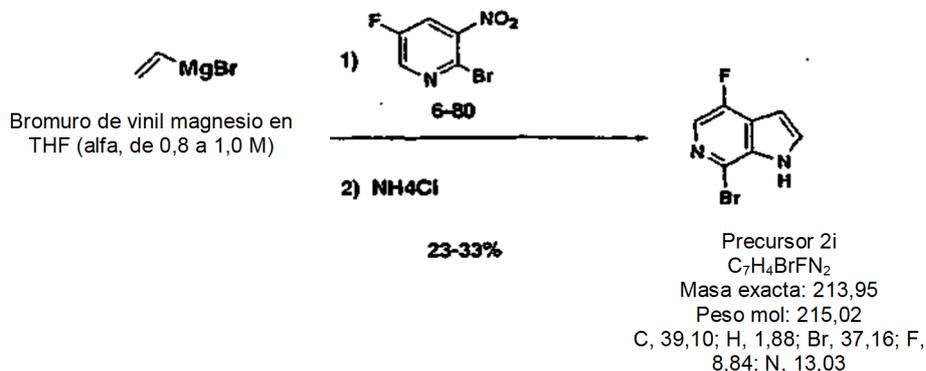


Usado sin purificación

6-80

Se dividió un total de 117 g de **5-80** en 4 lotes de 30 x 3 y 27 g x 1 y se trataron con POBr₃ (3 equivalentes; 163 g x3 y 155 x 1) y una cantidad catalítica de DMF (15 ml) a Ta (DMF se añadió con precaución ⇒ desprendimiento de gas). Transcurridos 5 min., a temperatura ambiente, se calentaron las soluciones a 110 °C durante 3 h. LC/MS mostró que se había consumido el material de partida. Se dejaron enfriar las mezclas de reacción hasta Ta. Se colocaron los matraces de reacción en un baño de hielo; y posteriormente se añadió hielo muy lentamente y con precaución por partes al interior del matraz, el desprendimiento de gas se debió a la formación de HBr; se vertieron el líquido y el sólido negro formado en el interior de un vaso de precipitados con hielo. Se añadió EtOAc y posteriormente se sometió a extracción la mezcla varias veces con EtOAc. Se lavó la fase orgánica con NaHCO₃ ac. saturado; H₂O y salmuera; se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. Se secó el producto en la bomba durante la noche para proporcionar 123 g de **6-80** en forma de sólido de color marrón (77 % de rendimiento).

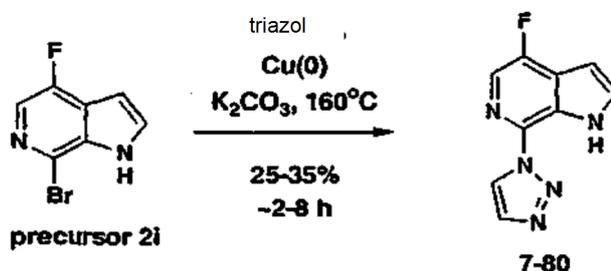
Nota: La reacción se completó en 1 h.
¹HRMN (δ, MeOD): 8,56-8,27 (dd, J = 7,5, 3,3 Hz, 1H)



Se enfriaron 800 ml de bromuro de vinil magnesio (1M en THF, Aldrich) por debajo de -60 °C con agitación vigorosa bajo N₂. Se añadió, gota a gota, 2-bromo-5-fluoro-3-nitro-piridina (43,3 g, 0,196 mol) en 200 ml de THF por medio de un embudo de adición a una velocidad tal que se mantuvo la temperatura por debajo de -60 °C. Esto tardó ≈ 1,25 h. Se calentó la mezcla de reacción hasta -40 °C a -50 °C y se agitó durante 1 h más. Posteriormente, se añadió lentamente 1 l de NH₄Cl acuoso saturado y con precaución. En primer lugar, tuvo lugar la formación de espuma y de un sólido considerable, peor esencialmente se disolvió a medida que se completó la adición y se calentó el material hasta Ta. Se separaron las fases y se sometió a extracción la fase acuosa 3 veces con acetato de etilo. Se lavaron los extractos orgánicos con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para permitir la obtención de -50 g de un sólido negro con aspecto gomoso. HPLC indicó 57-58 % de producto. Sobre ello, se añadió CH₂Cl₂ y se recogió el sólido mediante filtración y se lavó con CH₂Cl₂ para permitir la obtención de 12,5 g de producto en forma de sólido de color marrón. Se repitió la reacción a exactamente la misma escala y se procesó de la misma manera. A partir de la trituración de CH₂Cl₂ se obtuvieron 12,4 g de **Precursor 2i** (HPLC ≈ 97 % puro). Se recuperó la sustancia bruta y se dejó reposar en diclorometano. Tras reposo, se separaron y se recuperaron 3,6 g de producto adicional mediante filtración.

Rendimiento total = 29,5 g (35 %)

¹HRMN (δ, CDCl₃): 8,69 (bs, 1H), 7,92 (d, J= 1,8 Hz, 1H), 7,41 (m, 1H), 6,77 (m, 1H); LC/MS(M+1)⁺ = 216-217,9; Ta= 1,43 min.

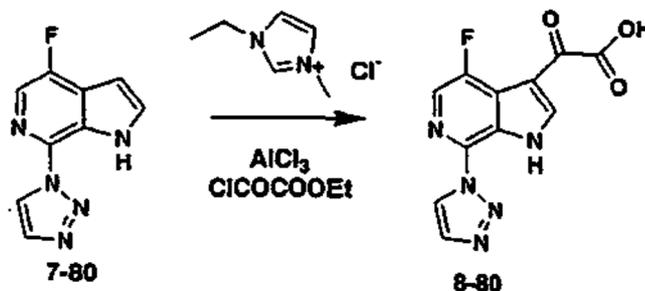


Cromatografiado, proporción
de isómero ≈ 1:1

Se llevó a cabo la reacción en un matraz de 250 ml (tuvo lugar la formación espuma tras calentar y el matraz de gran tamaño resulta más conveniente). Se calentó una mezcla de **precursor 2i** (3g, 13,95 mmol), 1,2,3-triazol (15, 217,6 mmol, 15 eq), K₂CO₃ (1,9 g, 13,95 mmol, 1eq) y Cu(0) (0,9 g, 13,9 mmol, 1 eq) a 160 °C durante 7 h (desde Ta hasta 160 °C total de 7 h) bajo N₂ (dependiendo del lote de Cu(0), el tiempo de reacción puede variar desde 2 h a 7 h). Se diluyó la mezcla resultante con MeOH, se filtró a través de papel de filtro (para retirar el cobre). Se lavó con MeOH (20 ml) y agua (30 ml).

Se concentró el filtrado (para retirar el disolvente en un evaporador rotatorio) y se diluyó con acetato de etilo. Se sometió a extracción la fase acuosa con acetato de etilo. Se secó la fase orgánica combinada sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró. Se disolvió el residuo en MeOH (20 ml), **7-80** (750 mg) cristalizó a partir de metanol en forma de sólido de color blanco y se recogió por medio de filtración. (Gradiente de volumen lento, gel de sílice hex/AcOEt (0→ 18 %) de los líquidos madre normalmente permiten 5-10 % más de **7-80**).

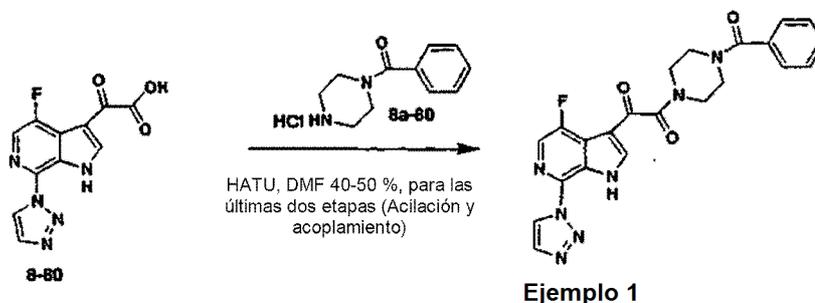
¹HRMN (δ, CDCl₃): 10,47 (bs, 1H), 8,76 (s, 1H), 7,94 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,78 (s, 1H); LCMS(M+1)⁺ = 204; Ta= 1,29 min.



Cromatografiado, proporción
de isómero ≈ 1:1

Se colocó cloruro de etil metilimidazolio (4,3 g, 29,6 mmol, 3 eq) en un matraz de 250 ml. Se añadió AlCl₃ (11,8 g, 88,6 mmol, 9 eq). Se formó una suspensión líquida (parte de AlCl₃ permaneció en forma de sólido). Tras agitar durante 5-10 min, se añadió el compuesto (1) (2,0 g, 9,85 mmol) en una parte seguida de adición lenta (por medio de una jeringa) de cloroacetato de etilo (3,3 ml, 29,6 mmol, 3 eq). Se agitó la reacción a temperatura ambiente

- 5 durante 20 h. LCMS indicó el compuesto **8-80**:compuesto **7-80** = 6,2. (El compuesto **1** tiene una absorción UV intensa). Se inactivó la reacción mediante la adición con precaución de agua en forma de hielo (≈ 75 ml) a 0°C . En este momento precipitó un sólido color amarillo. Se filtró la suspensión resultante y se lavó el sólido con agua. MeOH y acetato de etilo (para retirar SM que no había reaccionado) y se secó el sólido al aire. (pureza LCMS ≈ 70 -80 %). Se obtuvieron 2 g de sólido que contenía **8-80** y se llevaron hasta la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS $(M+1)^+ = 276$; $T_a = 0,97$ min.



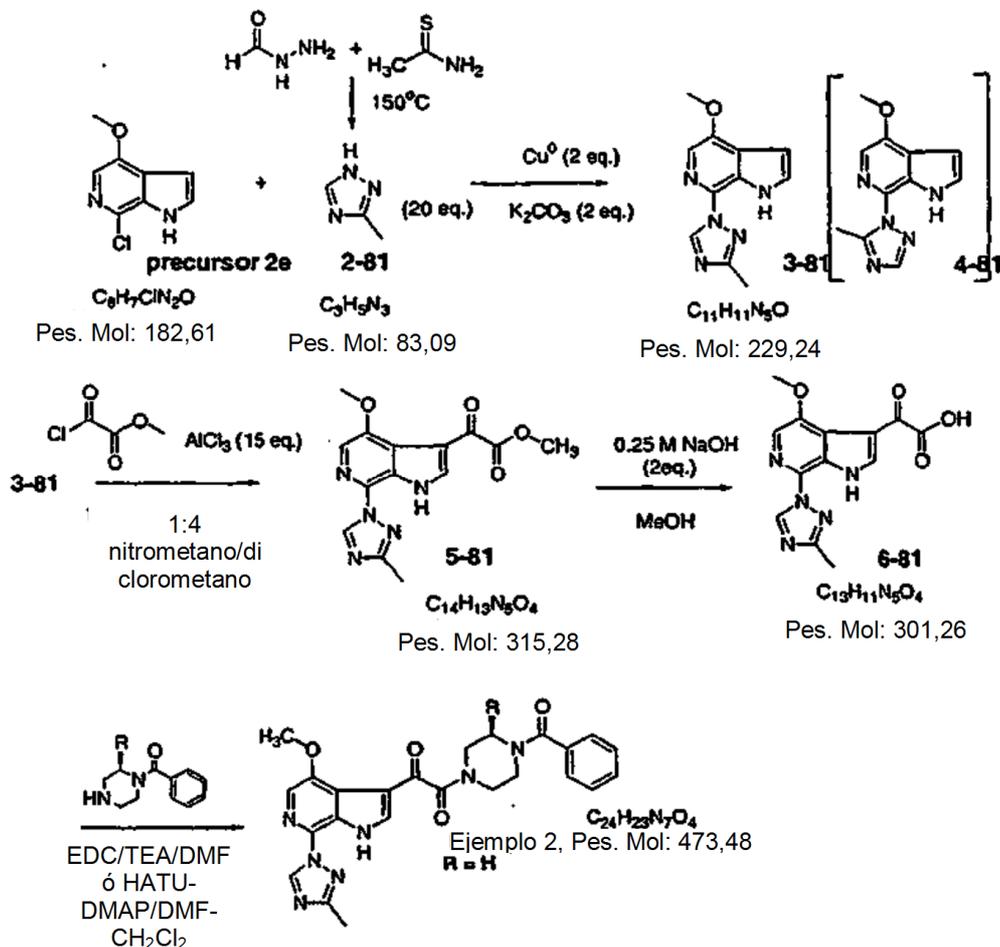
- 10 Se agitó una mezcla de compuesto **8-80** (4,9 g, 17,8 mmol) e hidrocloreuro de N-benzoylpiperazina **8a-80** (sal de HCl; 6,0 g, 26,7 mmol, 1,5 eq) en DMF (30 ml) a T_a durante la noche (16 h). Se formó una suspensión. Se añadieron 20 ml adicionales de DMF a la suspensión. Se añadió posteriormente HATU (12,2 g, 26,7 mmol, 1,5 eq) seguido de DMAP (4,3 g, 35,6 mmol, 2 eq). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min. LCMS indicó que el material de partida **8-80** se había convertido por completo en el producto de ejemplo 1. Se filtró la mezcla resultante y se lavó el sólido con agua. Se concentró el filtrado a vacío. Se añadió agua al residuo y se recogió el sólido por medio de filtración. Se combinaron los sólidos y se lavaron con agua, MeOH y EtOAc. Posteriormente, el sólido se secó al aire. LCMS y HPLC mostraron BMS-585248 $> 99\%$ de pureza. Se purificó de forma adicional el producto sólido por medio de precipitación y cristalización en $5 \approx 10\%$ $\text{CH}_3\text{OH}/\text{CHCl}_3$.

20 **Ejemplo de Purificación 1**

- Se disolvió el compuesto bruto del Ejemplo 1 como anteriormente (15,3 g) en $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3$ 10 % (600 ml). Se formó una suspensión de color marrón claro, se filtró a través de papel de filtro y se lavó con MeOH dos veces. Se desechó el sólido de color marrón (1,2 g). Se cristalizó el ejemplo 216 en el filtrado, se recogió el sólido por medio de filtración y el sólido de color blanco se secó al aire. Se usó el filtrado para repetir la cristalización varias veces. Se analizó el sólido obtenido a partir de la filtración por medio de HPLC. Se combinaron todas las fracciones puras. Se sometieron las fracciones no tan puras a cristalización con MeOH y CHCl_3 . Se obtuvo un total de 12,7 g del Ejemplo 1 a partir de re-cristalización y precipitación. Se concentró el líquido madre y se purificó sobre una columna de gel de sílice (EtOAc, posteriormente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (0-2 %)) para proporcionar 506 mg de producto) en forma de sólido de color blanco.
- 30 $^1\text{HRMN}$ (d, DMSO) 13,1 (bs, 1H), 9,0 (s, 1H), 8,4 (s, 1H), 8,3 (s, 1H), 8,2 (s, 1H), 7,4 (bs, 5H), 3,7 (bs, 4H), 3,5 (bs, 4H); MS m/z 448 (MH). Anal: calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{FN}_7\text{O}_3$; C 59,05, H 4,05, N 21,91, F 4,24. Encontrado, C 57,28, H, 4,14, N, 21,22; F, 4,07 %.

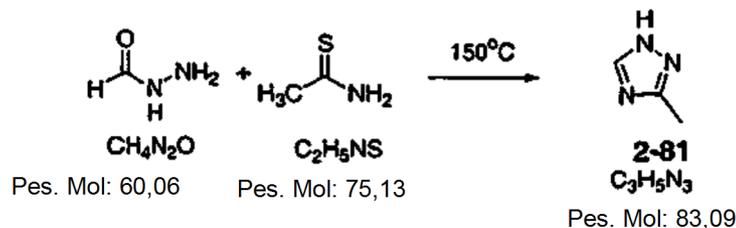
- 35 El Esquema 2 es un procedimiento preferido para la preparación del compuesto del Ejemplo 2.

Esquema 2



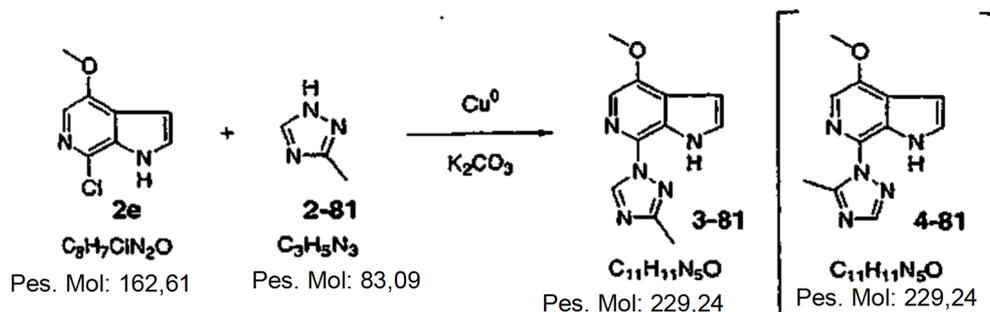
Preparación de 3-metil-1,2,4-triazol (2-81)

5



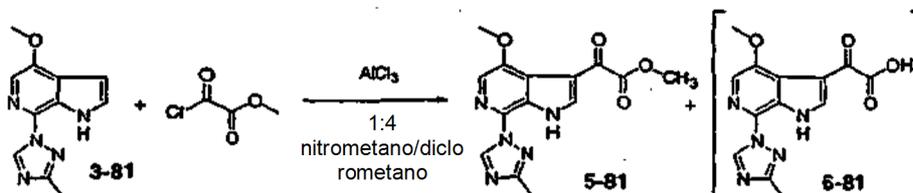
Procedimiento: Se calentó una mezcla sólida de hidrazida fórmica (68 g, 1,13 mol) y tioacetamida (85 g, 1,13 mol) en un RBF de 500 ml con agitación a 150 °C (temperatura de baño de aceite) durante 1,5 horas con una corriente suave de nitrógeno, retirando H₂S y agua (aproximadamente 18 ml de líquido recogido) formado durante la reacción. Se destiló la mezcla de reacción a presión reducida, recogiendo 60,3 g (0,726 mol, Y. 63,3 %) del compuesto del título a 102 °C / 0,35-1 mm de Hg en forma de sólido de color blanco tras retirar un líquido en el procedimiento siguiente. : ¹H RMN (CDCl₃) δ ppm 2,51 (3H, s, 3-Me), 8,03 (1H, s, 5-H), 9,5 (1H, br, NH); TLC R_f (10 % MeOH/CH₂Cl₂) = 0,3 (fosfomolibdato-carbonización, punto de color blanco).

15 Referencia: Vanek, T.; Velkova, V.; Gut, *Jiri Coll. Czech. Chem. Comm.* 1985, 49, 2492.

Preparación de 3-81

Procedimiento: Se introdujo en un matraz de fondo redondo de 500 ml precursor 2e de 4-metoxi-7-cloro-6-azaindazol (9,1 g, 50 mmol; secó a vacío), carbonato de potasio (13,8 g, 100 mmol, 2 eq.), polvo de cobre (6,35 gm, 100 mmol, 2 eq.) y 3-metil-1,2,4-triazol (83 g, 1,0 mol, 20 eq.). Se calentó la mezcla sólida hasta fusión a 170-175 °C (temperatura del baño de aceite externo) bajo corriente suave de nitrógeno anhidro durante 12 horas, tiempo durante el cual el análisis de HPLC indica la cantidad de pico para que el material de partida sea de 5-30 % y el pico del producto deseado sea de 45 %, siendo el pico de subproducto isomérico de 15 %. A medida que la mezcla de reacción se enfría, se añade lentamente MeOH (150 ml) a la mezcla caliente agitada. Tras el enfriamiento, se filtró el material insoluble (polvo de cobre) a través de una capa de Celite, y se enjuagó con metanol. Se concentró el filtrado a vacío hasta obtener una pasta gruesa que se diluyó con agua (1 l) y se sometió a extracción con EtOAc (3 x 150 ml). Se secaron los extractos de EtOAc (MgSO₄), se filtraron y se concentraron para obtener aproximadamente 8 g de residuo bruto que se cristalizó por medio de solución en CH₃CN caliente (50 ml), seguido de dilución con agua (100 ml) y enfriamiento a 0 °C para recoger 1,45 g (12,7 %) del compuesto del título en forma de sólido de color blanco. Se purificó el filtrado por medio de gel de sílice de fase inversa C-18 (YMC ODS-A 75 μm) se eluyó con 15-30 % de CH₃CN/H₂O. Se combinaron las fracciones apropiadas y se liofilizó la solución acuosa tras retirar CH₃CN por medio de evaporador rotatorio para dar 1,15 g adicionales del compuesto del título 3-81. Posteriormente se sometió a extracción la fase acuosa bruta con EtOAc varias veces. Se secaron los extractos de acetato de etilo (MgSO₄), se filtraron, se concentraron y se cristalizaron a partir de MeOH para dar 200 mg adicionales del compuesto del título 3-81. El rendimiento total: 2,8 g (12,2 mmol, Y, 24,5 %); MS m/z 230 (MH), HRMS (ESI) m/z calculado para C₁₁H₁₂N₅O (M+H), 230,1042, encontrado 230,1038 (Δ - 1,7 ppm); ¹H RMN (CDCl₃) δ ppm 2,54 (3H, s, CH₃), 4,05 (3H, s, OCH₃), 6,73 (1H, s, H-3), 7,40 (1H, s, H-2), 7,56 (1H, s, H-5), 9,15 (1H, s, triazol-H-5); ¹³C RMN (CDCl₃, 125,7 MHz) δ ppm 14,2 (triazol-Me), 56,3 (OMe), 100,5 (C-3), 116,9 (C-5), 123,5 127,2, 127,5 (C-2), 129,5 (C-7), 141,2 (C-5'), 149,5 (C-4), 161,8 (C-3'); Anal. Calculado para C₁₁H₁₁N₅O: C 57,63, H 4,83, N 30,55, encontrado C 57,37, H 4,64, N 30,68.

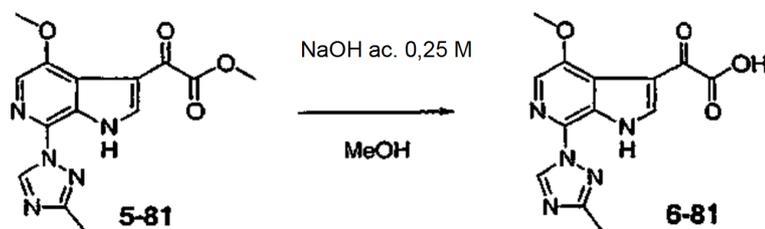
Se confirmó la estructura por medio de análisis sencillo cristalográfico de rayos-X usando cristales obtenidos a partir de fracciones de columna C-18. Se purificó una parte de las fracciones de columna C-18 que contenían una mezcla del análogo 3-81 3-metil-1,2,4-triazol y el análogo 4-81 isomérico de 5-metil-1,2,4-triazolilo, por medio de una columna de fase inversa C-18 eluyendo con 8-10 % de CH₃CN/H₂O. Se sometieron a extracción fracciones apropiadas con CH₂Cl₂ y la evaporación lenta del disolvente dio lugar a material cristalino de (4-81) isomérico de 7-(5-metil-1,2,4-triazolil)-4-metoxi-6-azaindazol: MS m/z 230 (MH), ¹H RMN (CDCl₃) δ ppm 3,05 (3H, s, CH₃), 4,07 (3H, s, OCH₃), 6,74 (1H, q, J= 1,24, H-2), 7,37 (1H, t, J=2,4, H-3), 7,65 (1H, s, H-5), 8,07 (1H, s, triazol-H-3). Se confirmó la estructura por medio de análisis sencillo cristalográfico de rayos-X.

Preparación de 5-81

Procedimiento: Se disolvió AlCl₃ (40 g, 0,3 mol, 15 eq.) en una solución de CH₂Cl₂ (100 ml) y nitrometano (20 ml) bajo nitrógeno seco. Se añadió el compuesto 3-81 (4,58 g, 0,02 mol) a esta solución bajo agitación y bajo N₂, seguido de cloroacetato de metilo (9,8 g, 0,08 mol, 4 eq.). Se agitó la mezcla bajo N₂ a temperatura ambiente durante 1,5 h. Se añadió la mezcla gota a gota a una solución fría y agitada de solución de acetato de aonio de 20 % (750 ml). Se agitó la mezcla durante 20 min y se filtró el precipitado resultante, se lavó a fondo con agua y se secó a vacío para obtener 4,7 g (0,015 mol, Y. 75 %) del compuesto del título 5-81 en forma de sólido de color blanco: MS m/z 316 (MH); HRMS (ESI) m/z calculado para C₁₄H₁₄N₅O₄ (M+H), 316,1046; encontrado 316,1041

(Δ -1,6 ppm); ^1H RMN (CDCl_3 , 500 MHz) δ ppm 2,58 (3H, s, CH_3), 3,96 (3H, s, OCH_3), 4,05 (3H, s, OCH_3), 7,76 (1H, s, H-5), 8,34 (1H, d= 3 Hz, H-2), 9,15 (1H, s, triazol-H-5), 11,0 (1H, brs, NH). Se pueden obtener más compuesto del título **5-81** y ácido hidrolizado **6-81** a partir del filtrado por medio de extracción ácido-base con EtOAc.

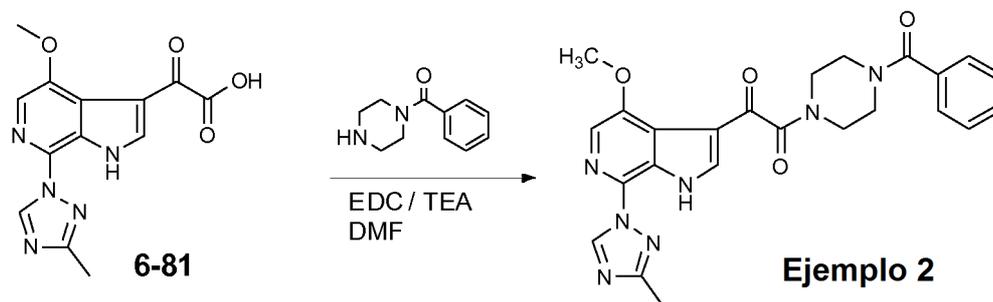
5 Preparación de 6-81



Procedimiento: a una suspensión de éster metílico de **5-81** (2,2 g, 7,0 mmol) en MeOH (50 ml) se añadió una solución de NaOH de 0,25 M en agua (56 ml, 14 mmol, 2 eq) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla durante 15 min, tiempo durante el cual HPLC indicó que la hidrólisis fue completa. Se concentró la mezcla a vacío de forma rápida para retirar MeOH y sobre la solución residual se añadió agua (100 ml) y HCl 1N (14 ml) con agitación para neutralizar la mezcla. Se filtró el precipitado fino resultante, se lavó con agua y se secó a vacío para obtener 1,98 g (6,58 mmol, Y 94 %) del compuesto del título **6-81** en forma de sólido de color blanco: MS m/z 302 (MH); ^1H RMN (DMSO- d_6 , 500 MHz) δ ppm 2,50 (3H, s, superpuesto con picos de DMSO), 3,98 (3H, s, CH_3O), 7,87 (1H, s, H-5), 8,29 (1H, d, J=3,5 Hz, H-2), 9,25 (1H, s, triazol-H-5), 12,37 (1H, s, NH).

Procedimiento alternativo: a una suspensión de éster metílico de **5-81** (10,7 g, 34 mmol) en MeOH (150 ml) se añadió una solución de NaOH de 0,25 M en agua (272 ml, 65 mmol, 2 eq) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla durante 20 min, tiempo durante el cual HPLC indicó que la hidrólisis fue completa. Se concentró la mezcla a vacío de forma rápida para eliminar MeOH, y se sometió a extracción la solución residual con EtOAc para retirar cualesquiera impurezas neutras. Se añadió HCl 1N (68 ml, 68 mmol) a la fase acuosa para neutralizar el producto. Se congeló la mezcla resultante y se liofilizó para obtener 14,1 g (33,7 mmol, Y, 99,2 %) del compuesto del título **6-81**, que contenía 2 equivalentes molares de NaCl en forma de sólido de color blanco. Se usó el presente material en la reacción posterior sin purificación adicional. Se obtuvo la sal de sodio del compuesto del título **6-81** por medio de cromatografía en columna de fase inversa tras tratamiento con bicarbonato de sodio: HPLC > 97 % (AP, uv a 254 nm); HRMS (sal de Na, ESI $^-$) m/z calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{N}_5\text{O}_4$ (M-H), 300,0733; encontrado 300,0724 (Δ -3 ppm); ^1H RMN (sal de Na, DMSO- d_6 , 500 MHz) δ ppm 2,37 (3H, s, Me), 3,83 (3H, s, CH_3O), 7,56 (1H, s, H-5), 8,03 (1H, s, H-2), 9,32 (1H, s, triazol-H-5); ^{13}C RMN (Sal de Na, DMSO- d_6 , 125,7 MHz) δ ppm 13,8 (triazol-Me), 57,2 (OMe), 114,8 (C-3), 120,0 (C-5), 125,1, 143,5 (C-5'), 149,8 (C-4), 160,0 (C-3'), 171,7, 191,3.

Ejemplo de preparación 2

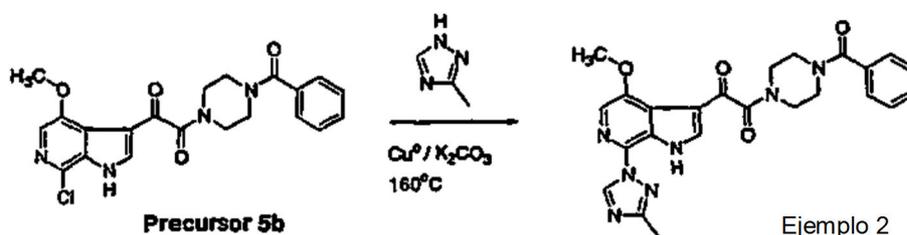


Procedimiento: Se añadió trietilamina (10,1 g, 100 mmol, 10 eq) a una solución del ácido **6-81** (3,01 g, 10 mmol) e hidrocloreto de benzoilpiperazina (3,39 g, 15 mmol) en DMF (50 ml), seguido de hidrocloreto de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida (EDC; 5,75 g, 30 mmol) bajo N_2 y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 22 h tras tratamiento por ultrasonidos y a 40 $^\circ\text{C}$ durante 2 h. Se concentró la mezcla a vacío para retirar DMF y TEA, y se añadió agua (200 ml) a la solución residual bajo agitación y tratamiento por ultrasonidos. Se recogieron los precipitados formados, se lavaron con agua y se secaron a vacío para obtener 2,8 g (5,9 mmol, Y. 59%) del compuesto del título del **Ejemplo 2** en forma de sólido de color blanco. Se sometió a extracción el filtrado con CH_2Cl_2 (x2). Se secaron los extractos de CH_2Cl_2 (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron hasta obtener una goma que se trituró con Et_2O para obtener un sólido. Se suspendió el presente sólido y se trituró con MeOH para obtener 400 mg del compuesto del título del **Ejemplo 2** en forma de sólido de color blanco. Rendimiento total: 3,2 g (6,8 mmol, Y. 68%); MS m/z 474 (MH); HRMS (ESI) m/z calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_4$ (M+H) 474,1890, encontrado

474,1884 (Δ -1,2 ppm); ^1H RMN (DMSO- d_6) δ ppm 2,50 (3H, s, superpuesto con picos de DMSO), 3,43 (4H, br, CH_2N), 3,68 (4H, br, CH_2N), 3,99 (3H, s, CH_3O), 7,46 (5H, brs, Ar-Hs), 7,68 (1H, s, indol-H-5), 8,25 (1H, s, indol H-2), 9,25 (1H, s, triazol-H-5), 12,40 (1H, s, NH); ^{13}C -RMN (DMSO- d_6) δ ppm 13,78, 40,58, 45,1, 56,78, 114,11, 120,95, 122,71, 123,60, 126,98, 128,34, 129,6, 135,43, 138,52, 142,10, 149,15, 161,29, 166,17, 169,22, 185,42; UV (MeOH) λ_{max} 233,6 nm (ϵ $3,43 \times 10^4$), 314,9 nm (ϵ $1,73 \times 10^4$); Anal: calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{N}_7\text{O}_4$ 1/5 H_2O ; C 60,42, H 4,94, N 20,55, Encontrado; C 60,42, H, 5,03, N, 20,65; KF (H_2O) 0,75 %.

Esta reacción también se puede llevar a cabo mediante el uso de HATU y DMAP para proporcionar un rendimiento más consistente del compuesto del título: Se añadió una mezcla de DMAP (5,72 g, 46,8 mmol, 3 eq) e hidrocloreto de benzoilpiperazina (5,30 g, 23,4 mmol, 1,5 eq) en DMF (60 ml) a temperatura ambiente sobre una suspensión de ácido **6-81** (8,90 g, 23,4 mmol, 1,5 eq) en DMF (60 ml) y CH_2Cl_2 (60 ml) y se agitó la mezcla bajo atmósfera de nitrógeno durante 4 horas. Se concentró la mezcla a vacío para retirar CH_2Cl_2 y la mayoría de DMF, y se añadió agua a la solución residual bajo agitación y se sometió a tratamiento por ultrasonidos. Se recogieron los precipitados formados, se lavaron con agua y se secaron a vacío para obtener 5,38 g (11,4 mmol, Y 72,8 %) del compuesto del título del **Ejemplo 2** en forma de sólido de color blanco: HPLC > 95 % (AP, uv a 254 nm).

Preparación alternativa del Ejemplo 2



Se lavó una mezcla del compuesto de **precursor 5b** (150 mg, 0,35 mmol), 3-metil-1,2,4-triazol (581 mg, 7 mmol, 20 eq.; preparada por medio del procedimiento descrito en Coll. Czech. Chem. Comm. 1985, 49, 2492), polvo de cobre (45 mg, 0,7 mmol; 2 eq), carbonato de potasio (97 mg, 0,7 mmol, 2 eq) con nitrógeno anhidro y se calentó en un tubo sellado a 160 °C durante 11 h. Tras enfriar, se añadió MeOH a la mezcla y se filtró el material insoluble. Se concentró el filtrado a vacío y se purificó por medio de columna de fase inversa C-18 (Sistema de Preparación eluyendo con MeOH-agua que contenía TFA de 0,1 %) para obtener 19 mg (0,040 mmol) Y. 11 % del compuesto del título del **Ejemplo 2** en forma de polvo amorfo (sal de TFA): MS m/e 474 (MH); ^1H RMN (DMSO- d_6) δ ppm 2,50 (3H, s, superpuesto con picos de DMSO), 3,44 (4H, br, CH_2N), 3,68 (4H, br, CH_2N), 4,00 (3H, s, CH_3O), 7,46 (5H, brs, Ar-Hs), 7,89 (1H, s), 8,25 (1H, s), 9,24 (1H, s), 12,41 (1H, s, NH).

Biología

- "μM" significa micromolar;
- "ml:" significa mililitro,
- "μl" significa microlitro,
- "mg" significa miligramo;

Los materiales y procedimientos experimentales usados para obtener los resultados presentados se describen a continuación.

Células:

- Cepa celular de Kidney, 293, embrionaria de producción de virus en humanos, propagada en Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (Life Technologies, Gaithersburg, MD) que contenía 10 % de suero bovino fetal (FBS, Sigma, St. Louis, MO).
- Se propagó cepa celular epitelial de infección de virus en humanos, HeLa, que expresa los receptores de VIH-1 CD4 y CCR5 en Medio de Eagle Modificado de Dulbecco (Life Technologies, Gaithersburg, MD) que contenía 10 % de suero bovino fetal (FBS, Sigma, St. Louis, MO) y complementado con 0,2 mg/ml de Geneticina (Life Technologies, Gaithersburg, MD) y 0,4 mg/ml de Zeocina (Invitrogen, Carlsbad, CA).

Se produjo virus indicador infeccioso rodeado de virus sencillo por medio de con-transfección de células de Kidney 293 embrionarias humanas con un vector de expresión de ADN con envoltura de VIH-1 y un cADN provírico que contenía una mutación de eliminación y el gen indicador de luciferasa insertado en lugar de las secuencias netas de VIH-1 (Chen et al, Ref. 41). Se llevaron a cabo las transfecciones usando reactivo de lipofectAMINE PLUS como se describe por el fabricante (Life Technologies, Gaithersburg, MD).

Experimento

1. Se añadió el compuesto sobre células HeLa CD4 y CCR5 colocadas en placas de 96 pocillos a una densidad de células de 5×10^4 células por pocillo en Medio de Eagle Modificado de Dulbecco de 100 µl que contenía suero bovino de 10 % a una concentración de < 20 µM.

2. Posteriormente se añadieron 100 µl de virus indicador infeccioso sencillo-redondeado en el Medio de Eagle de Dulbecco sobre las células de las placas y compuesto a una multiplicidad aproximada de infección (MOI) de 0,01, dando lugar a un volumen final de 200 µl por pocillo y una concentración final de compuesto < 10 µM.

3. Se recogieron las muestras 72 h después de la infección.

4. Se evaluó la infección vírica midiendo la expresión de luciferasa a partir de ADN vírico en las células infectadas usando un estuche de ensayo de gen indicador de luciferasa (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN). Se retiraron los sobrenadantes de las células infectadas y se añadieron por pocillo 50 µl de Medio de Eagle Modificado (sin rojo de fenol) y 50 µl de reactivo de ensayo de luciferasa reconstituido según se describe por parte del fabricante (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN). Posteriormente, se cuantificó la actividad de luciferasa midiendo la luminiscencia usando un contador de centelleo microbeta Wallac.

5. Se calculó el porcentaje de inhibición para cada compuesto cuantificando el nivel de expresión de luciferasa en las células infectadas en presencia de cada compuesto como el porcentaje de las células observadas infectadas en ausencia de compuesto y restando dicho valor determinado de 100.

6. El EC₅₀ proporciona un procedimiento para comparar la potencia antivírica de los compuestos de la presente invención. Se calculó la concentración eficaz para una inhibición de cincuenta por ciento (EC₅₀) con el soporte lógico de ajuste de curva Xlfit de Microsoft Excel. Para cada compuesto, se generaron curvas a partir de la inhibición calculada a 10 concentraciones diferentes por medio del uso de un modelo logístico de cuatro parámetros (modelo 205). Las Tablas 2-4 muestran los datos de EC₅₀ para los compuestos. La Tabla 1 es la clave para los datos de las Tablas 2-4.

Se llevaron a cabo ensayos de citotoxicidad con el mismo HeLa usando una metodología bien conocida en la técnica. Se ha descrito el presente procedimiento en la bibliografía (S Weislow, R Kiser, DL Fine, J Bader, RH Shoemaker y MR Boyd: New soluble formazan assay for HIV-1 cytopathic effects: application to high-flux screening of synthetic and natural products for AIDS-antiviral activity. Journal of the National Cancer Institute. 81(8): 577-586-1989.

Se incubaron células en presencia del medicamento durante seis días, después de lo cual se midieron usando una ensayo de reducción de colorante (MTT) y se determinó en forma de CC50. El presente ensayo mide la actividad de reducción intracelular presente en la células que respiran de forma activa.

Resultados

Tabla 1: Datos biológicos clave para E₅₀

Compuestos*	Compuestos	Compuestos con	Compuestos con
con EC ₅₀ S >5µM	con EC ₅₀ S >1 µM pero <5µM	EC50 >50nM pero no sometidos a ensayo a concentraciones más elevadas	EC50 <1 µM
Grupo C	Grupo B	Grupo A'	Grupo A

Los compuestos de los ejemplos 1 y 2 pertenecen al Grupo A.

Estudios de estabilidad metabólica de los compuestos en microsomas hepáticos. Se investigó la estabilidad metabólica de los compuestos en microsomas hepáticos agrupados humanos. Se obtuvieron los microsomas hepáticos humanos a partir de BD Gentest (Lot N°. 16, Woburn, MA) con una concentración de proteína de 20 mg/ml y una concentración total de citocromo P450 (CYP) de 0,55 nmol/mg de proteína.

Se preparó una solución de reserva en acetonitrilo a 1 mM. Se añadió una alícuota de solución de reserva al medio de incubación para dar una concentración final de 3 µM de fármaco, no excediendo la concentración de acetonitrilo de 1 % en la incubación. El medio de incubación consistió en un tampón de fosfato de potasio (0,1 M, pH 7,4), microsomas hepáticos (concentración final de 0,9 mg/ml), cloruro de magnesio (0,033 mM) y sistema regenerador de NADPH. Los cofactores del sistema regenerador de NADPH consistieron en NADPH (concentración final de 0,425 mg/ml), glucosa-6-fosfato (concentración final de 0,512 mg/ml) y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (concentración final de 0,6 unid/ml). Se pre-incubó el compuesto de ensayo en el medio durante 2 min. Se inició la reacción por medio de la adición de co-factores. Se llevó a cabo la incubación a 37 °C durante 10 min. Se terminó la reacción extrayendo una alícuota de 100 µl de la incubación y añadiendo 200 µl de acetonitrilo que contenía el compuesto de

referencia en forma de estándar analítico externo. Tras la mezcla vorticial y la centrifugación, se analizó una alícuota de 10 µl del sobrenadante por medio de LC/MS.

5 Se pueden usar recomendaciones para categorizar las sustancias en forma de compuestos de transparencia baja, intermedia o elevada.

Tasa (nmol/inin/mg)	Estimación de transparencia
0 - 0,100	Baja
0,101 - 0,200	Intermedia
0,201 - 0,300	Elevada

Estudios farmacocinéticos en ratas

10 Para los estudios farmacocinéticos IV y PO de los compuestos en ratas, se disolvió el compuesto en PEG-400/etanol (90/10) en forma de solución.

15 Rata. se usaron ratas de Sprague-Dawley macho (300-350 g, Hilltop Lab Animals, Inc., Scottdale, PA) con cánulas implantadas en la vena yugular. Se sometieron las ratas a ayuno durante la noche en los estudios farmacocinéticos de PO. Se recogieron muestras de sangre de 0,3 ml a partir de la vena yugular en tubos de micro-recipiente que contenían EDTA (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) y se centrifugaron para separar el plasma.

20 En el estudio IV, se administró el compuesto de ensayo a 1 mg/kg en forma de bolo durante 0,5 min (n = 3). Se recogieron muestras de sangre en serie antes de la dosificación a 2, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480 y 1440 min tras la dosificación.

25 En el estudio de PO del compuesto de ensayo, las ratas (n = 3) recibieron una dosificación oral de 5 mg/kg de BMS-585248. Se recogieron las muestras de sangre en serie antes de la dosificación y 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360, 480 y 1440 min después de la dosificación.

30 Cuantificación de los compuestos en el plasma. Se prepararon alícuotas de muestras de plasma a partir de ratas para los estudios de análisis mediante precipitación de las proteínas de plasma con dos volúmenes de acetonitrilo que contenía un estándar interno de un compuesto similar. Se separaron los sobrenadantes resultantes a partir de las proteínas precipitadas por medio de centrifugación durante 10 minutos y se transfirieron a viales de dispositivo automático de toma de muestras. Las muestras bien se prepararon manualmente o bien con el uso de dispositivo de manipulación automático para líquidos de Tomtec. Se inyectó una alícuota de 5 µl para el análisis.

35 El sistema de HPLC consistió en bombas de LC10AD de Shimadzu (Columbia, MD), un dispositivo automático de toma de muestras de SIL-HTC de Shimadzu (Columbia, MD) y un compartimento de columna Hewlett Packard Serie 1100 (Palo Alto, CA). La columna fue YMC Pro C18 (2,0 x 50 mm, partículas de 3 µm, Waters Co., Milford, MA) mantenida a 60 °C y con un caudal de 0,3 ml/min. La fase móvil consistió en formiato de amonio 10 mM y ácido fórmico de 0,1 % en agua (A) y 100 % de formiato de amonio 10 mM y ácido fórmico de 0,1 % en metanol (B). La composición inicial de la fase móvil fue de 95 %. Tras la inyección de la muestra, se modificó la fase móvil hasta 15% de A/85 % de B durante 2 minutos y se mantuvo a esa composición durante 1 minuto adicional. Posteriormente, se devolvió la fase móvil a las condiciones iniciales y se re-equilibró la columna durante 1 minuto. El tiempo total de análisis fue de 4 minutos.

45 El HPLC se colocó como interfase en un Micromass Quattro LC. Se usó nitrógeno de pureza ultra elevada como gas de nebulización y de-solvatación con caudales de 100 l/h para nebulización y de 1100 l/h para desolvatación. La temperatura de desolvatación fue de 300 °C y la temperatura de la fuente fue de 150 °C. La adquisición de datos utilizó un control de reacción escogido (SRM). Se escogieron los iones que representaban a las especies (M+H)⁺ del compuesto y el estándar interno en MS 1 y se disociaron mediante colisiones con argón a una presión de 2 x 10⁵ Pa para formar iones producto específicos que posteriormente se controlaron por medio de MS2.

50 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral (incluyendo inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, intrasternales o técnicas de infusión), por medio de inhalación, pulverización o por vía rectal, en formulaciones de dosificación unitaria que contienen vehículos convencionales no tóxicos aceptables farmacéuticamente, adyuvantes y vehículos.

55 De este modo, de acuerdo con la presente invención, se proporciona además un compuesto de la invención para su uso en un procedimiento de tratamiento y su composición farmacéutica para el tratamiento de infecciones víricas tales como la infección por VIH y SIDA. El tratamiento implica administrar al paciente que precisa dicho tratamiento una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéutico y una cantidad eficaz terapéuticamente del compuesto de la presente invención.

60 La composición farmacéutica puede estar en forma de suspensiones administrables por vía oral o comprimidos; pulverizaciones nasales, preparaciones inyectables estériles, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas,

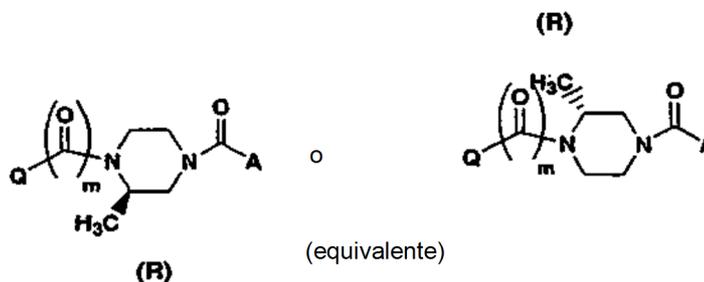
inyectables y estériles o supositorios.

Cuando se administran por vía oral en forma de suspensión, las presentes composiciones se preparan de acuerdo con técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden contener celulosa microcristalina para impartir volumen, ácido alginico o alginato de sodio como agente de suspensión, metilcelulosa como mejorador de la viscosidad y agentes edulcorantes/aromatizantes conocidos en la técnica. Como comprimidos de liberación inmediata, las presentes composiciones pueden contener celulosa microcristalina, fosfato de dicalcio, almidón, estearato de magnesio y lactosa y/o otros excipientes, aglutinantes, expansores, desintegrantes, diluyentes y lubricantes conocidos en la técnica.

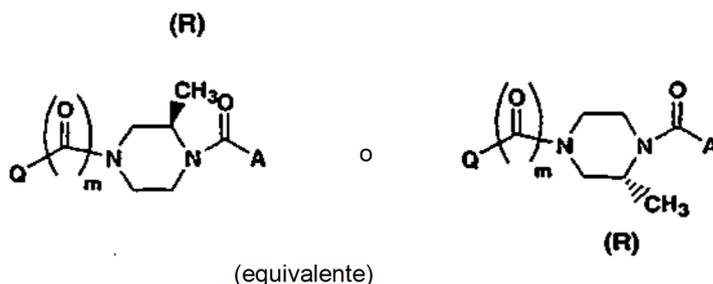
Las soluciones inyectables o suspensiones se pueden formular de acuerdo con la técnica anterior, usando diluyentes apropiados, no tóxicos, aceptables desde el punto de vista parenteral o disolventes, tales como manitol, 1,3-butanodiol, agua, solución de Ringer o solución isotónica de cloruro de sodio, o agentes de suspensión, dispersión o humectantes apropiados, tales como aceites, estériles, fijos y blandos, que incluyen mono- y diglicéridos y ácidos grasos incluyendo ácido oleico.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral a humanos en un intervalo de dosificación de 1 a 100 mg/kg de peso corporal en dosificaciones divididas. Un intervalo de dosificación preferido es de 1 a 10 mg/kg de peso corporal por vía oral en dosificaciones divididas. Otro intervalo de dosificación preferido es de 1 a 20 mg/kg de peso corporal por vía oral en dosificaciones divididas. Debe entenderse, no obstante, que el nivel de dosificación específico y la frecuencia de la dosificación para cualquier paciente particular se pueden variar y dependerá de varios factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, la salud en general, el sexo, la dieta, el modo y el tiempo de administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la enfermedad particular y la terapia a la que se somete el huésped.

La divulgación abarca isómeros, diastereoisómeros, estereoisómeros y enantiómeros de las fórmulas descritas cuando uno o más carbonos asimétricos se encuentran presentes en las moléculas. Un carbono asimétrico es uno en el que el átomo de carbono se encuentra unido a cuatro sustituciones diferentes. La invención abarca isómeros o un enantiómero sencillo especialmente cuando el enantiómero muestra propiedades superiores. Los enantiómeros difieren uno de otro en que la configuración espacial de los sustituyentes alrededor de los centros quirales de los carbonos asimétricos da lugar a que cada molécula sea una imagen especular no superponible de la otra. De manera no ambigua, la configuración de los sustituyentes alrededor de un átomo de carbono asimétrico se define bien como (R) que es una representación estándar que alberga el rectus Latin, derecha o (S) que es la representación estándar de sinister Latin, izquierda en el sistema de nomenclatura Cahn-Ingold-Prelog que se ha usado desde 1960. Las reglas estándar para definir la configuración de los presentes centros se encuentran en cualquier libro de texto de química orgánica. Para la presente divulgación y basándose en los ejemplos iniciales, cuando W contiene un grupo metilo sencillo como se ha mostrado anteriormente, cuando el carbono que porta el grupo metilo se encuentra en configuración (R), puede presentar una ventaja de potencia con respecto al enantiómero (S). De manera ocasional, la (R)-metil-piperazina puede mostrar una ventaja de potencia con respecto al piperazina no sustituida. Estas observaciones con un efecto específico del compuesto y no siempre se encuentran presentes. La piperazina y (S) enantiómeros no sustituidos son compuestos antivíricos todavía potentes a pesar de que, de manera ocasional, son menos potentes que el enantiómero (R).



Cuando la configuración de la metil piperazina mostrada a continuación es (R), el grupo metilo puede mejorar la estabilidad metabólica de la amida adyacente en comparación con la metil piperazina (S) o la piperazina no sustituida. No obstante, la estabilidad metabólica del enlace de amida es específica del compuesto y no necesariamente se requiere un sustituyente de metilo para las propiedades óptimas.



De manera sorprendente, ahora se ha encontrado que los compuestos de la invención resultan particularmente eficaces para inhibir VIH. Esto se explica con más detalle a continuación.

El tratamiento eficaz de VIH y otros virus requiere compuestos que sean potentes inhibidores del virus, sean selectivos para el virus, y presenten propiedades que les permitan conseguir de forma segura y mantener concentraciones en plasma que sean un número máximo por encima de la concentración que se precisa para inhibir de forma mínima el virus. Las exposiciones elevadas evitan la replicación vírica y tasas de replicación bajas significan que las cepas de virus con resistencia al tratamiento farmacológico se desarrollan a un velocidad menor. Los fármacos potentes exhiben una actividad equivalente a partir de una concentración más reducida o una dosificación menor que la que se requiere para conseguir el mismo efecto a partir de un fármaco menos potente. Los fármacos que, de manera intrínseca, producen exposiciones más elevadas a partir de una dosificación equivalente en modelos con animales o pacientes (como viene determinado por medio de mediciones farmaco-cinéticas tales como AUC (la suma de la concentración del fármaco a lo largo de un tiempo particular), Cmax o Cmin) también proporcionan un mayor beneficio para el paciente. Los fármacos que presentan una estabilidad más elevada en presencia de mecanismos metabolizantes y enzimas mantienen sus concentraciones más elevadas y de este modo requieren una dosificación menos frecuente o la dosificación de cantidades más pequeñas. En animales o en humanos, la tasa de eliminación es un parámetro medido con frecuencia para evaluar la presente propiedad, aunque también se usa el tiempo de retención medio. Por motivos de precisión, el valor determinado de inhibición vírica es un EC50; pero de manera general se piensa que las concentraciones mínimas en plasma que se deberían mantener en el paciente son al menos cuatro o cinco veces más elevadas. De este modo, los candidatos a fármaco antivírico o anti-VIH serán los que, de manera más probable, proporcionen beneficios máximos al paciente y aquellos que, a través de programas de identificación de investigación pre-clínica, puedan exhibir 1) potencia máxima 2) ausencia de toxicidad general frente a la cepa celular usada para el ensayo 3) tasas de predicción reducidas de metabolismo en humanos basado en modelos in vitro y 4) elevada exposición tras dosificación oral. Se evalúan muchas otras propiedades de los candidatos potenciales a fármacos con el fin de determinar qué compuestos presentan la mejor oportunidad de mostrar utilidad óptima en pacientes humanos, aunque los compuestos de la presente invención se sometieron a evaluación inicial mediante la determinación de:

- 1) Potencia frente a VIH determinada por medio de EC50 en un ensayo de seudotipo inicial como se ha descrito en la sección de biología.
- 2) Ausencia de citotoxicidad general frente a la cepa celular Hela. Se usó > 100 uM como límite arbitrario por motivos de seguridad.
- 3) Medición de la tasa de metabolismo frente a las preparaciones de microsomas hepáticos humanos y a partir de este dato proyectar la tasa de eliminación en humanos. Cuanto más baja, mejor.
- 4) Estimación de la exposición potencial en el hombre por medio de la medición de parámetros tales como AUC y la tasa de eliminación por medio de dosificación oral e iv en ratas. Elevada exposición y baja eliminación resultan deseables.

Se han divulgado piperazin amidas oxoacéticas de azaindol en dos series de publicaciones de patente. La primera serie divulga derivados de azaindol que presentan un potencial prometedor como agentes antivíricos (en lo sucesivo denominados, referencia 94) Wang, Tao y col., patente de EE.UU. 6476034 y documento WO 0162255 A1, presentada el 19 de enero de 2001, publicada el 30 de agosto de 2001. La segunda serie (en lo sucesivo denominada, referencia 106) Wang, Tao, y col divulga Actividad Antivírica de Derivados de Piperazina con Sustitución Azaindoloxoacética en la solicitud de patente de EE.UU. N°. Serie 10/214.982, presentada el 7 de agosto de 2002, que es una solicitud de continuación-en-parte de la patente de EE.UU. N°. Serie 10/038.306, presentada el 2 de enero de 2002 (que corresponde la solicitud internacional PCT/US02/00455), el documento WO 02/062423 A1, presentado el 2 de enero de 2002, publicado el 15 de agosto de 2002. Todas las referencias para las presentes dos series se incorporan por referencia en el presente documento. La referencia 106 describe en parte heteroarilo C-7, arilo o azaindol con sustitución 4,5,6 ó 7 como agentes antivírico y son los más relevantes de la técnica anterior.

Los inventores han evaluado las propiedades de muchos compuestos abarcados por el alcance de las referencias 94 y 106 y han encontrado que los compuestos que tienen grupos triazol unidos a N, C-7, son, de manera sorprendente e inesperada, superiores.

Los inventores han evaluado inicialmente compuestos para determinar cual mostró potencia máxima o el mínimo valor de EC50 usando el ensayo de seudotipo descrito en la sección de biología de la presente solicitud. En el caso de los inventores, los compuestos con valores de EC50 menor de 0,20 nM fueron considerados de máximo interés, ya que abarcan los compuestos más potentes y representan la variabilidad de ensayo de su evaluación inicial.

También se evaluó la estabilidad de los compuestos para determinar la estabilidad metabólica cuando se incubaron en preparaciones in vitro de microsomas hepáticos humanos (HLM). Este es un sistema predictivo usado comúnmente para la evaluación del potencial para el metabolismo humano y prever tasas de eliminación en el hombre. Los compuestos con tasas de eliminación bajas fueron los más deseados. Es más probable que los compuestos con tasas de eliminación intermedias y elevadas presenten más dificultad a la hora de conseguir regímenes de dosificación viables en humanos frente a los compuestos con tasa de eliminación baja. Tampoco se sugieren compuestos para los cuales no se pueden llevar a cabo determinaciones precisas.

De manera sorprendente, cuando se evaluaron los compuestos más prometedores desde el punto de vista de los criterios de potencia y estabilidad metabólica en ratas, para medir sus propiedades farmaco-cinéticas, una clase de sustituyentes C-7, triazoles unidos con N de la invención, mostró una eliminación muy reducida y valores de AUC muy elevados (exposición), en comparación con los compuestos de las referencias 94 y 106.

De este modo, los triazoles con unión de N C-7 de la invención, de manera sorprendente, mostraron propiedades que fueron esencialmente equivalentes en cuanto a potencia a las de los compuestos más potentes abarcados por las referencias 94 y 106 que se habían evaluado hasta la fecha. Mostraron una estabilidad metabólica en microsomas hepáticos humanos que fue equivalente a la de los mejores compuestos de la solicitud. De manera inesperada, mostraron tasas de eliminación en ratas mucho menores, normalmente 10 veces menores, que la de los mejores compuestos, a partir de los descritos en las solicitudes de la referencia 94 y fueron las mejores de cualesquiera de los compuestos evaluados en la referencia 106. Incluso de manera más sorprendente, representaron la única clase de compuestos que mostraron una exposición considerablemente mayor en ratas como queda mostrado por sus valores de AUC.

En resumen, los presentes triazoles con unión de N de la invención mostraron una combinación sorprendente de propiedades que no resultaría obvia para el experto en la técnica, basándose en la divulgación de las referencias 94 y 106. Únicamente se describe un triazol sencillo en el documento WO 02/06423. El presente compuesto presenta un sustituyente R⁴ que es un triazol con unión de C, y no un triazol con unión de N, y exhibe una potencia que no fue comparable con la de los triazoles unidos por N de la invención. No se describen triazoles unidos por N en los ejemplos de la solicitud publicada PCT de la referencia 106.

Las siguientes tablas de datos recogen la potencia, la eliminación prevista en humanos basado en microsomas hepáticos humanos, y el valor de AUC y la eliminación determinados por medio de estudios farmaco-cinéticos en ratas para estos triazoles con unión de N de la invención, en comparación con los compuestos representativos y los análogos próximos presentes en la solicitud de PCT del documento WO 02/062423 A1, presentado el 2 de enero de 2002, publicado el 15 de agosto de 2002 y en las solicitudes publicadas y patentes presentes en la referencia 94. Como puede observarse en las tablas siguientes, los triazoles con unión de N del identificados en el presente documento como más grupos más preferidos exhiben una superioridad especialmente sorprendente en términos de mostrar una potencia máxima, estabilidad metabólica equivalente a la mejor clase y, de forma exclusiva, un valor de AUC elevado (exposición) y baja eliminación en ratas, que se determinan por medio de dosificación oral e iv a 5 mg/kg y 1 mg/kg, respectivamente. El modelo en ratas es un modelo inicial usado para evaluar el potencial de la exposición en el hombre.

De manera sorprendente, la utilidad de los compuestos de la clase de triazol depende mucho de los patrones de sustitución como se muestra. Por ejemplo, los 1,2,3-triazoles unidos en el átomo de nitrógeno de la posición 2, hasta el momento, han presentado un valor de AUC significativamente reducido (exposición) en ratas, en comparación con los compuestos mostrados. Además, moviendo el grupo E cuando E es metilo, en el 1,2,4-triazol con unión N desde la posición 3 hasta la 5 proporciona compuestos con potencia significativamente menor. Como puede verse a partir de la Tabla 2, los triazoles con unión de N especificados mostraron un potencia elevada en un ensayo antivírico inicial.

Como queda evidenciado por medio de las Tablas A3-A5 de los compuestos de Comparador, la estabilidad metabólica de los compuestos de triazol con unión de N de la invención es, de manera sorprendente, equivalente a o mejor que cualesquiera compuestos abarcados en cualesquiera de las series de solicitudes publicadas de azaindazol (es decir, referencias 94 y 106).

Como se muestra de forma relevante en las tablas, la baja eliminación y la elevada exposición que se observa en ratas para los compuestos de la Tabla A2 resultaron sorprendentes e inesperadas, ya que los compuestos mostrados en la técnica anterior no exhibieron estas propiedades como cabría haber esperado.

En las tablas siguientes, estos términos presentan los siguientes significados:

"NT" significa no sometido a ensayo.

"Dificultades" significa resultados que no pueden ser interpretados (es decir, en el ensayo de HLM).

Resultados

5

Tabla A1: Datos biológicos clave para EC₅₀ en las Tablas A2-A7

Compuestos* con EC ₅₀ S > 1 µM	Compuestos con EC ₅₀ S > 0,2 nM pero < 1 µM	Compuestos con EC ₅₀ ≤ 0,20 nM
Grupo 3	Grupo 2	Grupo 1

Tabla A2 Triazoles con unión N como R4 con propiedades superiores sorprendentes

Ejemplo Número	Categoría EC50	CC50 > 100 µM	HLM previsto clase de eliminación en humanos	AUC 24 h (ug.h/ml)	CL, iv (ml/min/kg)
1	1	Si	Bajo	32 ± 12	1,6 ± 0,2
2	1	Si	Bajo	52 ± 12	1,3 ± 0,19

Tabla A3 Heteroarilo con unión N relevante A a R4 como comparadores

Ejemplo Número	Categoría EC50	CC50 > 100 µM	HLM previsto clase de eliminación en humanos	AUC 24 h (ug.h/ml)	CL, iv (ml/min/kg)
139	2	Si	Elevado		

10

Tabla A4 Algunos comparadores de heteroarilo con unión C relevantes

Ejemplo Número	Categoría EC50	CC50 > 100 µM	HLM previsto clase de eliminación en humanos	AUC 24 h (ug.h/ml)	CL, iv (ml/min/kg)
40	2	No	Bajo		
42	2	Si	Bajo		
22	1	No	Intermedio		
35	1	Si	Intermedio		
37	1	No	NT		
38	1	No	Bajo		
39	2	No	Intermedio		
28	3	No	NT		
29	2	No	Elevado		
22	2	No	Elevado		
146	2	Si	Intermedio		

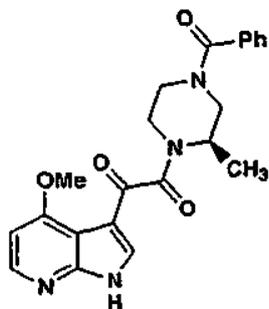
Tabla A5 Algunos comparadores relevantes y datos de la patente de EE.UU. 6476034 (Referencia 94)

Número de referencia del compuesto	Categoría EC50	CC50 > 100 µM?	HLM previsto clase de eliminación en humanos	AUC 24 h (ug.h/ml)	CL, iv (ml/min/kg)
1	2	Si	Bajo	0,5	32±1,8
2	2	Si	Intermedio		
3	2	Si	Bajo	6,3 ± 2,7	13 ± 4,0
4	2	Si	Bajo		
5	1	Si	Intermedio		
6	2	Si	Bajo	1,7 ± 0,58	31 ± 5,9
7	1	Si	Bajo	2,6 ± 0,12*	19,3 ± 0,65
8	1	Si	Bajo	1,03 ± 0,07*	47,2 ± 11,5
9	2	Si	Bajo	5,9 ± 2,2	5,9 ± 2,2
10	2	Si	Bajo	2,9 ± 0,3	11,7 ± 1,0
11	1	Si		1,4 ± 0,2*	24,8 ± 0,41
12	1	Si	Bajo	4,7 ± 1,1	11,9 ± 1,8
13	2	Si	NT		

15

Estructuras de los Compuestos de Referencia como clave para la Tabla A5

Compuesto de Referencia 1

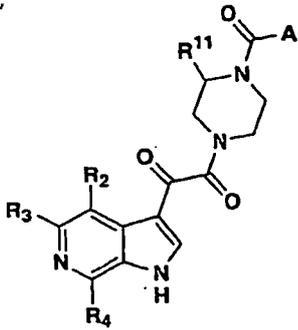
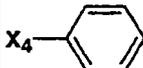
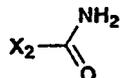
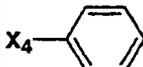
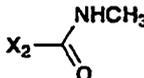
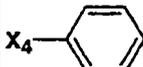


5

Tabla A6 (Estructuras de compuestos de referencia 2-9)

Número de compuesto de referencia	R2	R3	R4	R9	A
2	OMe	H	X ₂ -OMe	(R)-Me	
3	OMe	H	X ₂ -OMe	H	
4	OMe	H	X ₂ -OH	H	
5	Cl	H		H	
6	F	H		H	
7	F	H		H	
8	MeO	H		H	
9	MeO	H		H	

Tabla A7 (Compuestos de Referencia 10-12)

					
Número de compuesto de referencia	R2	R3	R4	R11	A
10	MeO	H	X ₂ -OMe	(R)-Me	X ₄ - 
11	MeO	H	X ₂ - 	(R)-Me	X ₄ - 
12	MeO	H	X ₂ - 	(R)-Me	X ₄ - 

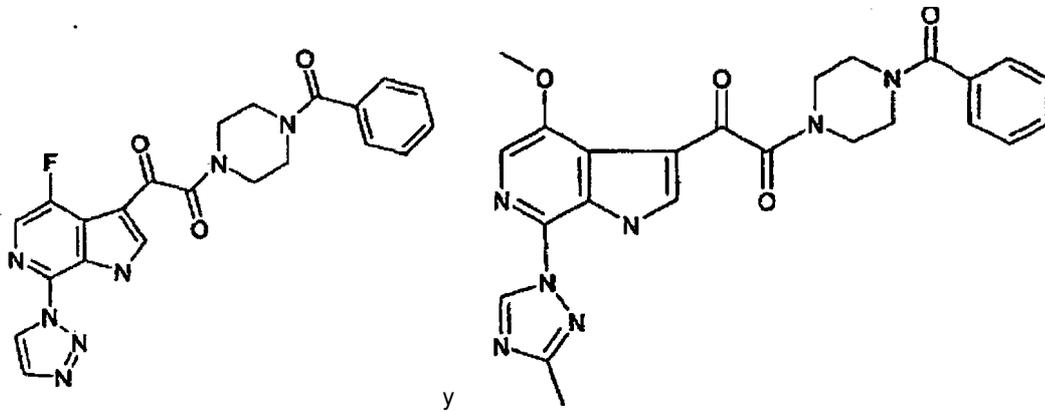
En las tablas A6 y A7, X₂ y X₄ se refieren al punto de unión.

- 5 Los compuestos mostrados en las Tablas A3-A7 se divulgan y preparan en el documento WO 02/062 423.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz antivírica de un compuesto seleccionado entre el grupo:

5



que incluye sus sales farmacéuticamente aceptables, un vehículo farmacéutico y un inhibidor de proteasa del VIH.

2.. La composición de la reivindicación 1, en la que el inhibidor de proteasa del VIH está seleccionado entre indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir y atazanavir.

3. La composición de la reivindicación 2, en la que el inhibidor de proteasa del VIH es ritonavir o atazanavir.

4. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en un método de tratamiento de infecciones víricas.

5. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la infección vírica es por VIH o SIDA.

6. La composición para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 4 o 5, en la que dicho compuesto se administra por vía oral a seres humanos en un intervalo de dosificación de 1 a 100 mg/kg de peso corporal en dosis divididas.

7. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el compuesto se administra en un intervalo de dosificación de 1 a 20 mg/kg de peso corporal.

8. La composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en la que el compuesto se administra en un intervalo de dosificación de 1 a 10 mg/kg de peso corporal.

9. La composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, en donde dicha composición está en forma de comprimidos o suspensiones que se administran por vía oral.

30