

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 671 478**

51 Int. Cl.:

C07H 19/067 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.08.2013 PCT/IB2013/056898**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014 WO14033617**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.08.2013 E 13785621 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2890704**

54 Título: **Derivados de 2'-etnil nucleósidos para el tratamiento de infecciones virales**

30 Prioridad:

31.08.2012 US 201261695727 P
29.03.2013 WO PCT/CN2013/073443

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.06.2018

73 Titular/es:

NOVARTIS AG (100.0%)
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72 Inventor/es:

ANANDAN, SAMPATH-KUMAR;
AULAKH, VIRENDER SINGH;
FENAUX, MARTIJN;
LIN, XIAODONG;
MAO, LIANG;
SAUNDERS, OLIVER;
SWEENEY, ZACHARY KEVIN;
YOKOKAWA, FUMIAKI y
ZHONG, WEIDONG

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 671 478 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

Derivados de 2'-etil nucleósidos para el tratamiento de infecciones virales

Campo de la invención

5 Esta invención se dirige a nuevos compuestos como se define en las reivindicaciones que son útiles en el tratamiento de infecciones virales. La invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, y describe procedimientos para su preparación y usos de los compuestos en diversas aplicaciones medicinales, tales como el tratamiento o prevención de infecciones virales, particularmente virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de la fiebre hemorrágica Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y virus de la hepatitis C, más particularmente virus del dengue y virus de la hepatitis C. La invención es como se menciona en las reivindicaciones.

Antecedentes

15 La fiebre del dengue es una enfermedad causada por uno de los cuatro serotipos del virus del dengue DEN-1, DEN-2, DEN-3 y DEN-4, que pertenecen a la familia *Flaviviridae*. El virus se transmite a los humanos principalmente por *Aedes aegypti*, un mosquito que se alimenta de humanos.

20 Las infecciones producen una gama de manifestaciones clínicas, desde síntomas leves similares a la gripe hasta la enfermedad hemorrágica más grave y, en ocasiones, mortal. Los síntomas típicos incluyen fiebre, dolor de cabeza severo, dolores musculares y en las articulaciones y erupciones cutáneas. Las formas más graves de la enfermedad son la fiebre hemorrágica del dengue (DHF) y el síndrome de shock del dengue (DSS). Según la WHO, hay cuatro manifestaciones clínicas principales de DHF: (1) fiebre alta (2) fenómenos hemorrágicos (3) trombocitopenia y (4) filtración de plasma. DSS se define como DHF más pulso débil rápido y presión de pulso estrecha o hipotensión con piel fría y húmeda y agitación. La gravedad de DHF se puede reducir con la detección temprana y la intervención, pero los sujetos en estado de shock tienen un alto riesgo de muerte.

25 El dengue es endémico en las regiones tropicales, particularmente en Asia, África y América Latina, y se estima que 2.5 mil millones de personas viven en áreas donde están en riesgo de infección. Hay alrededor de 40 millones de casos de dengue y varios cientos de miles de casos de fiebre hemorrágica por año. En Singapur, una epidemia en 2005 resultó en más de 12000 casos de dengue.

30 A pesar de los brotes regulares, las personas previamente infectadas siguen siendo susceptibles a la infección porque hay cuatro serotipos diferentes del virus del dengue y la infección con uno de estos serotipos proporciona inmunidad solamente a ese serotipo. Se cree que es más probable que la DHF ocurra en sujetos que tienen infecciones secundarias por dengue. Se están buscando tratamientos eficientes para la fiebre del dengue, DHF y DSS.

35 El virus de la fiebre amarilla (YFV), virus del Nilo Occidental (WNV), virus de la encefalitis japonesa (JEV), virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de San Luis, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y el virus de la hepatitis C (HCV) también pertenecen a la familia *Flaviviridae*.

40 El WNV puede ser asintomático o puede causar síntomas similares a la gripe en algunas personas. En algunos casos causa trastornos neurológicos, encefalitis y, en casos graves, puede causar la muerte. WNV también es transmitido por mosquitos. YFV es otro virus transmitido por mosquitos, que puede causar síntomas graves en personas infectadas. JEV también se transmite por los mosquitos, y es ya sea asintomático o causa síntomas similares a la gripe, y en algunos casos se convierte en encefalitis. La etapa de encefalitis aguda de la enfermedad se caracteriza por convulsiones, rigidez en el cuello y otros síntomas.

45 El HCV es un virus transmitido por la sangre que se transmite por contacto de sangre a sangre. En la etapa inicial (aguda) de la enfermedad, la mayoría de los sujetos no mostrarán ningún síntoma. Incluso durante la etapa crónica (esto es, cuando la enfermedad persiste durante más de 6 meses), la gravedad de los síntomas puede variar de un sujeto a otro. A largo plazo, algunas personas infectadas pueden progresar a cirrosis y cáncer de hígado. Los tratamientos actuales para la infección por HCV incluyen el tratamiento con diversas combinaciones de interferón, ribavirina e inhibidores de la proteasa NS3 del HCV. Los inhibidores de las proteínas virales NS5B, NS5A y NS4 también han demostrado eficacia en ensayos clínicos.

50 También se están buscando tratamientos eficientes para infecciones causadas por estos virus *Flaviviridae*.

55 El documento WO2013/096680 A1 tiene una fecha de prioridad posterior a la relevante para el asunto reivindicado en este momento. El documento WO 2010/015643 A1 describe un compuesto antiviral que lleva una unidad estructural alquinilo en la posición 2'. El documento WO2012062870 A1 describe compuestos que llevan un grupo espiro en la posición 2'. El documento WO2014/078643 A1 describe en los ejemplos 6 y 7 dos compuestos antivirales.

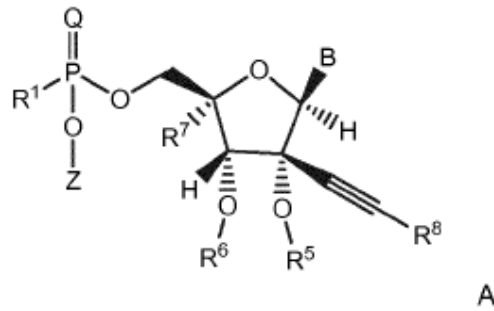
Ahora se ha encontrado sorprendentemente que ciertos análogos de nucleósidos son útiles para el tratamiento de infecciones virales, tales como las causadas por un virus de la familia *Flaviviridae*, especialmente virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y virus de la hepatitis C, y otros virus *Flaviviridae* como se describe en este documento.

5

Resumen

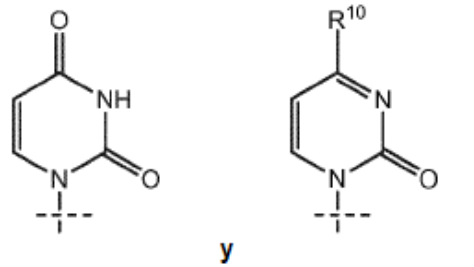
La invención según se reivindica proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas de los mismos, que son útiles para el tratamiento de infecciones víricas.

10 En una primera realización, la descripción, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula (A), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



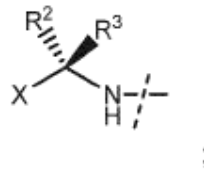
en la que,

B se selecciona del grupo que consiste en



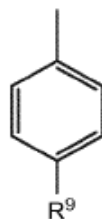
15

R¹ es



X es R^{4a}-C(O)-O-CH₂- o R⁴-O-C(O)-;

Q es O o S;



20

Z es hidrógeno o

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

5 R³ es H o alquilo C₁-C₄; o

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

10 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno, -CH₂OC(O)alquilo C₁-C₄ o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄;

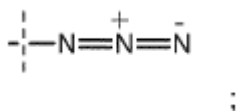
R^{4a} es fenilo opcionalmente sustituido con halógeno, haloalcoxi C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquilo C₁-C₄;

R⁵ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄;

15 R⁶ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄; o

R⁵ y R⁶ tomados juntos forman un carbonato cíclico de cinco miembros;

R⁷ es hidrógeno o



R⁸ es hidrógeno, fluoro, cloro, o-CH₃;

20 R⁹ es hidrógeno o halógeno;

R¹⁰ es -alcoxi C₁-C₄, haloalcoxi C₁-C₄ o -NH₂.

Definiciones

Para los fines de interpretar esta especificación, se aplicarán las siguientes definiciones a menos que se especifique lo contrario y, cuando sea apropiado, los términos usados en singular también incluirán el plural y viceversa.

25 Los términos usados en la especificación tienen los siguientes significados:

"Opcionalmente sustituido" significa que el grupo aludido puede ser sustituido en una o más posiciones por una cualquiera o cualquier combinación de los radicales enumerados a continuación.

"Halo" o "halógeno", como se usa en este documento, puede ser flúor, cloro, bromo o yodo.

30 "Alquilo C₁-C₆", como se usa en este documento, indica alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene de 1-8 átomos de carbono. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tales como C₆ o C₃, entonces la definición se debe modificar en consecuencia, tal como "alquilo C₁-C₄" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y tert-butilo.

35 "Alcoxi C₁-C₆", como se usa en este documento, indica alcoxi de cadena lineal o ramificada que tiene 1-8 átomos de carbono. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, como C₆ o C₃, entonces la definición se debe modificar en consecuencia, como "alcoxi C₁-C₄" representará metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, sec-butoxi y tert-butoxi.

40 "Haloalquilo C₁-C₄", como se usa en este documento, indica alquilo de cadena lineal o ramificada que tiene 1-4 átomos de carbono con al menos un hidrógeno sustituido con un halógeno. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₆ o C₃, entonces la definición se debe modificar de acuerdo con lo anterior, tal como "haloalquilo C₁-C₄" representará metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y tert-butilo que tienen al menos un hidrógeno sustituido con halógeno, tal como cuando el halógeno es flúor: CF₃CF₂-, (CF₃)₂CH-, CH₃-CF₂-, CF₃CF₂-, CF₃, CF₂H-, CF₃CF₂CHCF₃ o CF₃CF₂CF₂CF₂-.

"Cicloalquilo C₃-C₈" como se usa en este documento se refiere a un anillo de hidrocarburo monocíclico saturado de 3 a 8 átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Si se

especifica un número diferente de átomos de carbono, tales como C₃-C₆, la definición se modificará de acuerdo con lo anterior.

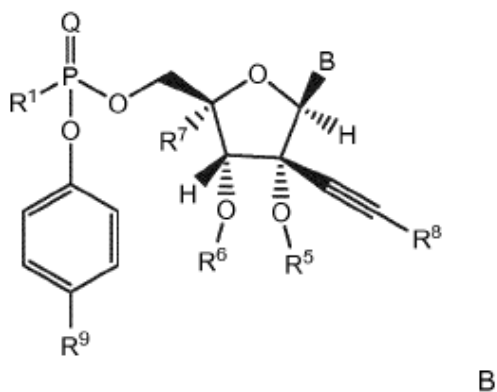
5 "Ariilo" o "arilo C₆-C₁₅", como se usa en este documento, indica un grupo aromático que tiene de 6 a 15 átomos de carbono en el anillo. Los ejemplos de grupos arilo C₆-C₁₅ incluyen, pero no se limitan a, fenilo, fenileno, bencenotriilo, naftilo, naftileno, naftalenotriilo o antrileno. Si se especifica un número diferente de átomos de carbono, tal como C₁₀, entonces la definición se debe modificar de acuerdo con lo anterior.

10 "Heterociclilo de 4 a 8 miembros", "heterociclilo de 5 a 6 miembros", "heterociclilo de 3 a 10 miembros", "heterociclilo de 3 a 14 miembros", "heterociclilo de 4 a 14 miembros" y "heterociclilo de 5 a 14 miembros", se refiere, respectivamente, a anillos heterocíclicos de 4 a 8 miembros, de 5 a 6 miembros, de 3 a 10 miembros, de 3 a 14 miembros, de 4 a 14 miembros, de 5 y 14 miembros, que contienen de 1 a 7, 1 a 5 o 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre, que pueden estar saturados o parcialmente saturados. El grupo heterocíclico puede estar unido a un heteroátomo o a un átomo de carbono. El término "heterociclilo" incluye grupos de anillo simple, grupos de anillo condensados y grupos en puente. Los ejemplos de
15 tales heterociclilos incluyen, pero no se limitan a, pirrolidina, piperidina, piperazina, pirrolidina, pirrolidinona, morfolina, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, tetrahidropirano, tetrahidropirano, 1,4-dioxano, 1,4-oxatiano, 8-aza-biciclo [3.2.1] octano, 3,8-diazabicyclo [3.2.1] octano, 3-Oxa-8-aza-biciclo [3.2.1] octano, 8-Oxa-3-aza-biciclo [3.2.1] octano, 2 -Oxa-5-aza-biciclo [2.2.1] heptano, 2,5-Diaza-biciclo [2.2.1] heptano, azetidina, etilendioxo, octano o tiazol.

20 El término "un", "uno", "el" y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones) se deben interpretar para cubrir tanto el singular como el plural a menos que se indique lo contrario en este documento o claramente contradicho por el contexto.

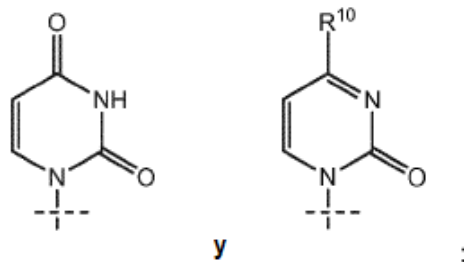
Varias realizaciones de la invención y, a modo de referencia solamente, más allá de las reivindicaciones se describen en este documento. Se reconocerá que las características especificadas en cada realización se pueden combinar con otras características especificadas para proporcionar realizaciones adicionales.

25 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula (B), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

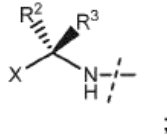


en la que,

B se selecciona del grupo que consiste en



30 R¹ es



X es R^{4a}-C(O)-O-CH₂- o R⁴-O-C(O)-;

Q es O o S;

5 R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

R³ es H o alquilo C₁-C₄; o

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

10 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno, -CH₂OC(O)alquilo C₁-C₄ o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄;

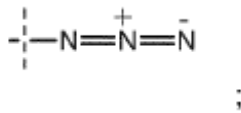
15 R^{4a} es fenilo opcionalmente sustituido con halógeno, haloalcoxi C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquilo C₁-C₄;

R⁵ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄;

R⁶ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄; o

R⁵ y R⁶ tomados juntos forman un carbonato cíclico de cinco miembros;

R⁷ es hidrógeno o



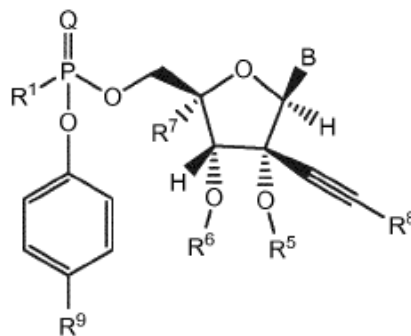
20

R⁸ es hidrógeno, fluoro, cloro, o -CH₃;

R⁹ es hidrógeno o halógeno;

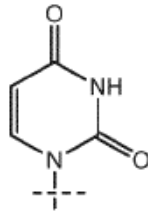
R¹⁰ es -alcoxi C₁-C₄, haloalcoxi C₁-C₄ o -NH₂.

25 En otra realización, la presente divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula (B), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



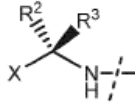
B

en la que, B se selecciona del grupo que consiste en



;

R¹ es



;

X es R⁴-O-C(O)-;

5 Q es O;

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

R³ es H o alquilo C₁-C₄; o

10 R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno, -CH₂OC(O)alquilo C₁-C₄ o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄;

15

R⁵ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄;

R⁶ es hidrógeno o -C(O)alquilo C₁-C₄; o

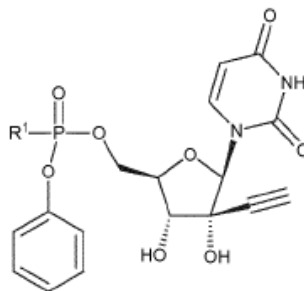
R⁵ y R⁶ tomados juntos forman un carbonato cíclico de cinco miembros;

20 R⁷ es hidrógeno;

R⁸ es hidrógeno o -CH₃;

R⁹ es hidrógeno o cloro.

En una realización de la invención, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

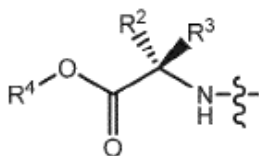


I

25

en la que

R¹ es



5

R² es un alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

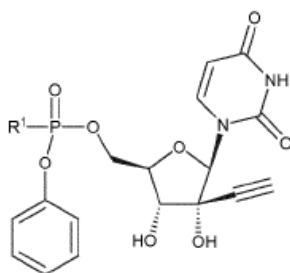
R³ es H o alquilo C₁-C₄

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

10

R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄; un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄.

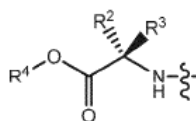
En otra realización de la invención, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



15

en la que

R¹ es



20

R² es un alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno

o alquilo C₁-C₄;

R³ es H o alquilo C₁-C₄

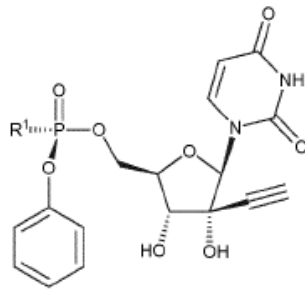
R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

25

R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄; un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄.

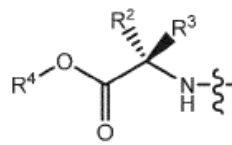
30

En otra realización de la invención, la invención proporciona un compuesto de fórmula (II) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



II

R¹ es



;

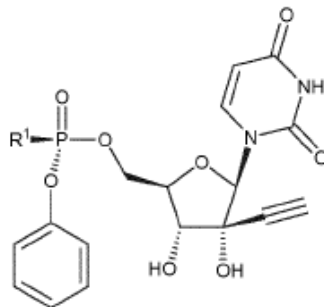
- 5 R² es un alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

R³ es H o alquilo C₁-C₄

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

- 10 R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄; un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄.

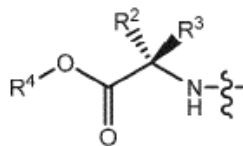
- 15 En otra realización de la invención, la invención proporciona un compuesto de fórmula (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



III

en el que,

- 20 R¹ es



R² es un alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

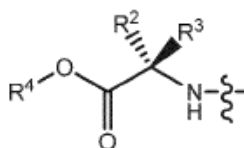
5 R³ es H o alquilo C₁-C₄

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

10 R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄; un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es



15 R² es un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

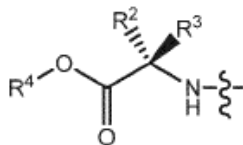
R³ es H o alquilo C₁-C₄;

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

20 R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇, un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O.

En otra realización de la invención, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

25 R¹ es

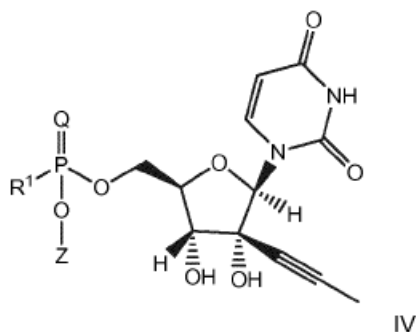


R² es un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con halógeno;

R³ es H;

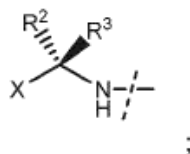
30 R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇, un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O.

En otra realización, la presente divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula IV o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5 en la que,

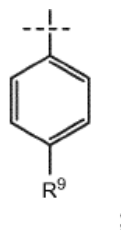
R¹ es



X es R^{4a}-C(O)-O-CH₂ o R⁴-O-C(O)-;

Q es O o S;

10 Z es hidrógeno o



R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

15 R³ es H o alquilo C₁-C₄; o

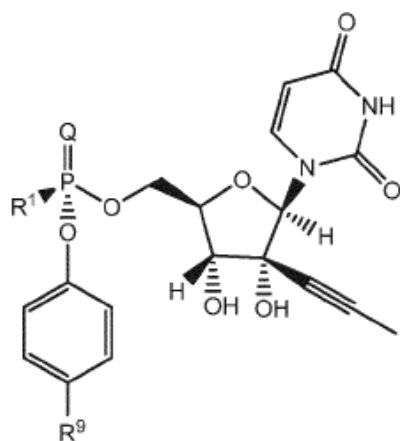
R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

20 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno, -CH₂OC(O)alquilo C₁-C₄ o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄;

R^{4a} es fenilo opcionalmente sustituido con halógeno, haloalcoxi C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄, haloalquilo C₁-C₄ o alquilo C₁-C₄;

R⁹ es hidrógeno o halógeno.

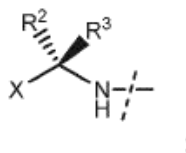
25 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula IVa o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



IVa

en la que,

R¹ es



5 X es R⁴-O-C(O)-;

Q es O;

R² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₆, haloalquilo C₁-C₆, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

10 R³ es H o alquilo C₁-C₄; o

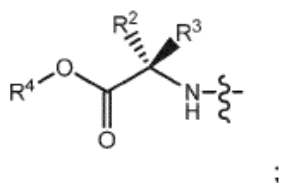
R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

15 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno, -CH₂OC(O)alquilo C₁-C₄ o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ y heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O, en el que dicho heterociclo es opcionalmente sustituido con uno o más halógeno, o alquilo C₁-C₄;

R⁹ es hidrógeno o halógeno.

20 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R¹ es



R² es un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

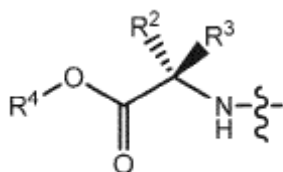
25 R³ es H o alquilo C₁-C₄;

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

R⁴ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O.

- 5 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es



;

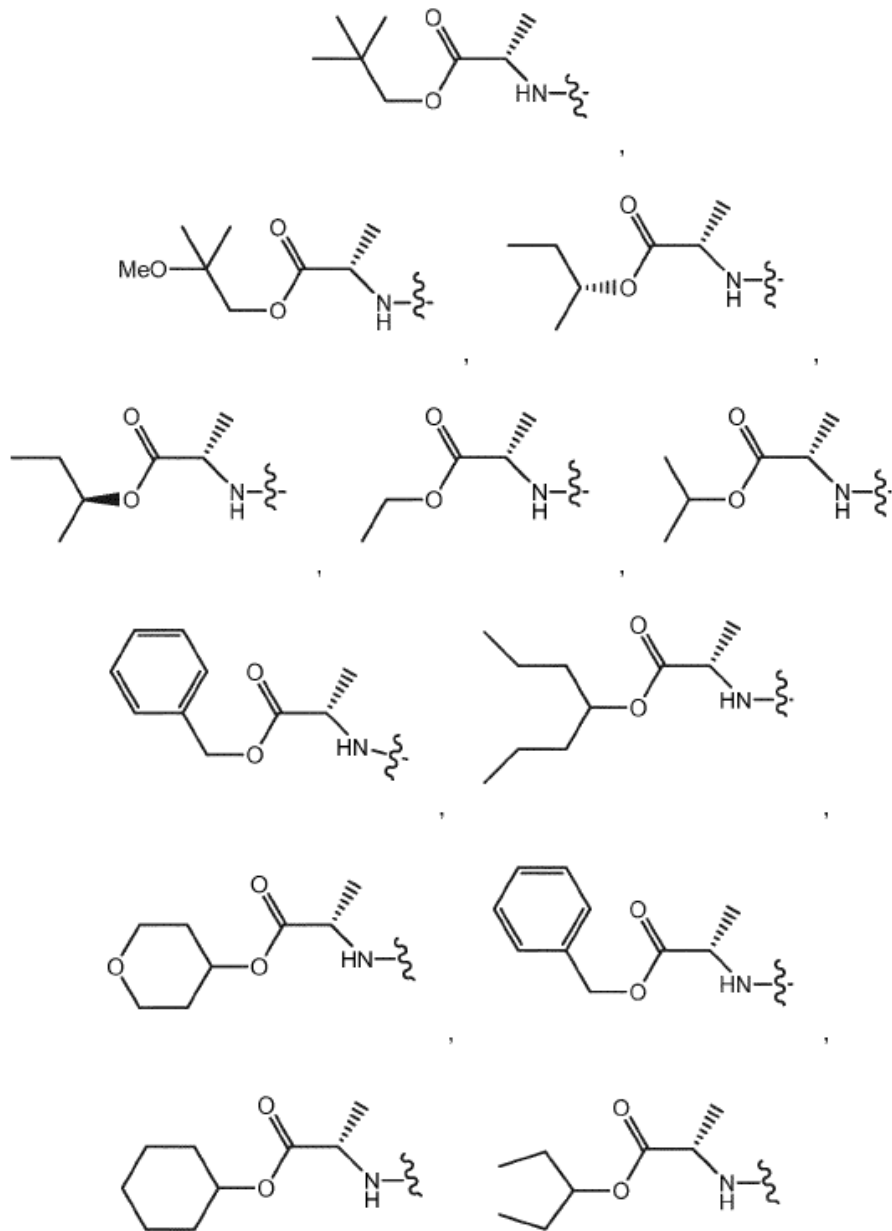
R² es un alquilo C₁-C₄ opcionalmente sustituido con halógeno;

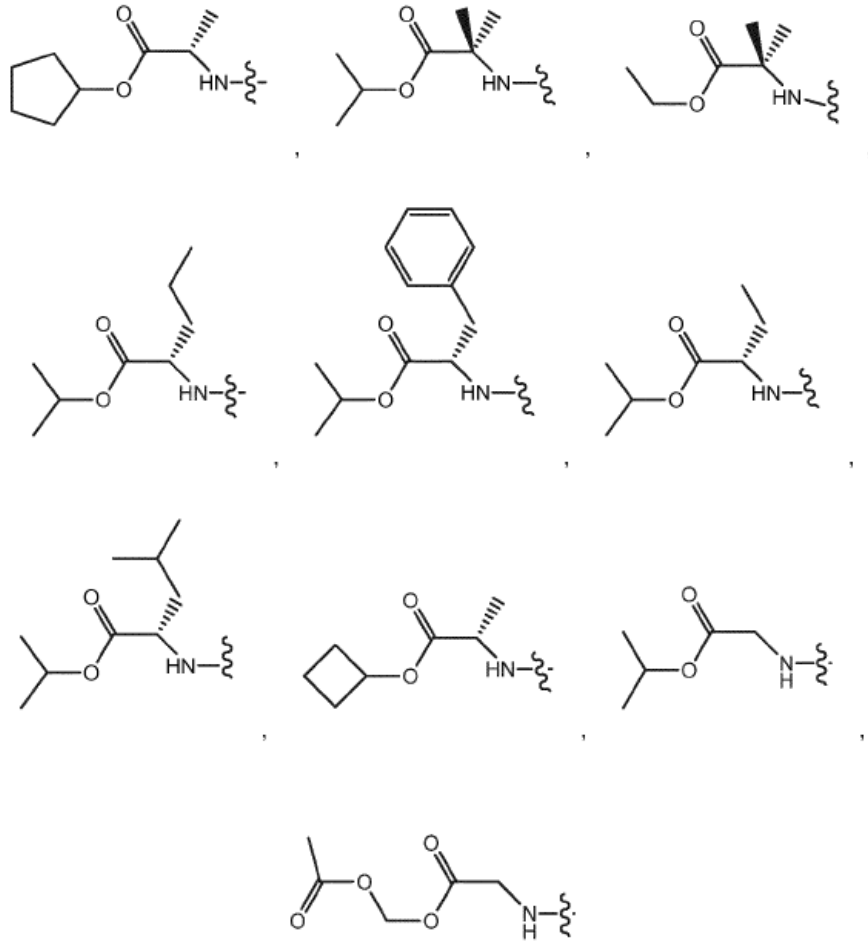
- 10 R³ es H;

R⁴ es alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇, un alquilo C₁-C₄-fenilo en el que el fenilo es opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S, y O.

- 15 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (I), (II), (III), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que

R¹ se selecciona del grupo que consiste en

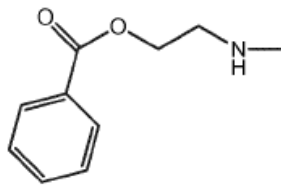




y

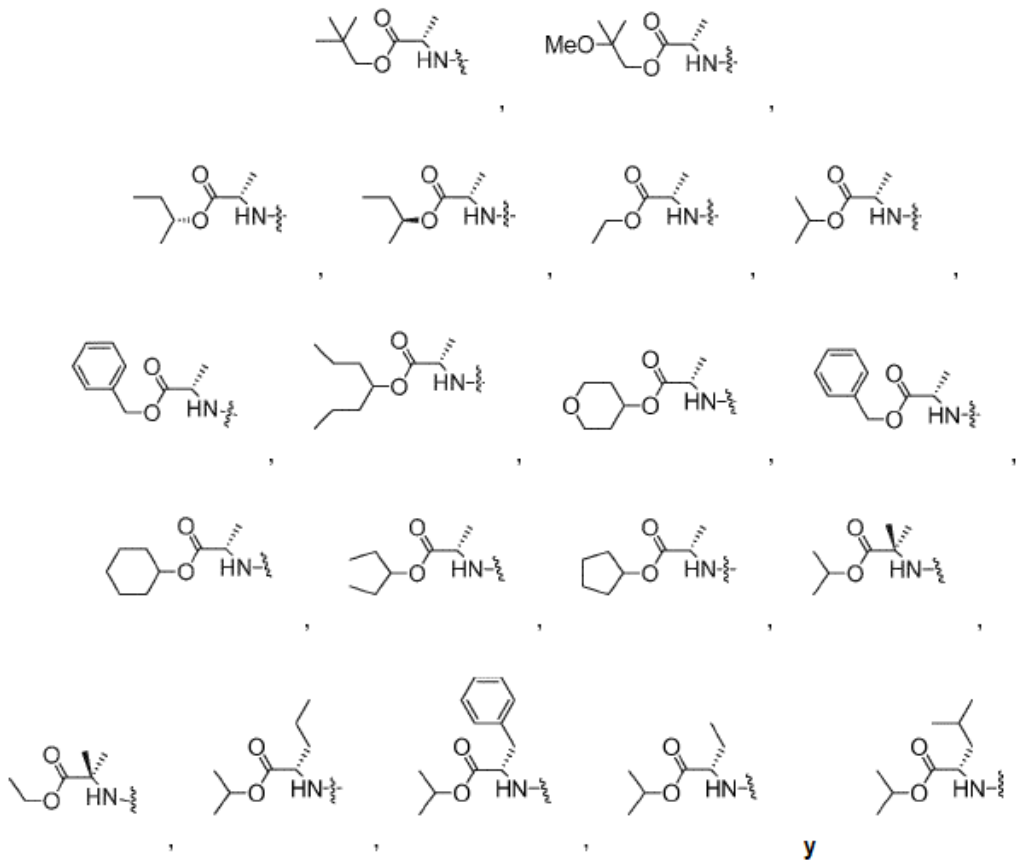
5 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia o cuando se indique como parte de la invención, proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (I) (como parte de la invención), (II) (como parte de la invención), (III) (como parte de la invención), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es



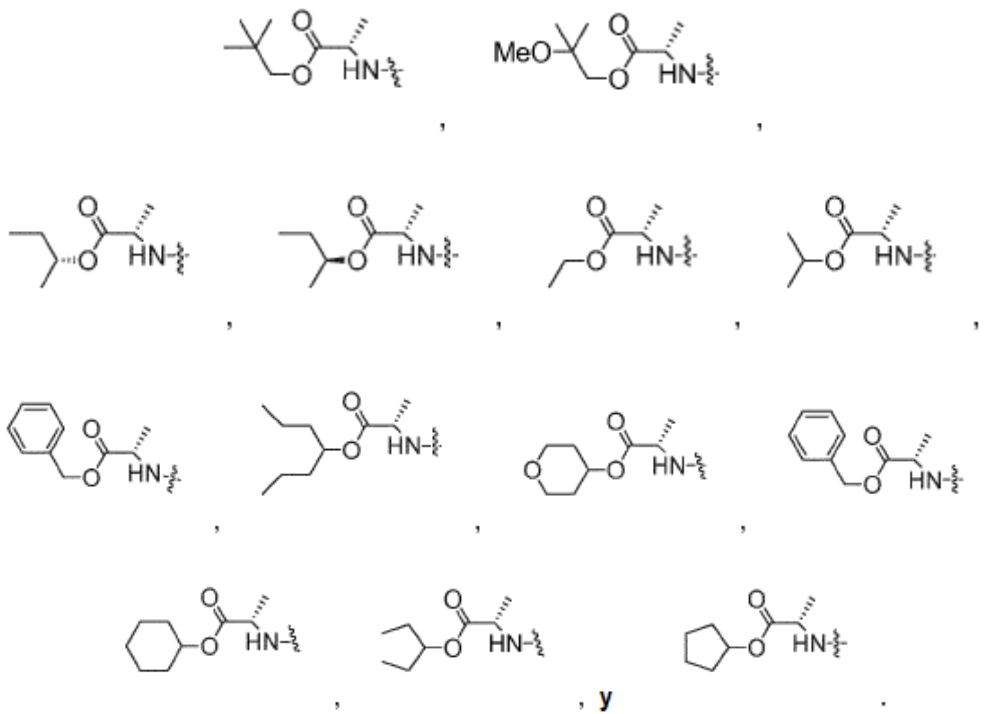
10 En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en



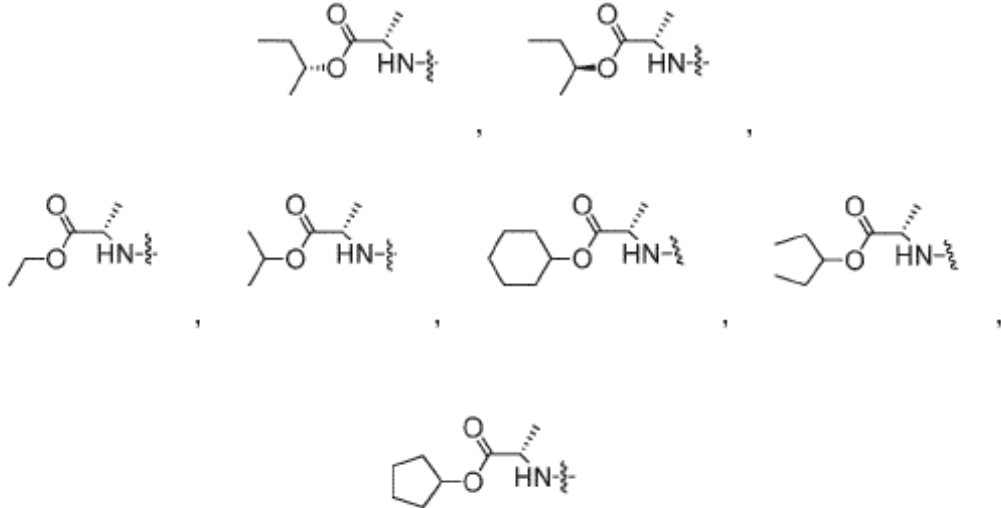
En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en



En otra realización, la divulgación, para fines de referencia o cuando se indique como parte de la invención, proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (I) (como parte de la invención), (II) (como parte de la invención), (III) (como parte de la invención), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

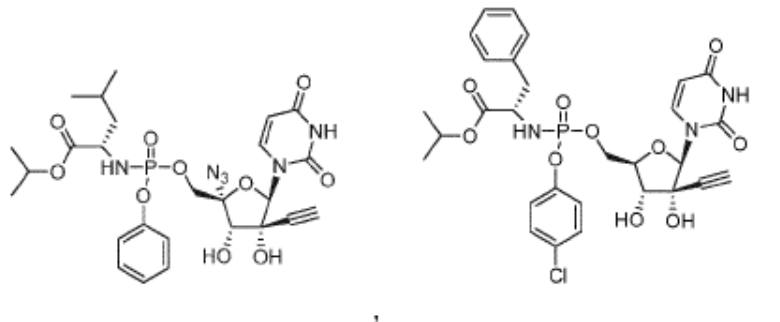
R¹ se selecciona del grupo que consiste en

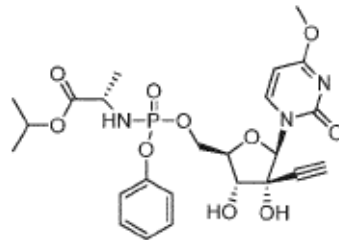
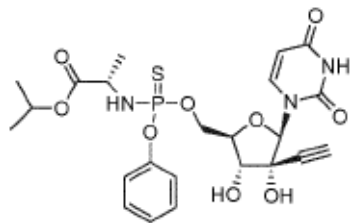
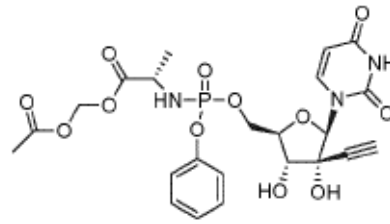
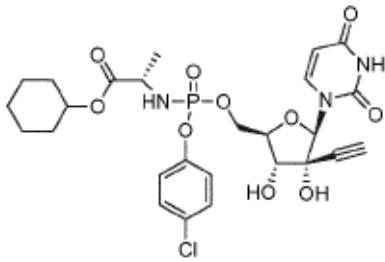
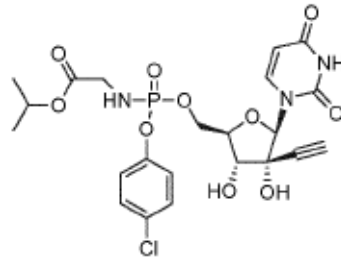
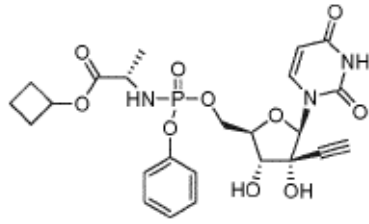
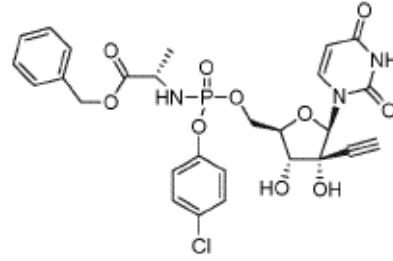
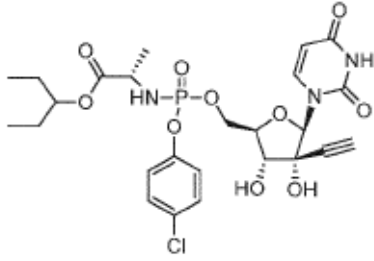
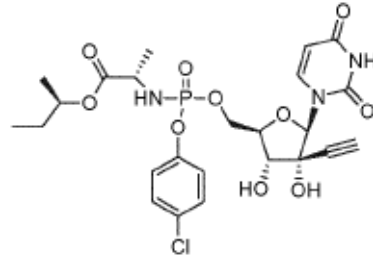
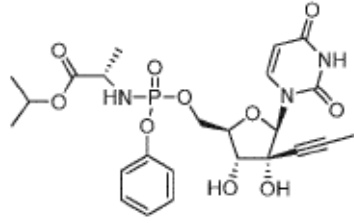


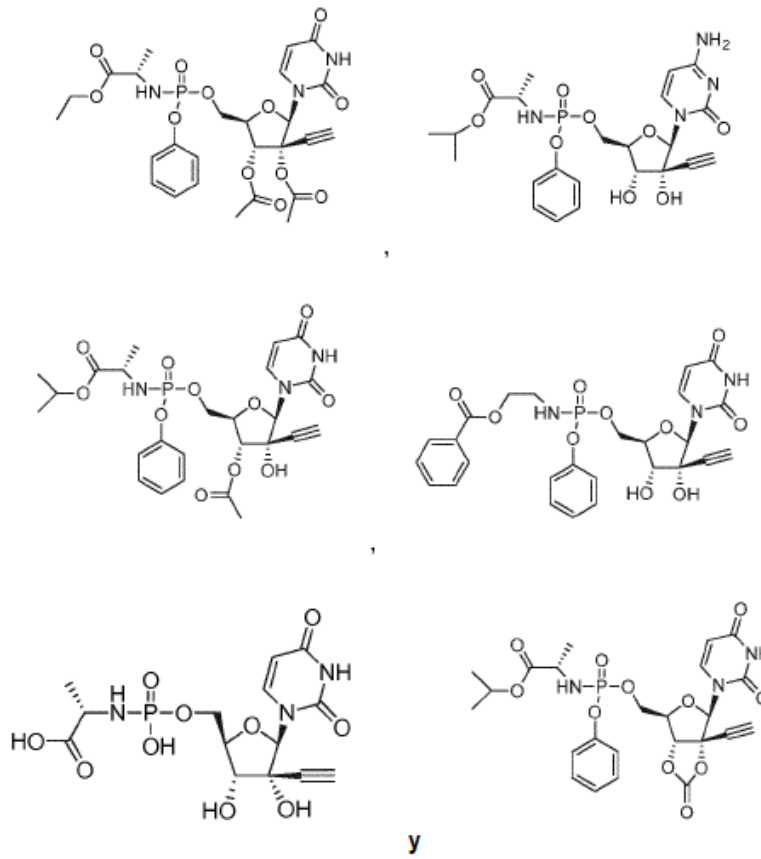
En otra realización, la invención proporciona un compuesto de fórmula (A), (B), (I), (II), (III), (IV) o (IVa) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto forma un cocristal con un formador de cocristal apropiado, tal como L-prolina.

10

En otra realización, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que se selecciona del grupo que consiste en:

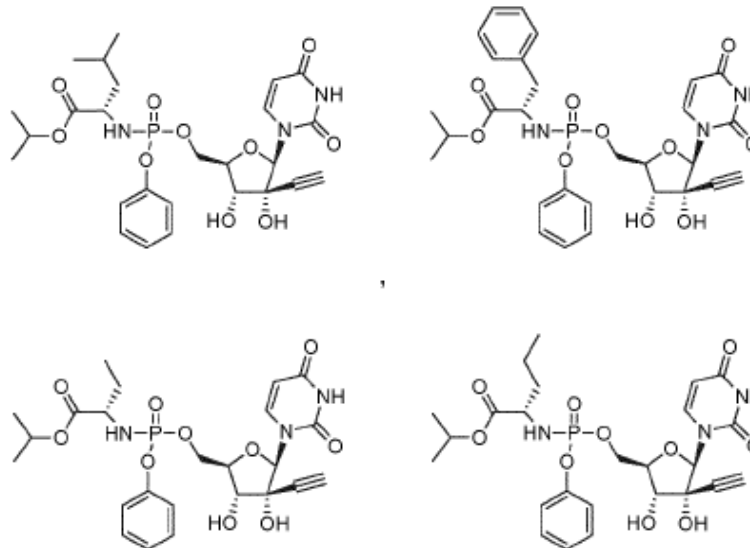


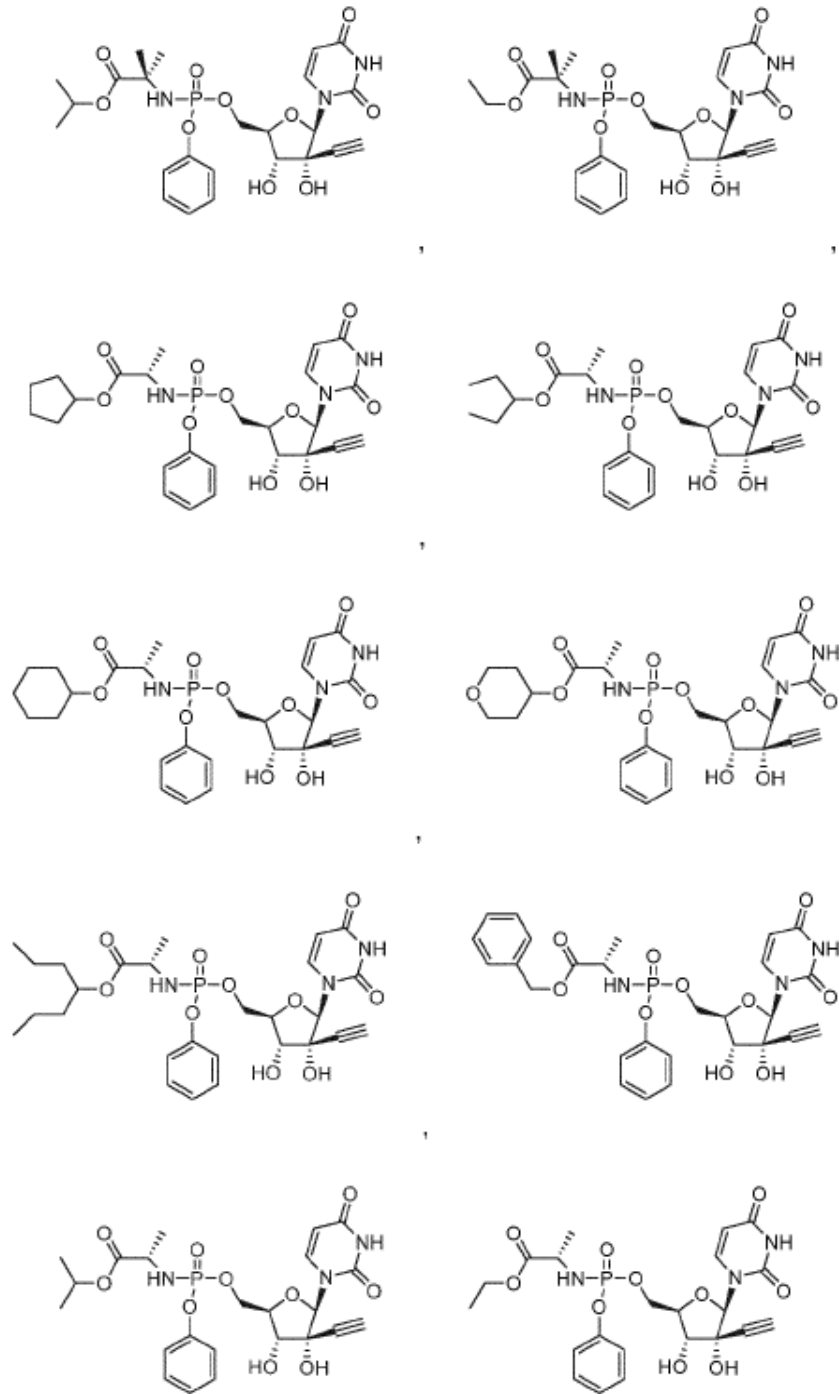


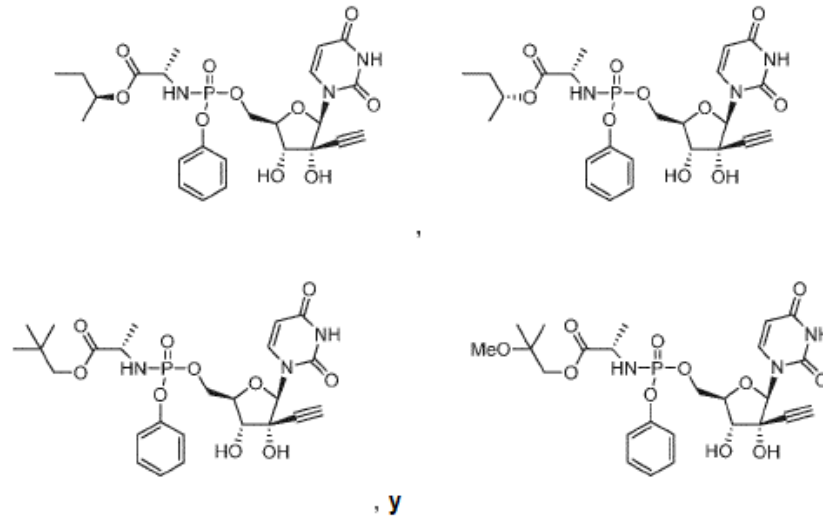


y

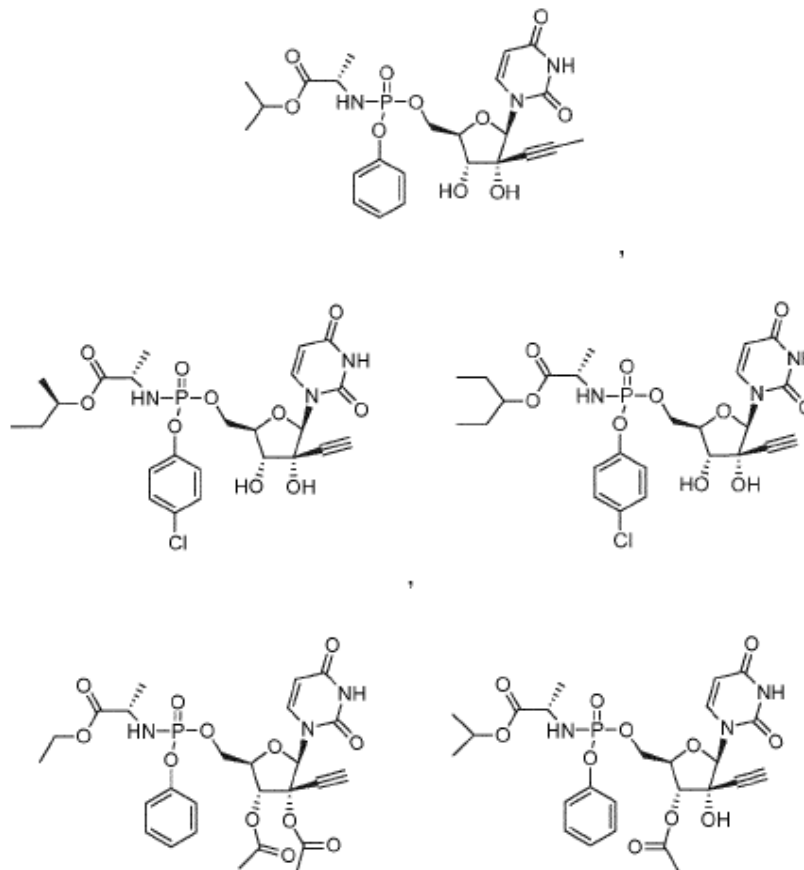
En otra realización, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que se selecciona del grupo que consiste en:

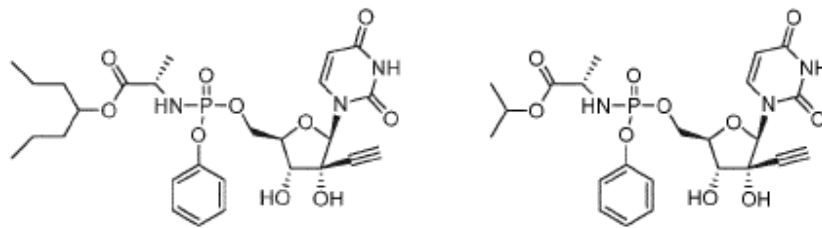
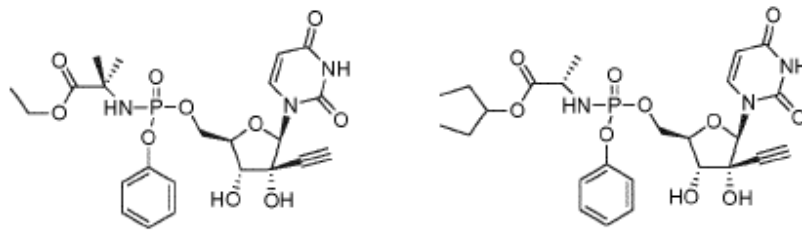
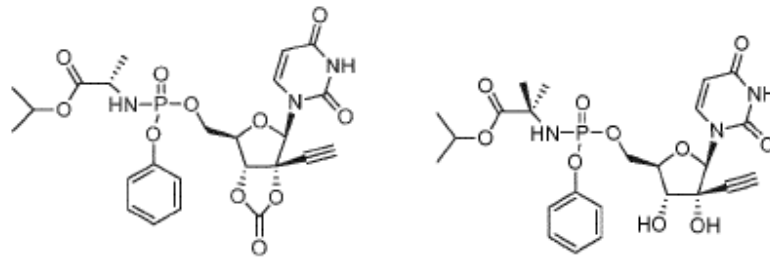




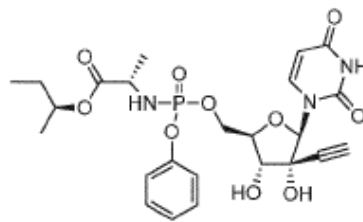


En otra realización, la invención proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que se selecciona del grupo que consiste en:

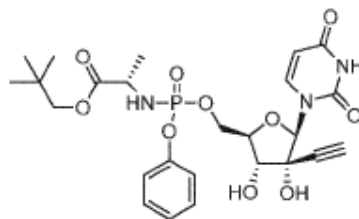




y



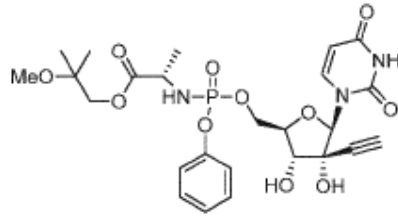
En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



5

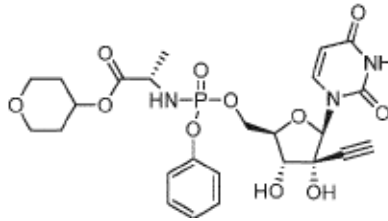
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



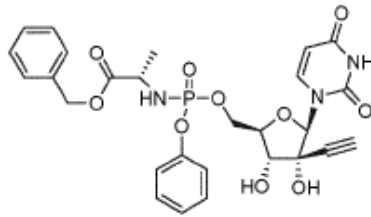
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



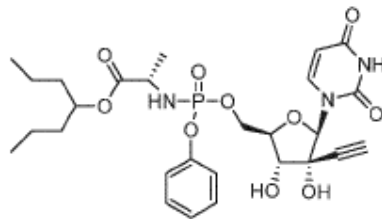
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

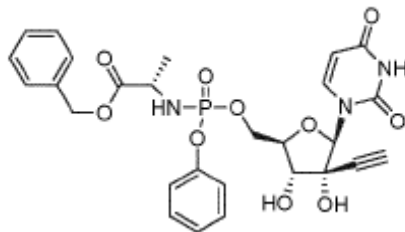
En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



10

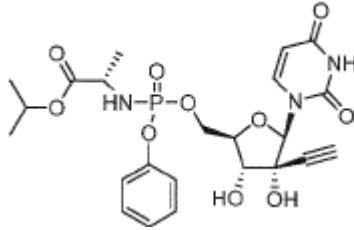
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



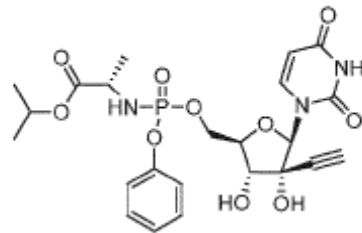
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

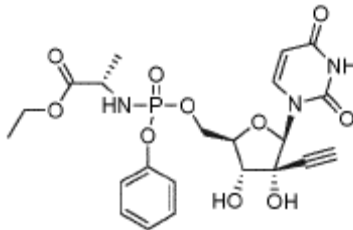
En otra realización, la invención proporciona una composición de cocristal farmacéutica que comprende un compuesto representado por



5

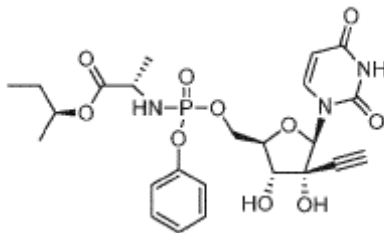
y formador de cocristal L-prolina.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



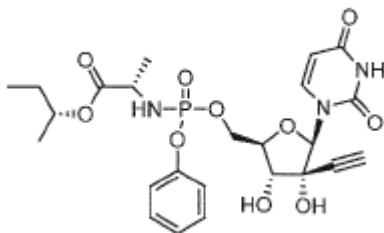
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



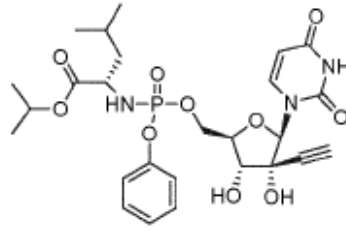
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



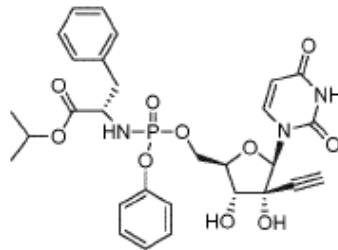
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



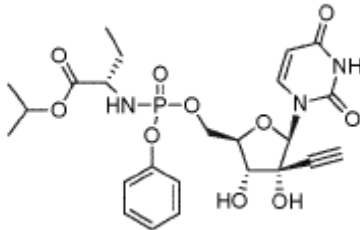
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



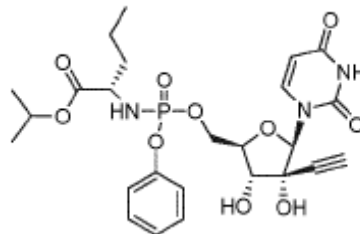
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



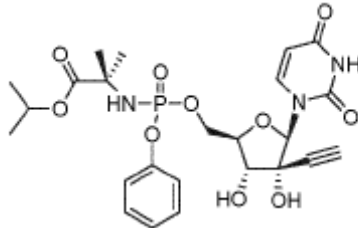
10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



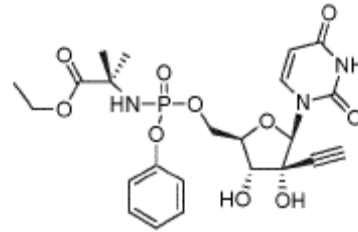
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



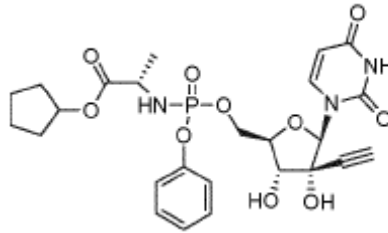
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



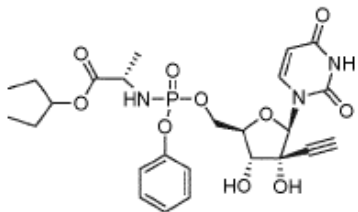
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

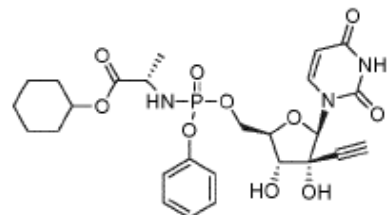
En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



10

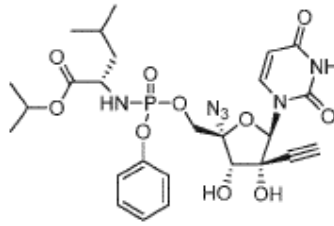
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



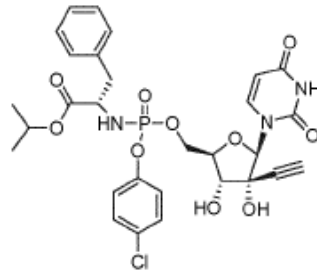
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



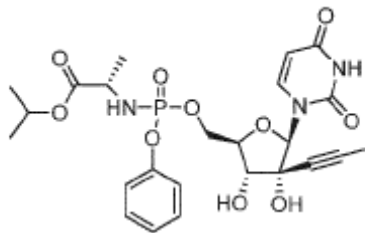
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



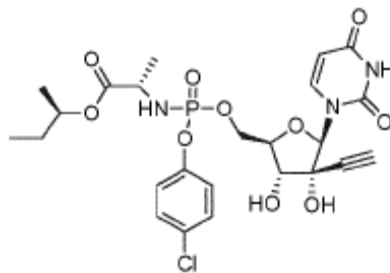
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación para fines de referencia proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

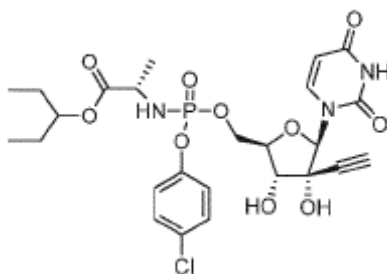
En otra realización, la divulgación para fines de referencia proporciona un compuesto representado por



10

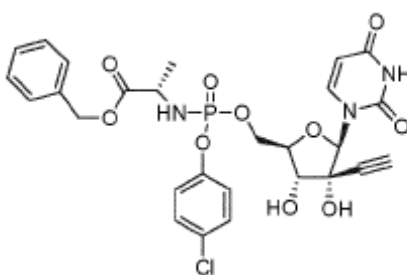
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación para fines de referencia proporciona un compuesto representado por



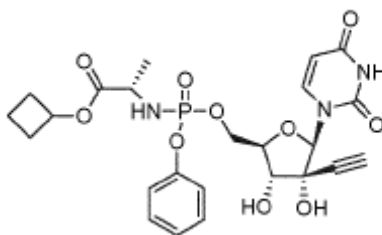
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación para fines de referencia proporciona un compuesto representado por



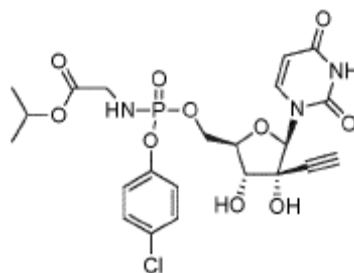
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación para fines de referencia proporciona un compuesto representado por,



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

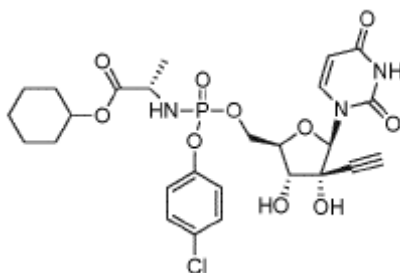
En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



10

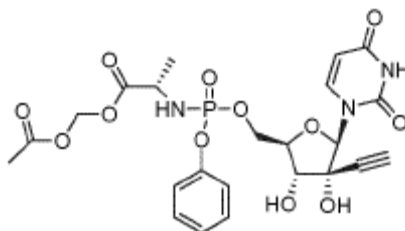
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



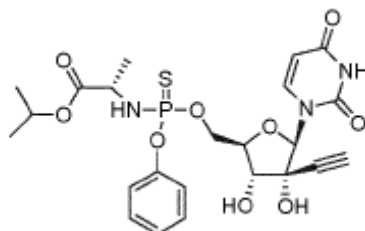
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto representado por



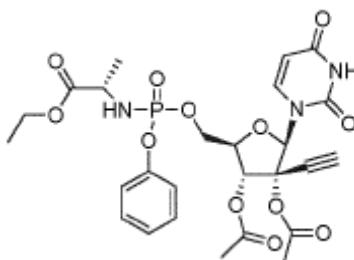
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

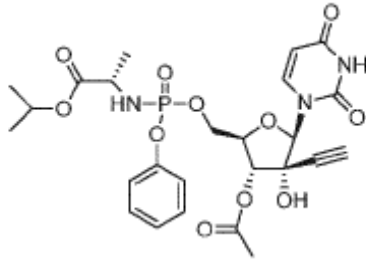
En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



10

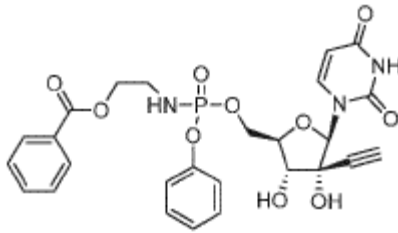
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



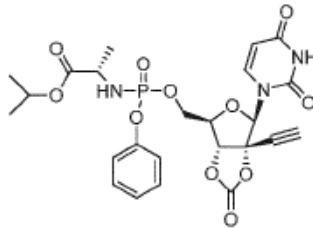
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



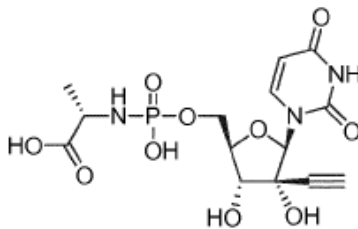
5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

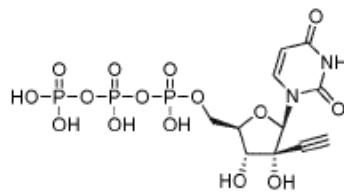
En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



10

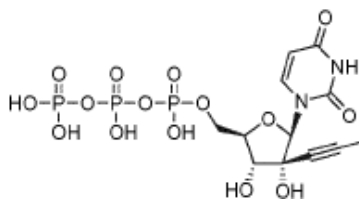
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable.

15 En otra realización, la divulgación, para fines de referencia, proporciona un compuesto representado por



o una sal farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la invención proporciona compuestos individuales representados por los enumerados en la sección de ejemplos a continuación.

- 5 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se definió anteriormente y en las reivindicaciones, en asociación con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, diluyente y/o portador apropiado, por ejemplo, incluyendo cargas, aglutinantes, disgregantes, acondicionadores de flujo, lubricantes, azúcares o edulcorantes, fragancias, conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o soluciones reguladoras.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se definió anteriormente y en las reivindicaciones para uso como medicamento.

En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) para la fabricación de un medicamento.

- 15 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) para la fabricación de un medicamento, por ejemplo, una composición farmacéutica, para el tratamiento y/o prevención de una infección viral.

En otro aspecto, la presente divulgación, para fines de referencia, proporciona el uso de un compuesto de fórmula (A), (B), (I), (II), (III), (IV) o (IVa) como un producto farmacéutico, por ejemplo para el tratamiento y/o prevención de una infección viral.

- 20 En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) y en las reivindicaciones como se definen anteriormente para uso en el tratamiento y/o prevención de una infección viral.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se define anteriormente en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por una infección viral.

- 25 En otro aspecto, la presente divulgación, para fines de referencia, proporciona un método de tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por una infección viral, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (A), (B), (I), (II), (III), (IV) o (IVa) como se definió anteriormente.

- 30 En otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por una infección viral, que comprende un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se define anteriormente y en las reclamaciones.

La infección viral es, por ejemplo, causada por un virus de la familia *Flaviviridae*, tal como virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de la fiebre hemorrágica Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika, virus Gadgets Gully, virus de la enfermedad Kyasanur Forest, virus Langat, virus Louping ill, virus Powassan, virus Royal Farm, virus Karshi, virus Kadam, virus Meaban, virus Saumarez Reef, virus Tyuleny, virus Aroa, virus Bussuquara, virus Iguape, virus Naranjal, virus Kedougou, virus Cacipacore, virus Koutango, virus Alfuy, virus Usutu, virus Yaounde, virus Kokobera, virus Stratford, virus Bagaza, virus Ilheus, virus Rocio, Virus de meningoencefalomielitis de pavo israelí, virus Ntaya, virus Tembusu, virus Sponweni, virus Banzi, virus Bouboui, virus Edge Hill, virus Jugra, virus Potiskum, virus Saboya, virus Sepik, virus Uganda, virus Wesselsbron, virus Entebbe bat, virus Sokoluk, virus Yokose, virus Apoi, virus Cowbone Ridge, virus Jutiapa, virus modoc, virus Sal Vieja, virus San Perlita, virus Bukalasa bat, virus Carey Island, virus Dakar bat, virus de la leucoencefalitis myotitis de Montana, virus Batu Cave, virus Phnom Penh bat, virus Rio Bravo, virus de agente de fusión celular, virus Tamana bat y virus de la hepatitis C, especialmente virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y virus de la hepatitis C.

45

En otro aspecto más, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por un virus del dengue, que comprende un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se definió anteriormente y en las reivindicaciones.

- 5 En otro aspecto más, la invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por un virus de la hepatitis C, que comprende un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) como se definió anteriormente y en las reivindicaciones.

En otro aspecto, la invención proporciona una combinación de un compuesto de fórmula (I), (II) o (III) con al menos una segunda sustancia farmacológica.

En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, que comprende:

- 10 una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto según una cualquiera de las realizaciones anteriores de fórmulas (I) a (III) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

- 15 uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de interferones, ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV, inhibidores de NS5b de nucleósidos y no nucleósidos, antagonistas de NS4a de HCV, agonistas de TLR-7, inhibidores de IRES de HCV, potenciadores farmacocinéticos, agentes antifibróticos o mezclas de los mismos.

En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de interferones, ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV, inhibidores de NS5b nucleósidos y no nucleósidos, o mezclas de los mismos

- 20 En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV, inhibidores de NS5b nucleósidos y no nucleósidos o mezclas de los mismos.

- 25 En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV o mezclas de los mismos.

En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, o mezclas de los mismos.

- 30 En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de NS5a de HCV o mezclas de los mismos.

- 35 En otra realización, una composición de combinación farmacéutica, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV o mezclas de los mismos.

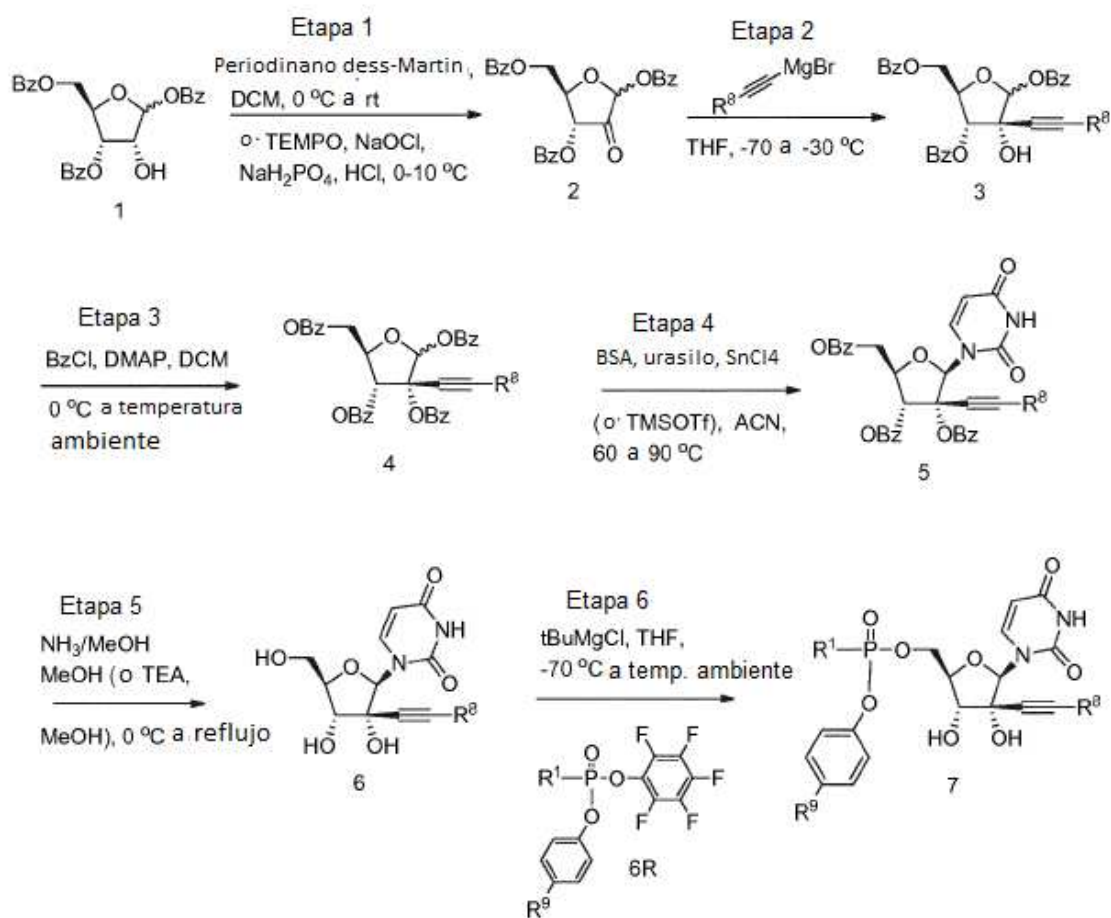
En los métodos anteriores para usar los compuestos de la invención, si no se menciona que se divulguen con fines de referencia solamente, un compuesto de fórmula (A) (para fines de referencia únicamente), (I), (II), (III), (IV) (solo para fines de referencia) o (IVa) (solo con fines de referencia) se pueden administrar a un sistema que comprende células o tejidos. En otras realizaciones, un compuesto de fórmula (A) (para fines de referencia únicamente), (I), (II), (III), (IV) (solo para fines de referencia) o (IVa) (solo para fines de referencia) puede ser administrado a un sujeto humano o animal.

40 Descripción detallada

Los compuestos de los definidos anteriormente se pueden sintetizar por la ruta de síntesis general a continuación, ejemplos específicos de los cuales se describen con más detalle en los ejemplos.

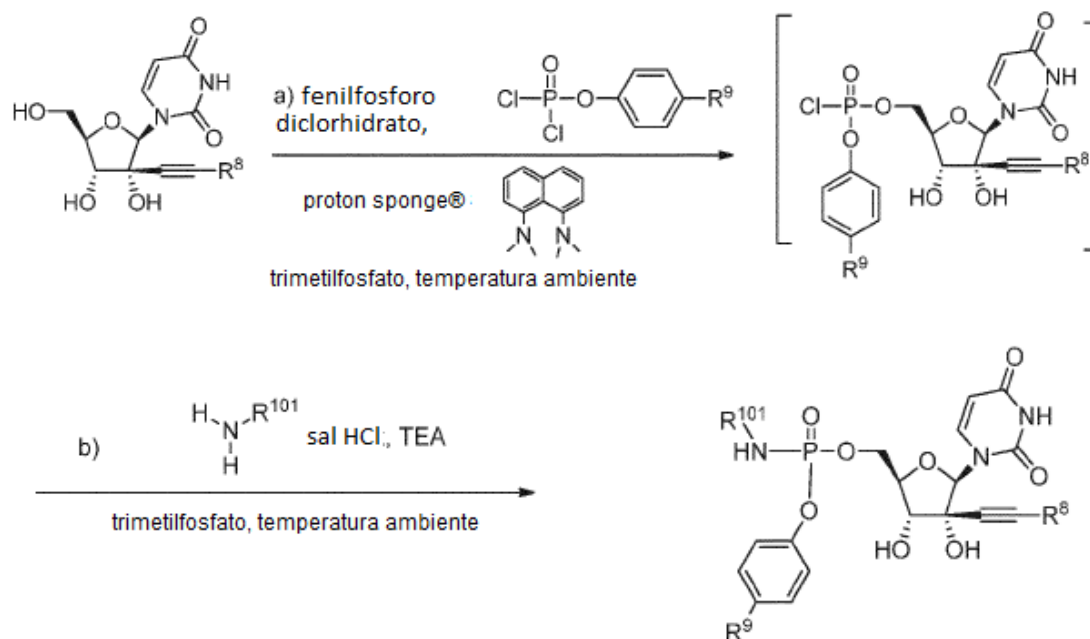
- 45 Esquema de síntesis general

Esquema 1: Síntesis general (solo para fines de referencia)



El esquema 1 representa la síntesis del compuesto 7 como diastereómeros. El compuesto 7 se puede hacer sustancialmente ópticamente puro usando ya sea material de partida 6R sustancialmente ópticamente puro o mediante cromatografía de separación. R¹, R⁸ y R⁹ son como se definen en este documento.

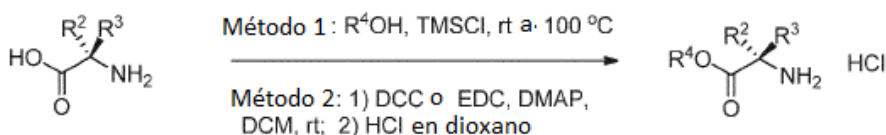
Esquema 2: síntesis de profármaco (solo para fines de referencia)



El esquema 2 representa la síntesis de nucleósido y profármaco como diastereómeros. El compuesto se puede hacer sustancialmente ópticamente puro por separación cromatográfica. R^8 y R^9 se definen en este documento. R^{101} representa la porción del compuesto descrito en este documento como el sustituyente R^1 mientras que el nitrógeno es parte de R^1 .

5

Esquema 3: síntesis general de sales clorhidrato del éster del aminoácido (solo con fines de referencia).



El esquema 3 representa métodos de síntesis generales para preparar la sal de clorhidrato del éster del aminoácido. R^2 , R^3 y R^4 se definen en este documento.

Los compuestos de la invención, y particularmente como se ejemplifican, en forma de sal de adición libre o farmacéuticamente aceptable, presentan actividad farmacológica y son útiles como productos farmacéuticos, particularmente para el tratamiento y/o prevención de infecciones virales tales como las causadas por miembros de la familia *Flaviviridae*. Los compuestos son particularmente útiles para el tratamiento y/o prevención de infecciones tales como las causadas por virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de la fiebre hemorrágica Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y virus de la hepatitis C, y otros virus *Flaviviridae* como se describe en este documento.

15

La presente divulgación, para fines de referencia, incluye además cualquier variante de los presentes procedimientos, en los que un producto intermedio obtenible en cualquier etapa del mismo se usa como material de partida y se llevan a cabo las etapas restantes, o en el que los materiales de partida se forman in situ bajo las condiciones de reacción, o en el que los componentes de la reacción se usan en forma de sus sales o material ópticamente puro.

20

Los compuestos de la presente invención y los intermedios también se pueden convertir entre sí según los métodos generalmente conocidos para los expertos en el arte.

- Dentro del alcance de este texto, solo un grupo fácilmente eliminable que no es un constituyente del producto final deseado particular de los compuestos de la presente invención se designa como "grupo protector", a menos que el contexto indique lo contrario. La protección de grupos funcionales por tales grupos protectores, los propios grupos protectores, y sus reacciones de escisión se describen, por ejemplo, en obras de referencia estándar, tales como J. F. W. McOmie, "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, en T. W. Greene and P. G. M. Wuts, "Protective Groups in Organic Síntesis", Third edition, Wiley, New York 1999, in "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, in "Methoden der organischen Chemie" (Methods of Organic Chemistry), Houben Weyl, 4th edition, Volume 15/1, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, in H.-D. Jakubke and H. Jeschkeit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine" (Amino acids, Peptides, Proteins), Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, and Basel 1982, y en Jochen Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide und Derivate" (Chemistry of Carbohydrates: Monosaccharides and Derivatives), Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Una característica de los grupos protectores es que se pueden eliminar fácilmente (esto es, sin la aparición de reacciones secundarias indeseadas) por ejemplo mediante solvólisis, reducción, fotólisis o, alternativamente, en condiciones fisiológicas (por ejemplo, por escisión enzimática).
- Las sales de los compuestos de la presente invención que tienen al menos un grupo formador de sal se pueden preparar de una manera conocida para los expertos en el arte. Por ejemplo, las sales de compuestos de la presente invención que tienen grupos ácidos se pueden formar, por ejemplo, tratando los compuestos con compuestos metálicos, tales como sales de metales alcalinos de ácidos carboxílicos orgánicos apropiados, por ejemplo, la sal de sodio del ácido 2-etilhexanoico, con compuestos orgánicos de metal alcalino o alcalinotérreo, tales como los correspondientes hidróxidos, carbonatos o hidrogenocarbonatos, tales como hidróxido de sodio o potasio, carbonato o hidrogenocarbonato, con los correspondientes compuestos de calcio o con amoníaco o se usa preferiblemente una amina orgánica apropiada, cantidades estequiométricas o solo un pequeño exceso del agente formador de sal. Las sales de adición de ácido de los compuestos de la presente invención se obtienen de manera habitual, por ejemplo, tratando los compuestos con un ácido o un reactivo de intercambio aniónico apropiado. Las sales internas de los compuestos de la presente invención que contienen grupos formadores de sales ácidos y básicos, por ejemplo, un grupo carboxi libre y un grupo amino libre, pueden formarse, por ejemplo, mediante la neutralización de sales, tales como sales de adición de ácido, al punto isoeléctrico, por ejemplo, con bases débiles, o por tratamiento con intercambiadores de iones.
- Las sales se pueden convertir en los compuestos libres según los métodos conocidos para los expertos en el arte. Las sales metálicas y amónicas se pueden convertir, por ejemplo, mediante tratamiento con ácidos apropiados y sales de adición de ácidos, por ejemplo, mediante tratamiento con un agente básico apropiado.
- Las mezclas de isómeros obtenibles según la invención se pueden separar de manera conocida para los expertos en el arte en los isómeros individuales; los diastereoisómeros se pueden separar, por ejemplo, mediante la partición entre mezclas de solventes polifásicos, la recristalización y/o la separación cromatográfica, por ejemplo sobre gel de sílice o mediante, por ejemplo, cromatografía líquida a media presión sobre una columna de fase reversa, y los racematos se pueden separar, por ejemplo, mediante la formación de sales con reactivos formadores de sal ópticamente puros y la separación de la mezcla de diastereoisómeros así obtenibles, por ejemplo mediante cristalización fraccionada, o mediante cromatografía sobre materiales de columna ópticamente activos.
- Los productos intermedios y finales se pueden tratar y/o purificar según métodos estándar, por ejemplo, usando métodos cromatográficos, métodos de distribución, (re)cristalización y similares.
- Lo siguiente se aplica en general a todos los procedimientos mencionados en este documento antes y en lo sucesivo.
- Todas las etapas del procedimiento mencionadas anteriormente se pueden llevar a cabo en condiciones de reacción que son conocidas para los expertos en el arte, incluidas las mencionadas específicamente, en ausencia o, habitualmente, en presencia de solventes o diluyentes, incluyendo, por ejemplo, solventes o diluyentes que son inertes frente a los reactivos usados y los disuelven, en ausencia o presencia de catalizadores, agentes de condensación o neutralizantes, por ejemplo intercambiadores de iones, tales como intercambiadores de cationes, por ejemplo, en la forma H^+ , dependiendo de la naturaleza de la reacción y/o de los reactivos a temperatura reducida, normal o elevada, por ejemplo en un intervalo de temperatura desde aproximadamente $-100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a aproximadamente $190\text{ }^{\circ}\text{C}$, que incluye, por ejemplo, desde aproximadamente $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a aproximadamente $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, por ejemplo desde -80 a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, a temperatura ambiente, desde $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ o a temperatura de reflujo, a presión atmosférica o en un recipiente cerrado, cuando sea apropiado bajo presión, y/o en una atmósfera inerte, por ejemplo bajo una atmósfera de argón o nitrógeno.
- En todas las etapas de las reacciones, las mezclas de isómeros que se forman se pueden separar en los isómeros individuales, por ejemplo diastereoisómeros o enantiómeros, o en cualquier mezcla deseada de isómeros, por ejemplo racematos o mezclas de diastereoisómeros, por ejemplo análogamente a los métodos descritos en "etapas adicionales del procedimiento".
- Los solventes a partir de los cuales se pueden seleccionar aquellos solventes que son apropiados para cualquier reacción particular incluyen los mencionados específicamente o, por ejemplo, agua, ésteres, tales como alquilo

inferior-alcanoatos inferiores, por ejemplo acetato de etilo, éteres, tales como éteres alifáticos, por ejemplo éter dietílico, o éteres cíclicos, por ejemplo tetrahidrofurano o dioxano, hidrocarburos aromáticos líquidos, tales como benceno o tolueno, alcoholes, tales como metanol, etanol o 1- o 2 propanol, nitrilos, tales como acetonitrilo, hidrocarburos halogenados, tales como cloruro de metileno o cloroformo, amidas de ácido, tales como dimetilformamida o dimetilacetamida, bases, tales como bases nitrogenadas heterocíclicas, por ejemplo piridina o N-metilpirrolidin-2-ona, anhídridos de ácido carboxílico, tales como anhídridos de ácido alcanoico inferior, por ejemplo anhídrido acético, hidrocarburos cíclicos, lineales o ramificados, tales como ciclohexano, hexano o isopentano, metilciclohexano, o mezclas de esos solventes, por ejemplo soluciones acuosas, a menos que se indique de otro modo en la descripción de los procedimientos. Tales mezclas de solventes también se pueden usar en el tratamiento, por ejemplo mediante cromatografía o partición.

Los compuestos de la presente invención, que incluyen sus sales, también se pueden obtener en forma de hidratos, o sus cristales pueden incluir, por ejemplo, el solvente usado para la cristalización. Diferentes formas cristalinas pueden estar presentes.

La invención se refiere también a aquellas formas del procedimiento en las que se usa un compuesto obtenible como intermedio en cualquier etapa del procedimiento como material de partida y se llevan a cabo las etapas restantes del procedimiento, o en las que se forma un material de partida bajo las condiciones de reacción o se usan en forma de un derivado, por ejemplo en una forma protegida o en forma de una sal, o un compuesto obtenible mediante el procedimiento según la invención se produce bajo las condiciones del procedimiento y se procesa adicionalmente in situ.

Todos los materiales de partida, bloques de construcción, reactivos, ácidos, bases, agentes deshidratantes, solventes y catalizadores usados para sintetizar los compuestos de la presente invención están ya sea comercialmente disponibles o se pueden producir mediante métodos de síntesis orgánica conocidos por un experto en el arte (Houben-Weyl 4th Ed. 1952, Methods of Organic Síntesis, Thieme, Volumen 21).

El término "un isómero óptico" o "un estereoisómero" se refiere a cualquiera de las diversas configuraciones estereoisoméricas que pueden existir para un compuesto dado de la presente invención e incluye isómeros geométricos. Se entiende que un sustituyente puede estar unido a un centro quiral de un átomo de carbono. El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponibilidad en su compañero de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles en su compañero de imagen especular. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros o racematos del compuesto. Los "enantiómeros" son un par de estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es una mezcla "racémica". El término se usa para designar una mezcla racémica cuando sea apropiado. Los "diastereoisómeros" son estereoisómeros que tienen al menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí. La estereoquímica absoluta se especifica según el sistema R-S Cahn-Ingold-Prelog. Cuando un compuesto es un enantiómero puro, la estereoquímica en cada carbono quiral puede ser especificada ya sea por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta es desconocida se pueden designar (+) o (-) dependiendo de la dirección (dextro o levógira) que rotan la luz polarizada plana a la longitud de onda de la línea D de sodio. Ciertos compuestos descritos en este documento contienen uno o más centros o ejes asimétricos y, de este modo, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisoméricas que se pueden definir, en términos de estereoquímica absoluta, como (R) - o (S) -.

Dependiendo de la elección de los materiales de partida y procedimientos, los compuestos pueden estar presentes en la forma de uno de los posibles isómeros o mezclas de los mismos, a saber como isómeros ópticos puros, o como mezclas de isómeros, tales como racematos y mezclas de diastereoisómeros, dependiendo del número de átomos de carbono asimétricos. La presente invención pretende incluir todos estos posibles estereoisómeros, que incluyen mezclas racémicas, mezclas diastereoisoméricas y formas ópticamente puras. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos se pueden preparar usando tintones quirales o reactivos quirales, o se pueden resolver usando técnicas convencionales. Si el compuesto contiene un doble enlace, el sustituyente puede ser una configuración E o Z. Si el compuesto contiene un cicloalquilo disustituido, el sustituyente cicloalquilo puede tener una configuración cis o trans. Todas las formas tautoméricas también están destinadas a ser incluidas.

Cualquier mezcla de isómeros resultante se puede separar sobre la base de las diferencias fisicoquímicas de los constituyentes, en los isómeros geométricos u ópticos puros o sustancialmente puros, diastereómeros, racematos, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada.

Cualquier racemato resultante de productos finales o intermedios se puede resolver en las antípodas ópticas mediante métodos conocidos, por ejemplo, mediante separación de las sales diastereoisoméricas de los mismos, obtenidas con un ácido o base ópticamente activo, y liberando el compuesto ácido o básico ópticamente activo. En particular, se puede emplear una unidad estructural básica para resolver los compuestos de la presente invención en sus antípodas ópticas, por ejemplo, mediante cristalización fraccionada de una sal formada con un ácido ópticamente activo, por ejemplo, ácido tartárico, ácido dibenzoil tartárico, ácido diacetil tartárico, ácido di-O, O'-p-toluoil tartárico, ácido mandélico, ácido málico o ácido alcanfor-10-sulfónico. Los productos racémicos también se pueden resolver mediante cromatografía quiral, por ejemplo, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) usando un adsorbente quiral.

- Además, los compuestos de la presente invención, que incluyen sus sales, también se pueden obtener, como divulgación, solo para fines de referencia, en forma de sus hidratos, o incluir otros solventes usados para su cristalización. Los compuestos de la presente invención pueden inherentemente o por diseño formar solvatos con solventes farmacéuticamente aceptables (que incluyen agua); por lo tanto, se pretende que la invención abarque tanto formas solvatadas como no solvatadas. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto de la presente invención (que incluye sus sales farmacéuticamente aceptables) con una o más moléculas de solvente. Dichas moléculas de solvente son las comúnmente usadas en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de solvente es agua.
- Los compuestos de la presente invención, que incluyen sales, o con fines de referencia solo hidratos y solvatos de los mismos, pueden inherentemente o por diseño formar polimorfos.
- Como se usa en este documento, los términos "sal" o "sales" se refieren a una sal de adición de ácido o de adición de base de un compuesto de la presente invención. Las "sales" incluyen en particular "sales farmacéuticamente aceptables". El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la efectividad y las propiedades biológicas de los compuestos de esta invención y que por lo general no son biológicamente o de otro modo indeseables. En muchos casos, los compuestos de la presente invención son capaces de formar sales ácidas y/o básicas en virtud de la presencia de grupos amino o carboxilo o grupos similares a los mismos.
- Se pueden formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos, por ejemplo, sales de acetato, aspartato, benzoato, besilato, bromuro/bromhidrato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, canforsulfonato, cloruro/clorhidrato, clorteofilonato, citrato, etandisulfonato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hipurato, hidroyoduro/yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurilsulfato, malato, maleato, malonato, mandelato, mesilato, metilsulfato, naftoato, napsilato, nicotinato, nitrato, octadecanoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, fosfato/hidrogenofosfato/dihidrogenofosfato, poligalacturonato, propionato, estearato, succinato, sulfosalicilato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.
- Los ácidos inorgánicos de los que se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares.
- Los ácidos orgánicos de los que se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido mandélico ácido, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido sulfosalicílico y similares. Las sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas.
- Las bases inorgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, sales de amonio y metales de las columnas I a XII de la tabla periódica. En ciertas realizaciones, las sales se derivan de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, plata, zinc y cobre; las sales particularmente apropiadas incluyen sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio.
- Las bases orgánicas a partir de las cuales se pueden derivar sales incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas de intercambio iónico básicas y similares. Algunas aminas orgánicas incluyen isopropilamina, benzatina, colinato, dietanolamina, dietilamina, lisina, meglumina, piperazina y trometamina.
- Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir de una unidad estructural básica o ácida, mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base apropiada (tales como hidróxido de Na, Ca, Mg o K, carbonato, bicarbonato o similar), o haciendo reaccionar formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones se llevan a cabo por lo general en agua o en un solvente orgánico, o en una mezcla de los dos. Generalmente, el uso de medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetónitrilo es deseable, cuando sea posible. Se pueden encontrar listas de sales apropiadas adicionales, por ejemplo, en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); y en "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).
- Cualquier fórmula dada en este documento también pretende representar formas no marcadas así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos de la presente invención. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en este documento excepto que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa seleccionado. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I respectivamente. La invención incluye diversos compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que isótopos radiactivos, tales como ^3H y ^{14}C , o aquellos en los que están presentes isótopos no radioactivos, tales como ^2H y ^{13}C . Tales compuestos marcados isotópicamente son útiles en estudios metabólicos (con ^{14}C),

estudios cinéticos de reacción (con, por ejemplo, ^2H o ^3H), detección o técnicas de imágenes, tales como tomografía por emisión de positrones (PET) o tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) incluyendo ensayos de distribución de tejido de sustrato o fármaco, o en el tratamiento radiactivo de sujetos. En particular, un compuesto marcado con ^{18}F de la presente invención puede ser particularmente deseable para estudios de PET o SPECT. Los compuestos marcados isotópicamente de la presente invención se pueden preparar generalmente por técnicas convencionales conocidas para los expertos en el arte o por procedimientos análogos a los descritos en los ejemplos y preparaciones acompañantes usando un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

Además, la sustitución con isótopos más pesados, particularmente deuterio (esto es, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una semivida in vivo aumentada o requisitos de dosificación reducidos o una mejora en el índice terapéutico. Se entiende que el deuterio en este contexto se considera como un sustituyente de un compuesto de la presente invención. La concentración de dicho isótopo más pesado, específicamente el deuterio, puede definirse por el factor de enriquecimiento isotópico. El término "factor de enriquecimiento isotópico" como se usa en este documento significa la proporción entre la abundancia isotópica y la abundancia natural de un isótopo especificado. Si un sustituyente en un compuesto de esta invención se denomina deuterio, dicho compuesto tiene un factor de enriquecimiento isotópico para cada átomo de deuterio designado de al menos 3500 (incorporación de deuterio 52.5% en cada átomo de deuterio designado), al menos 4000 (60% de incorporación de deuterio), al menos 4500 (67.5% de incorporación de deuterio), al menos 5000 (75% de incorporación de deuterio), al menos 5500 (82.5% de incorporación de deuterio), al menos 6000 (90% de incorporación de deuterio), al menos 6333.3 (95% de incorporación de deuterio), al menos 6466.7 (97% de incorporación de deuterio), al menos 6600 (99% de incorporación de deuterio), o al menos 6633.3 (99.5% de incorporación de deuterio).

Los solvatos farmacéuticamente aceptables según la invención incluyen aquellos en los que el solvente de cristalización puede estar isotópicamente sustituido, por ejemplo, D_2O , d_6 -acetona, d_6 -DMSO.

Los compuestos de la presente invención que contienen grupos capaces de actuar como donantes y/o aceptores de enlaces de hidrógeno pueden ser capaces de formar cocristales con formadores de cocrystal apropiados. Estos cocristales se pueden preparar a partir de compuestos de la presente invención mediante procedimientos conocidos de formación de cocrystal. Tales procedimientos incluyen molienda, calentamiento, cosublimado, cofusión o contacto en compuestos en solución de la presente invención con el formador de cocrystal en condiciones de cristalización y aislamiento de cocristales formados así. Los formadores de cocrystal apropiados incluyen ácido 1-hidroxi-2-naftoico, L-arginina, ácido L-glutámico, ácido hipúrico, L-leucina, L-isoleucina, ácido mandélico, nicotinimida, L-prolina, ácido tartárico, ácido succínico, ácido adípico, ácido fumárico y los descritos en el documento WO 2004/078163. Por consiguiente, la invención proporciona además cocristales que comprenden un compuesto de la presente invención.

Como se usa en este documento, el término "portador farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, surfactantes, antioxidantes, conservantes (por ejemplo, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos), agentes isotónicos, agentes de retardo de la absorción, sales, conservantes., fármacos, estabilizantes de fármacos, aglutinantes, excipientes, agentes de desintegración, lubricantes, edulcorantes, aromatizantes, colorantes y similares y combinaciones de los mismos, como conocerán los expertos en el arte (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329). Excepto en la medida en que cualquier portador convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas o farmacéuticas.

El término "una cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de la presente invención se refiere a una cantidad del compuesto de la presente invención que provocará la respuesta biológica o médica de un sujeto, por ejemplo, reducción o inhibición de una enzima o una actividad proteica, o mejorar los síntomas, aliviar afecciones, desacelerar o retrasar la progresión de la enfermedad, o prevenir una enfermedad, etc. En una realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a un sujeto, es eficaz para (1) aliviar, inhibir, prevenir y/o mejorar una afección, o un trastorno o una enfermedad, al menos parcialmente, al afectar la elongación de la cadena de ARN de la polimerasa viral. En otra realización no limitante, el término "una cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del compuesto de la presente invención que, cuando se administra a una célula, o un tejido, o un material biológico no celular, o un medio, es eficaz para afectar una elongación de la cadena de ARN de la polimerasa de un virus.

Como se usa en este documento, el término "sujeto" se refiere a un animal. Por lo general, el animal es un mamífero. Un sujeto también se refiere, por ejemplo, a primates (por ejemplo, humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones, peces, aves y similares. En ciertas realizaciones, el sujeto es un primate. En otras realizaciones más, el sujeto es un ser humano.

Como se usa en este documento, el término "inhibir", "inhibición" o "que inhibe" se refiere a la reducción o supresión de una condición, síntoma, o trastorno, o enfermedad dada, o una disminución significativa en la actividad de referencia de un proceso o actividad biológica.

- Como se usa en este documento, el término "tratar", "que trata" o "tratamiento" de cualquier enfermedad o trastorno se refiere en una realización a la mejora de la enfermedad o trastorno (esto es, ralentizar o detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o al menos uno de sus síntomas clínicos). En otra realización, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a aliviar o mejorar al menos un parámetro físico que incluye aquellos que pueden no ser discernibles por el sujeto. En otra realización más, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a modular la enfermedad o trastorno, ya sea físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico) o ambos. En otra realización más, "tratar", "que trata" o "tratamiento" se refiere a prevenir o retrasar el inicio o desarrollo o progresión de la enfermedad o trastorno.
- Como se usa en este documento, un sujeto "necesita un" tratamiento si tal sujeto se beneficiaría biológicamente, médicamente o en calidad de vida de tal tratamiento.
- Todos los métodos descritos en este documento se pueden realizar en cualquier orden apropiado a menos que se indique lo contrario en este documento o se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o un ejemplo de lenguaje (por ejemplo, "tal como") proporcionado en este documento está destinado meramente a iluminar mejor la invención.
- En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede formular para rutas particulares de administración tales como administración oral, administración parenteral y administración rectal, etc. Además, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar en una forma sólida (incluyendo, sin limitación, cápsulas, comprimidos, píldoras, gránulos, polvos o supositorios), o en forma líquida (incluidas, sin limitación, soluciones, suspensiones o emulsiones). Las composiciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener diluyentes inertes convencionales, agentes lubricantes o agentes reguladores, así como adyuvantes, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y soluciones reguladoras, etc.
- Por lo general, las composiciones farmacéuticas son comprimidos o cápsulas de gelatina que comprenden el ingrediente activo junto con
- diluyentes, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina;
 - lubricantes, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o calcio y/o polietilenglicol; para comprimidos también
 - aglutinantes, por ejemplo, silicato de magnesio y aluminio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio y/o polivinilpirrolidona; si es deseado
 - disgregantes, por ejemplo, almidones, agar, ácido algínico o su sal de sodio o mezclas efervescentes; y/o
 - absorbentes, colorantes, aromatizantes y edulcorantes.
- Los comprimidos pueden estar recubiertos con una película o con recubrimiento entérico según métodos conocidos en la técnica.
- Las composiciones apropiadas para la administración oral incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención en forma de comprimidos, comprimidos para deshacer en la boca, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas para uso oral se preparan según cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, saborizantes, colorantes y conservantes para proporcionar preparados farmacéuticamente elegantes y sabrosos. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo en mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son apropiados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes son, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos no están recubiertos o recubiertos por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, de este modo, proporcionan una acción sostenida durante un período más prolongado. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.
- Algunas composiciones inyectables son soluciones o suspensiones isotónicas acuosas, y los supositorios se preparan ventajosamente a partir de emulsiones o suspensiones grasas. Dichas composiciones se pueden esterilizar y/o contener adyuvantes, tales como agentes conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes, promotores de soluciones, sales para regular la presión osmótica y/o soluciones reguladoras. Además, también

pueden contener otras sustancias terapéuticamente valiosas. Dichas composiciones se preparan según métodos convencionales de mezcla, granulación o recubrimiento, respectivamente, y contienen aproximadamente 0.1-75%, o contienen aproximadamente 1-50%, del ingrediente activo.

5 Las composiciones apropiadas para la aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención con un portador apropiado. Los portadores apropiados para la administración transdérmica incluyen solventes absorbibles farmacológicamente aceptables para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Por ejemplo, los dispositivos transdérmicos están en forma de un vendaje que comprende un miembro de respaldo, un depósito que contiene el compuesto opcionalmente con portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para liberar el compuesto de la piel del huésped a una frecuencia controlada y predeterminada durante un período prolongado. período de tiempo, y significa asegurar el dispositivo a la piel.

10 Las composiciones apropiadas para aplicación tópica, por ejemplo, en la piel y los ojos, incluyen soluciones acuosas, suspensiones, ungüentos, cremas, geles o formulaciones pulverizables, por ejemplo, para la administración mediante aerosol o similar. Tales sistemas de administración tópica serán en particular apropiados para la aplicación dérmica, por ejemplo, para el tratamiento de cáncer de piel, por ejemplo, para uso profiláctico en cremas solares, lociones, aerosoles y similares. De este modo, son particularmente apropiados para su uso en formulaciones tópicas, incluidas las cosméticas, bien conocidas en la técnica. Tales pueden contener solubilizantes, estabilizantes, agentes potenciadores de la tonicidad, soluciones reguladoras y conservantes.

15 Como se usa en este documento, una aplicación tópica también puede pertenecer a una aplicación de inhalación o intranasal. Se pueden administrar convenientemente en forma de un polvo seco (solo, como una mezcla, por ejemplo, una mezcla seca con lactosa, o una partícula de un componente mixto, por ejemplo con fosfolípidos) de un inhalador de polvo seco o una presentación en aerosol de un recipiente presurizado, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador, con o sin el uso de un propelente apropiado.

20 La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas anhidras y formas de dosificación que comprenden los compuestos de la presente invención como ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de ciertos compuestos.

25 Las composiciones farmacéuticas anhidras y las formas de dosificación de la invención se pueden preparar usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o baja humedad. Una composición farmacéutica anhidra se puede preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. De acuerdo con lo anterior, las composiciones anhidras se envasan usando materiales que se sabe que previenen la exposición al agua de manera que se pueden incluir en kits farmacéuticos apropiados. Los ejemplos de envases apropiados incluyen, pero no se limitan a, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitaria (por ejemplo, viales), envases de blíster y paquetes de tiras.

30 La invención proporciona además composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más agentes que reducen la velocidad a la que se descompondrá el compuesto de la presente invención como ingrediente activo. Tales agentes, a los que se hace referencia en este documento como "estabilizantes", incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes tales como ácido ascórbico, soluciones reguladoras de pH o soluciones reguladoras de sal, etc.

35 Por lo tanto, se indica que para el tratamiento de infecciones virales, tales como las causadas por un virus de la familia *Flaviviridae*, por ejemplo, virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus de Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de St Louis, virus de fiebre hemorrágica de Omsk, virus de diarrea viral bovina, virus de Zika y virus de hepatitis C y otros virus *Flaviviridae* como se describe en este documento, un compuesto de la invención se puede administrar a mamíferos más grandes, por ejemplo humanos, mediante modos de administración similares en dosificaciones similares a las usadas convencionalmente.

40 Además, se apreciará que el intervalo de dosificación de un compuesto de la invención para ser empleado para tratar y/o prevenir una infección viral depende de factores conocidos para los expertos en el arte, que incluyen el huésped, la naturaleza y la gravedad de la afección que se va a tratar, el modo de administración y la sustancia particular que se va a emplear.

45 La dosificación diaria del compuesto de la invención variará con el compuesto empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado y la enfermedad indicada, así como otros factores tales como la edad, el peso corporal, la salud general, la condición del sujeto, antecedentes médicos y sexo, y factores similares conocidos en las artes médicas. Por ejemplo, un compuesto de la invención se administra a una dosificación diaria en el intervalo desde aproximadamente 0.5 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 15 mg/kg de peso corporal, por ejemplo, en el intervalo desde aproximadamente 1 mg/kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal. Por lo general, se pueden obtener resultados satisfactorios cuando el compuesto de la invención se administra a una dosificación diaria desde aproximadamente 0.001 g a aproximadamente 1.5 g, por ejemplo, no superior a aproximadamente 1 gramo, por ejemplo, desde aproximadamente 0.1 g a aproximadamente 0.5 g para un humano de 70 kg, administrado hasta 4 veces al día.

Para uso farmacéutico, se pueden usar uno o más compuestos de la invención, por ejemplo, uno, o una combinación de dos o más compuestos de la invención, preferiblemente un compuesto de la invención se usa.

5 Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá preferiblemente desde 0.05 a 99.5% en peso, más preferiblemente desde 0.1 a 70% en peso, más preferiblemente desde 30 a 70% en peso del ingrediente activo, y de 0.05 a 99.95% en peso, más preferiblemente desde 0.1 a 70% en peso, más preferiblemente desde 30 a 70% en peso de un portador farmacéuticamente aceptable, todos los porcentajes se basan en la composición total.

10 La composición farmacéutica puede contener adicionalmente otros diversos ingredientes conocidos en la técnica, por ejemplo, un lubricante, agente estabilizante, agente regulador, agente emulsionante, agente regulador de la viscosidad, agente surfactante o conservante.

15 Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria como se usa en este documento se refiere a unidades físicamente discretas apropiadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosificación unitarias son comprimidos (que incluyen comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvos, obleas, supositorios, soluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiples segregados de los mismos.

20 Como se indicó anteriormente, las dosificaciones diarias con respecto a la segunda sustancia farmacéutica usada variarán dependiendo de, por ejemplo, el compuesto empleado, el anfitrión, el modo de administración y la gravedad de la afección que se va a tratar. Por ejemplo, la lamivudina se puede administrar a una dosis diaria de 100 mg. El interferón pegilado se puede administrar por vía parenteral de una a tres veces por semana, preferiblemente una vez por semana, a una dosis semanal total que varía de 2 a 10 millones de IU, más preferiblemente desde 5 a 10 millones de IU, más preferiblemente desde 8 a 10 millones de IU. Debido a los diversos tipos de segunda sustancia farmacológica que se pueden usar, las cantidades pueden variar mucho, y se pueden determinar mediante experimentación rutinaria, como se describió anteriormente.

25 El compuesto de la invención y una segunda sustancia farmacéutica se pueden administrar mediante cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo en forma de soluciones para beber, comprimidos o cápsulas o parenteralmente, por ejemplo en forma de soluciones o suspensiones inyectables.

30 En otro aspecto, esta divulgación, para fines de referencia, proporciona un método que comprende administrar un compuesto de la invención y otro agente antiviral, preferiblemente un anti-*Flaviviridae*, por ejemplo, y agente anti-dengue o anti-virus de la hepatitis C. Tales agentes antivirales incluyen, pero no se limitan a, agentes inmunomoduladores, tales como interferómetros α , β , y δ interferones, compuestos de α -interferón derivados pegilados y timosina; otros agentes antivirales, tales como ribavirina, amantadina, y telbivudina; otros inhibidores de proteasas de hepatitis C (inhibidores NS2-NS3 e inhibidores NS3-NS4A); inhibidores de otros objetivos en el ciclo de vida de *Flaviviridae* (por ejemplo, virus de dengue, virus de la hepatitis C), que incluyen helicasa, polimerasa e inhibidores de metaloproteasas; inhibidores de la entrada interna de ribosomas; inhibidores virales de amplio espectro, tales como inhibidores de IMPDH o combinaciones de cualquiera de los anteriores.

40 Cada componente de una combinación según esta invención se puede administrar por separado, juntos, o en cualquier combinación de los mismos. Tal como reconocen los expertos en la técnica, las dosificaciones de interferón se miden por lo general en IU (por ejemplo, aproximadamente 4 millones de IU a aproximadamente 12 millones de IU). Cada componente se puede administrar en una o más formas de dosificación. Cada forma de dosificación se puede administrar al sujeto en cualquier orden.

Ejemplos

45 La invención se describe con referencia a los siguientes ejemplos. Se debe apreciar que la invención no está limitada a estos ejemplos.

Abreviaturas

DMSO	dimetilsulfóxido
THF	tetrahidrofurano
DMAP	4-dimetilaminopiridina
50 RMN	resonancia magnética nuclear
TEA	triethylamina
MS	espectroscopía de masas

	DMF	dimetilformamida
	DCM	diclorometano
	PBS	solución salina tamponada con fosfato de
	FBS	suero fetal bovino
5	HRP	peroxidasa de rábano picante
	TMB	3,3', 5,5'-tetrametilbencidina
	DMEM	medio de Eagle modificado de Dulbecco
	ACN	acetonitrilo
	BSA	N, O-bis (trimetilsilil) acetamida
10	Bz	benzoil
	DBU	1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno
	DCC	diciclohexilcarbodiimida
	DEA	dietilamina
	DI(P)EA	diisopropiletilamina
15	EDC	1- (3-dimetilaminopropil) -3-etilcarbodiimida
	EDCI	1- (3-dimetilaminopropil) -3-etilcarbodiimida (clorhidrato)
	HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
	h, hr, hrs	hora (s)
	LCMS	espectroscopía de masas de cromatografía líquida
20	Min	minuto(s)
	Py	piridina
	SFC	cromatografía súper fluida
	TMSCI	trimetilsilil cloruro

I. Preparación de los compuestos de la invención

25 General:

A menos que se especifique lo contrario, todas las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera inerte (por ejemplo, argón o nitrógeno) usando reactivos disponibles en el mercado y solventes anhidros sin tratamiento adicional.

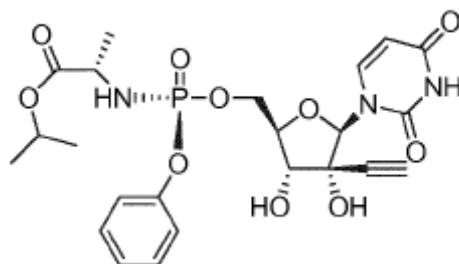
30 Los datos de la espectrometría de masas por cromatografía líquida (LCMS) se informaron como m/z en dalton y el tiempo de retención en minutos, y se obtuvieron usando uno de los siguientes instrumentos y condiciones. Sistema Waters Acquity UPLC con ya sea ZQ Mass Detector o SQD Mass Detector. Gradiente: 2 a 98% de B en 1.5 minutos con una velocidad de flujo de 1.2 mL/min; eluyente A: agua/TFA al 0.1%, eluyente B: ACN/TFA al 0.1%. Columna: Kinetex C18 2.6µm 2.1X50mm (Phenomenex) con temperatura de la columna a 50 °C. Sistema LC/MS UPLC (Columna: Acquity C18 BEH 1.7µm 2.1 x 50mm a 50 °C; eluyente A: agua + ácido fórmico al 0.1%; eluyente B: ACN. Gradiente: de 2 a 98% de B en 1.4 min - flujo 1.0 mL/min. HPLC: configuración del método Acq: 10 a 95%, tiempo de ejecución: 10 minutos).

40 Los espectros de RMN se registraron usando uno de los siguientes instrumentos. Espectrómetro de RMN Bruker ASCEND-500 funcionando a una frecuencia de 500.08 MHz para ¹H, 125.75 MHz para ¹³C, 202.43 MHz para ³¹P, 470.50 MHz para ¹⁹F y 50.68 MHz para ¹⁵N. Este instrumento estaba equipado con una criosonda BBO de 5 mm con un espectrómetro gradiente en Z. Bruker AVANCE-III 400 MHz que funciona a una frecuencia de 400.13 MHz para ¹H, 100.62 MHz para ¹³C, 376.50 MHz para ³¹P, 161.98 MHz. Espectrómetro RMN Varian MR-400 que funciona a una frecuencia de 399,89 MHz para ¹H, 100,56 MHz para ¹³C, 161,88 MHz para ³¹P, 376.22 MHz para ¹⁹F. Este instrumento estaba equipado con una sonda Auto X, H/F pfg de 5 mm. Los desplazamientos químicos (δ) se informaron en partes por millón (ppm) referenciadas a 7.26 ppm (CDCl₃), o 3.31 ppm (CD₃OD) o 4.80 ppm (D₂O), o

2.50 ppm (d6-DMSO) para ^1H RMN. Las constantes de acoplamiento (J o J) se dieron en hertz, con las abreviaturas br s, s, d, dd, t, q y m que se refieren a singlete amplio, singlete, doblete, doblete de dobletes, triplete, cuarteto y multiplete.

Ejemplo 1

- 5 Síntesis de (S)-isopropil2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2 il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato



Etapa 1: Síntesis de (4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-3-oxotetrahidrofuran-2,4-diil dibenzoato

- 10 A una mezcla en agitación de periodinano de Dess-Martin (1.83 g, 4.32 mmol, 2 equivalentes) en DCM (4 ml) a 0 °C se le añadió una solución de (3R,4S,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-3-hidroxitetrahidrofuran-2,4-diil dibenzoato (1.0 g, 2.16 mmol, 1 equiv.) en DCM (3 mL). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. El solvente se eliminó a vacío y el residuo se trituró con éter dietílico. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de sulfato de magnesio y el filtrado se agitó con un volumen igual de tiosulfato de sodio en bicarbonato de sodio saturado durante aproximadamente 10 minutos (hasta que la capa orgánica apareció transparente). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se concentró a vacío para dar el material en bruto. Después de una cromatografía instantánea sobre gel de sílice con solvente de elución de hexano/acetato de etilo (7: 3), se aisló el compuesto base (0.432 g, 0.938 mmol, 43.4%). ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ 8.13-8.00 (6H, m), 7.62-7.35 (9H, m), 6.21 (1H, s), 5.90 (1H, d), 5.07-4.62 (3H, m).
- 15

Etapa 2: Síntesis de (3R,4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-3-etinil-3-hidroxitetrahidrofuran-2,4-diil dibenzoato

- 20 A una solución en agitación de bromuro de etinilmagnesio 0.5 M en THF (7.5 ml, 3.75 mmol, 4.0 equivalentes) a -78°C, se añadió una solución del compuesto obtenido de la etapa 1 (0.432 g, 0.938 mmol, 1 equiv.) en THF (3.0 ml). La mezcla se dejó agitar a una temperatura inferior a -78 °C, durante 2 h, a -40 °C, durante 1 h. A continuación, se añadió una solución saturada de cloruro de amonio a 0 °C, y la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente lentamente, agitando durante 1 hora más. La mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó a vacío para producir el material en bruto. El compuesto base en bruto se usó directamente en la reacción posterior sin purificación adicional.
- 25

Etapa 3: Síntesis de (3R,4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-3-etiniltetrahidrofuran-2,3,4-triil tribenzoato

- 30 A una solución en agitación de DMAP (0.105 g, 0.938 mmol, 1 equiv.) y trietilamina (0.9 ml) en DCM (9 ml, 6.5 mmol, 6.9 equivalentes) se le añadió cloruro de benzoilo (0.33 ml, 2.81 mmol, 3.0 equiv.). A continuación, se añadió gota a gota una solución del compuesto obtenido a partir de la etapa 2 (0.938 mmol, 1 equiv.) en DCM (3 mL). La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 h. La mezcla se diluyó con DCM, se lavó con HCl (2 N), bicarbonato de sodio saturado y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó a vacío para producir el material en bruto. Después de la cromatografía instantánea sobre gel de sílice con solvente de elución de hexano/acetato de etilo (90:10), seguido de hexano/acetato de etilo (85:15), se obtuvo el compuesto base (0.224 g, 0.380 mmol, 40.5%). ^1H RMN (300MHz, CDCl_3): δ 8.17-7.12 (20 H), 6.99 (1H, s), 6.37 (1H), 4.81-4.55 (3H, m), 2.76 (1H, s).
- 35

Etapa 4: Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1 (2H)-il)-3-etiniltetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato

- 40 A una solución de uracilo (56.9 mg, 0.508 mmol) en acetonitrilo seco (1 ml) se le añadió BSA (0.502 ml, 2.032 mmol) y la solución resultante se calentó a 80 °C a reflujo durante 1 hora bajo atmósfera de argón. El uracilo sililado (56.9 mg, 0.508 mmol) obtenido de este modo se enfrió a 0 °C y se trató con una solución del compuesto obtenido de la etapa 3 (300 mg, 0.508 mmol) en acetonitrilo (2 ml), seguido de la adición gota a gota de cloruro de estaño (IV) (0.208 ml, 1.778 mmol). Luego la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente, luego se calentó a 60°C, durante 3 hr. La mezcla de reacción se vertió en agua helada. La capa acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo (20 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron para dar el material en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía sobre gel
- 45

de sílice usando hexano/acetato de etilo como eluyente. Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar el compuesto base (125 mg, 0.194 mmol, 38.1% de rendimiento) como una pasta de color marrón. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1.27 (t, J=7.15 Hz, 2 H) 2.06 (s, 2 H) 2.78 (s, 1 H) 4.14 (q, J=7.03 Hz, 1 H) 4.64 (dt, J=6.53, 3.51 Hz, 1 H) 4.89 - 5.03 (m, 1 H) 5.78 (dd, J=8.28, 2.01 Hz, 1 H) 6.07 (d, J=3.01 Hz, 1 H) 6.70 (s, 1 H) 7.23 - 7.30 (m, 2 H) 7.42 - 7.55 (m, 4 H) 7.56 - 7.65 (m, 2 H) 7.79 - 7.87 (m, 2 H) 8.09 (dd, J=8.41, 1.13 Hz, 2 H) 8.12 - 8.20 (m, 2 H) 9.15 (s, 1 H). MS (m+1) = 581.18; MS (m-1) = 579.11.

Etapa 5: Síntesis de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

A una solución agitada del compuesto obtenido de la etapa 4 (125 mg, 0.215 mmol) en metanol (1 ml) se le añadió metóxido de sodio al 30% (p/p) en metanol (0.121 ml, 2.153 mmol) gota a gota a 0 °C. Luego la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1.5 hr. La mezcla de reacción se neutralizó a pH 4 con ácido fórmico a 0 °C. La mezcla de reacción se concentró después a presión reducida para dar el material en bruto. El residuo resultante se purificó por cromatografía en gel de sílice usando DCM/MeOH como eluyentes. Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar el compuesto base (50 mg, 0.166 mmol, 77% de rendimiento) como un sólido de color blanco crema. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.03 (s, 1 H) 3.75 - 3.84 (m, 1 H) 3.91 - 4.01 (m, 2 H) 4.22 (d, J=8.78 Hz, 1 H) 5.74 (d, J=8.03 Hz, 1 H) 6.04 (s, 1 H) 8.05 (d, J=8.03 Hz, 1 H). MS (m+1) = 268.88; MS (m-1) = 266.81.

Etapa 6: (S)-isopropil 2-(((S)-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

A una solución agitada del compuesto obtenido de la etapa 5 (146 mg, 0.544 mmol) en THF (1 ml) se le añadió tBuMgCl 1.0M en THF (1.633 ml, 0.544 mmol) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, a la mezcla de reacción se le añadió una solución de (S)-isopropil 2-(((S)-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (740 mg, 1.633 mmol) en THF (2 ml) gota a gota a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente durante una noche. Sin ningún tratamiento, la mezcla de reacción se inactivó con 1 ml de agua. La mezcla se filtró a través de un microfiltro a través de una jeringa para dar una solución transparente y se purificó directamente. El material en bruto se purificó por HPLC usando un método de ejecución 20 - 95% de ACN, de 40 minutos. Las fracciones puras se combinaron y se liofilizaron para dar el compuesto base (40 mg, 0.074 mmol, 13.67% de rendimiento), como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 1.18 - 1.25 (m, 6 H) 1.35 (d, J=7.03 Hz, 3 H) 3.08 (s, 1 H) 3.86 - 3.97 (m, 1 H) 4.04 - 4.12 (m, 1 H) 4.13 - 4.19 (m, 1 H) 4.36 (ddd, J=11.73, 6.09, 3.76 Hz, 1 H) 4.49 (ddd, J=11.80, 6.02, 2.01 Hz, 1 H) 4.97 (dt, J=12.55, 6.27 Hz, 1 H) 5.61 (d, J=8.28 Hz, 1 H) 6.03 (s, 1 H) 7.18 - 7.24 (m, 1 H) 7.27 (d, J=8.78 Hz, 2 H) 7.34 - 7.42 (m, 2 H) 7.65 (d, J=8.03 Hz, 1 H). ³¹P RMN mostró el producto deseado a 3.77 ppm (indicando como solo diastereómero asignado como Sp). MS (m+1) = 537.96; MS (m-1) = 536.15.

Preparación de (S)-isopropil 2-(((S)-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato: Este material se sintetizó según los procedimientos publicados. (*J. Org. Chem.* 2011, 76, 8311-8319)

Formación de la composición de cocrystal del compuesto del ejemplo 1

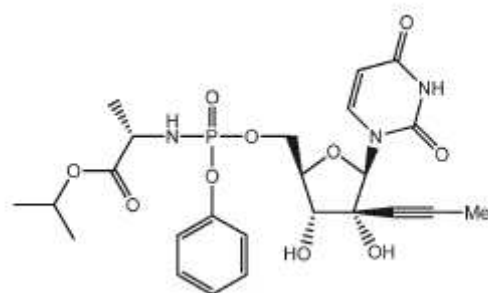
El compuesto del ejemplo 1 y L-prolina: (escala de 67.72 mg). A 67.72 mg del compuesto del ejemplo 1, se le añadieron 1.05 M equivalentes de L-prolina y 1.5 ml de acetato de etilo. Al agitar, se formó una suspensión espesa y voluminosa. Esta suspensión se calentó a 55 °C a 1 °C/min y se mantuvo durante 30 minutos, en cuyo punto se enfrió a 0.5 °C/min a 5 °C, donde se mantuvo durante 30 minutos. El ciclo se repitió 4 veces y el sólido resultante se recogió mediante filtración al vacío y se secó a 40 °C al vacío durante 4 horas. Punto de fusión es 156.91 °C. Punto de fusión medido por calorimetría de barrido diferencial (TA Instruments Q2000 DSC, 10 °C/min a 300 °C).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ 11.40 (s, 1H), 8.56 (s, 2H), 7.57 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.42 - 7.32 (m, 2H), 7.22 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.18 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.04 (dd, J = 13.0, 10.0 Hz, 1H), 5.94 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 5.50 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 4.85 (hept, J = 6.2 Hz, 1H), 4.37 - 4.28 (m, 1H), 4.28 - 4.17 (m, 1H), 4.01 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 3.95 (dd, J = 10.0, 4.2 Hz, 1H), 3.80 (tq, J = 10.1, 7.0 Hz, 1H), 3.62 (dd, J = 8.7, 5.6 Hz, 1H, prolina), 3.56 (s, 1H), 3.21 (ddd, J = 11.3, 7.4, 5.6 Hz, 1 H, prolina), 2.99 (dt, J = 11.2, 7.5 Hz, 1H, prolina), 2.08 - 1.97 (m, 1H, prolina), 1.93 (ddt, J = 12.8, 7.3, 5.2 Hz, 1H, prolina), 1.85 - 1.73 (m, 1H, prolina), 1.67 (dp, J = 12.6, 7.5 Hz, 1H, prolina), 1.22 (d, J = 7.1 Hz, 3H), 1.15 (d, J = 6.2 Hz, 6H). La RMN se tomó con un espectrómetro Bruker AVANCE-III de 400 MHz que funciona a una frecuencia de 400.13 MHz para 1H.

Otros análogos se sintetizan de una manera similar a la descrita anteriormente.

Ejemplo 1.1 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de (2S)-isopropil 2-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3,4-dihidroxi-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (Esquema 1)



Etapa 2 y etapa 3. Síntesis de (3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2,3,4-triil tribenzoato

A una solución de (4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-3-oxotetrahidrofuran-2,4-diil dibenzoato (2, 9.0 g, 19.56 mmol) en éter seco (200 mL), se le añadió propinil bromuro de magnesio (0.5 M en THF) (168 mL, 84.13 mmol) a -78°C, durante 30 minutos. La reacción se dejó a -30 °C y se continuó durante 4 h. Después de eso, la reacción se inactivó con NH₄Cl (saturado) y se extrajo con éter (2 x 200 mL). Las capas orgánicas se combinaron y se concentraron a vacío para dar 11.0 g de (3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-3-hidroxi-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2,4-diil dibenzoato en bruto como un líquido de color marrón. Este intermedio en bruto se usó inmediatamente como tal en la siguiente etapa sin ninguna purificación. (TLC: EtOAc: n-Hexanos (40: 60); R_f: 0.5)

Al compuesto en bruto anterior en DCM seco (180 mL) se le añadió Et₃N (23 ml), DMAP (2.3 g, 19.56 mmol) seguido de BzCl (9.1 mL, 78.26 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua (200 mL) y se extrajo con DCM (2 x 100 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para dar una mezcla inseparable de (δ/β-isómeros) (3R, 4R, 5R)-5-(benzoiloximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2,3,4-triil tribenzoato como un líquido de color marrón (6.0 g, 51%). El compuesto en bruto se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): (mezcla de δ/β-isómeros) δ 1.81 (s, 3H), 4.8-4.5 (m, 4H), 6.97 (s, 1H), 8.19-7.04 (m, 20H). TLC: EtOAc:n-Hexanos (40: 60); R_f: 0.7.

Etapa 4. Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato

A una suspensión de uracilo (2.2 g, 19.86 mmol) en ACN (60 mL) se le añadió N, O-bis (trimetilsilil) acetamida (BSA) (9.7 mL, 39.7 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 70 °C hasta que apareció una solución transparente. A esto a temperatura ambiente se le añadió gota a gota (3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2,3,4-triil tribenzoato (6.0 g, 9.93 mmol) en ACN, seguido de SnCl₄ (4.6 mL, 39.7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 70 °C, durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en agua helada (200 mL) y se extrajo con DCM (2 x 200 mL). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con solución acuosa de NaHCO₃ (200 mL), salmuera (100 mL), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar ((2R,3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (1.0 g del anómero deseado como sólido de color blanco crema) junto con 2.0 g de mezcla anomérica (α y β). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 1.70 (s, 3H), 4.64-4.68 (m, 1H), 4.85-4.95 (m, 2H), 5.76 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.02 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 7.25 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.27 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.48-7.54 (m, 3H), 7.54-7.66 (m, 2H), 7.83 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.90 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.90 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.15 (d, J = 7.2 Hz, 2H). La LC-MS indicó 88% del deseado m/z: 595 (M++H). TLC: EtOAc:n-Hexanos (50: 50): R_f: 0.30.

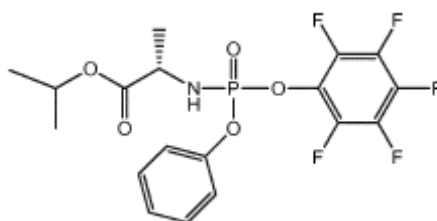
Etapa 5. Síntesis de 1-((2R,3R,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona

A una solución de (2R,3R,4R,5R)-5-(benzoiloximetil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (1.0 g,) en MeOH (15 mL) se le añadió solución saturada de amoníaco metanólico (80 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche. El solvente se evaporó a vacío para dar un material en bruto que se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar 1-((2R,3R,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-inil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (300 mg, 63%) como un sólido de color blanco crema. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.70 (s, 3H), 3.54-3.58 (m, 1H), 3.73-3.78 (m, 2H), 3.95 (t, J = 8.0Hz, 1H), 5.20 (br s, 1H), 5.58 (d, J = 7.6Hz, 1H), 5.62 (d, J = 8.0Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 7.92 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 11.33 (br s, 1H). La LC-MS indicó 91.7% del deseado m/z: 283 (M++H). TLC: MeOH:CHCl₃ (10: 90); R_f: 0.15.

Etapa 6. Síntesis de (2S)-isopropil 2-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3,4-dihidroxi-4-(prop-1-inil)tetrahidrofuranil) metoxi)(fenoxi)fosforilamino) propanoato

5 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)-3-(prop-1-ynil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H) diona (100 mg, 0.354 mmol) en THF (3.0 ml) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.7 mL, 1.77 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A esta se le añadió una solución de (2S)-isopropil 2-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilamino) propanoato (480 mg, 1.06 mmol) en THF (2 mL) a -78°C. La
 10 mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (80 mg, 41%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.15 (d, J = 6.4 Hz, 6H), 1.18 (d, J = 6.4Hz, 3H), 1.71 (s, 3H), 3.75-3.79 (m, 1H), 3.93 (d, J = 4.0Hz, 1H), 4.20-4.32 (m, 2H), 4.84-4.87 (m, 1H), 5.50 (dd, J = 2.4Hz, 8.0Hz, 1H), 5.78 (d, J = 3.6Hz, 1H), 5.88 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 6.05 (d, J = 10.4 Hz, 1H), 6.08 (d, J = 12.8 Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 7.16-7.39 (m, 3H), 7.54 (dd, J = 2.8 Hz, 8.4 Hz, 2H), 7.5 (d, J = 8.0Hz, 1H), 11.40 (s, 1H). La LC-MS indicó 87% & 11% de la mezcla isomérica deseada. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552.25. Purezas por HPLC UV a 214 nm: 14.8 % & 83.3 %; 254 nm: 14.6 % & 84.8 %; 263 nm: 14.7 % & 84.9 %. TLC: MeOH:CHCl₃ (15: 85); R_f: 0.7.

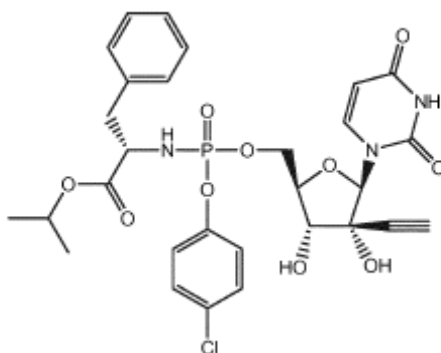
Síntesis de (2S)-isopropil 2-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilamino)propanoato



15 A una solución agitada de pentafluoro fenol (2.62 g, 14.28 mmol) en DCM seco (30 mL) a -78 °C se le añadió Et₃N (2.6 mL, 18.5 mmol). A este se le añadió gota a gota diclorofosfato de fenilo (3.0 g, 14.28 mmol) en DCM (30 ml) durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78 °C, durante 2 h. La solución se transfirió a otro matraz de fondo redondo que contenía clorhidrato de isopropilo de L-alanina (2.86 g, 17.14 mmol) en DCM (50
 20 mL) a 0 °C. A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et₃N (6 mL, 42.80 mmol) gota a gota durante un período de 15 minutos. La mezcla de reacción resultante se agitó a 0 °C, durante 2 h. El solvente se eliminó a vacío. El residuo se trituró con acetato de etilo (200 mL). El sólido de color blanco se separó por filtración. El filtrado se concentró a presión reducida. Se purificó por cromatografía en columna instantánea y se lavó con pentano frío para obtener el compuesto base como un sólido de color blanco (1.2 g, 19%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): δ 1.24 (d, J = 6.0 Hz, 3H), 1.27 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 1.46 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 3.91-3.97 (m, 1H), 4.13 (q, J = 8.0Hz, 1H), 5.0-5.20 (m, 1H), 7.21 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.24-7.29 (m, 2H), 7.35 (d, J = 7.6Hz, 1H), 7.37 (d, J = 8.4Hz, 1H). La LC-MS indicó 56% & 20% de la mezcla de diastereómeros deseada LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 454.

Ejemplo 1.2 (Ejemplo de referencia)

30 Síntesis de (2S)-isopropil 2-(((4-clorofenoxi)((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (Esquema 1, Etapa 6)

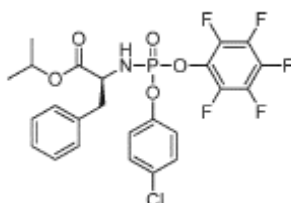


35 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (140 mg, 0.522 mmol) en THF (5.0 ml) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.6 mL, 1.6 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 30 mins. A este se le añadió una solución de (2S)-isopropil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato (589 mg, 1.04 mmol) en THF (2.5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (230 mg, 66%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 1.10-1.13 (m, 3H), 1.18-1.22 (m, 3H), 2.85-2.92 (m, 1H), 3.05-3.10 (m, 2H), 3.97-4.28 (m, 5H), 3.97-4.14 (m, 3H), 4.21-4.28 (m, 1H),

4.89-4.95 (m, 2H), 5.60-5.65 (m, 1H), 6.02-6.06 (m, 1H), 7.05-7.13 (m, 2H), 7.18-7.33 (m, 7H), 7.58 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H). La HPLC indicó 63% (tiempo de retención = 5.21 min) y 35% (tiempo de retención = 5.09 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (m/z): $[M+H]^+ = 648$ en el tiempo de retención = 0.92 min y 0.94 min. Sistema UPLC: Columna: Acquity C18 BEH 1.7 mm 2.1x 50 mm a 50 °C; Eluyente A: agua + ácido fórmico al 0.1%; Eluyente B: acetonitrilo. Gradiente: desde 2 a 98% de B en 1.4 min - flujo 1.0 mL/min. HPLC: Configuración de método Acq.: 10 a 95%; tiempo de ejecución: 10 minutos.

5

Síntesis de (2S)-isopropil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato



10

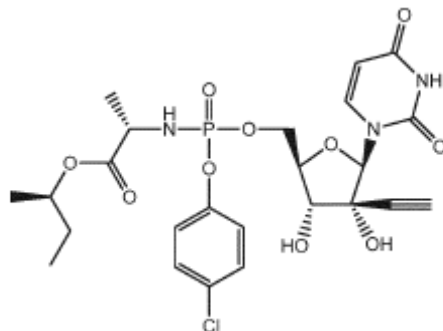
A una solución de diclorofosfato de fenilo (1.36 g, 5.54 mmol) en DCM seco (10 mL) a -78 °C, se le añadió una solución de pentafluoro fenol (1.02 g, 5.54 mmol) y Et₃N (0.701 mL, 5.54 mmol) en DCM seco (10 mL) durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78 °C, durante 2 h. Se añadió (S)-isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato clorhidrato (1.35 g, 5.54 mmol) en DCM (10 mL) a la mezcla de reacción a -78 °C. A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et₃N (1.4 mL, 11.08 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78 °C, durante 1 hora, a 0 °C, durante 1 hora, a 25 °C, durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 mL) y se extrajo con DCM (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se concentraron a vacío, se purificaron por cromatografía en columna instantánea para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (1.32 g, 42%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.01-1.04 (m, 3H), 1.11-1.13 (m, 3H), 2.82-2.89 (m, 1H), 2.94-3.03 (m, 1H), 3.99-4.08 (m, 1H), 4.78 (sx, $J = 6.2$ Hz, 1H), 7.01-7.10 (m, 3H), 7.14-7.18 (m, 1H), 7.18-7.26 (m, 3H), 7.39-7.41 (m, 2H). ³¹P RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) indicó la proporción -1:1 (0.45 y 0.15 ppm) de la mezcla diastereomérica. LCMS (m/z): $[M+H]^+ = 563$ en el tiempo de retención = 1.34 min.

15

20

Ejemplo 1.3 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de (2S)-(R)-sec-butil 2-(((4-clorofenoxi)(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)amino)propanoato (Esquema 1, Etapa 6)



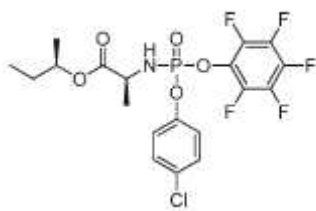
25

A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en THF (5.0 mL) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.7 mL, 1.7 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 30 minutos. A esta se le añadió una solución de (2S)-(R)-sec-butil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato (561 mg, 1.11 mmol) en THF (2.5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó mediante cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (250 mg, 76%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 0.87-0.94 (m, 3H), 1.19-1.23 (m, 3H), 1.34-1.39 (m, 3H), 1.53-1.63 (m, 2H), 3.08-3.10 (m, 1H), 3.90-3.99 (m, 1H), 4.07-4.17 (m, 2H), 4.35-4.43 (m, 1H), 4.47-4.59 (m, 1H), 4.79-4.84 (m, 1H), 5.69 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.05-6.06 (m, 1H), 7.24-7.29 (m, 2H), 7.37-7.39 (m, 2H), 7.65 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H). La HPLC indicó el 53 % (tiempo de retención = 4.38 min) & 45 % (tiempo de retención = 4.50 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (m/z): $[M+1]^+ = 586$ en el tiempo de retención = 0.76 min y 0.77 min.

30

35

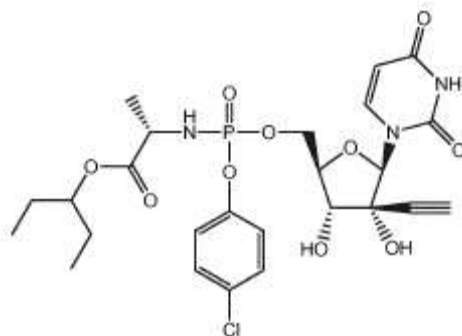
Síntesis de (2S)-(R)-sec-butil 2-(((4 clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato solo para fines de referencia)



- 5 A una solución de fenil diclorofosfato (1.50 g, 6.11 mmol) en DCM seco (10 mL) a -78 °C se le añadió una solución de pentafluoro fenol (1.12 g, 6.11 mmol) y Et₃N (0.77 mL, 6.11 mmol) en DCM seco (10 mL) durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78 °C, durante 2 h. Se añadió clorhidrato de (S)-(R)-sec-butil 2-aminopropanoato (1.11 g, 6.11 mmol) en DCM (10 mL) a la mezcla de reacción a -78°C. A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et₃N (1.54 mL, 12.22 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78°C, durante 1 hora, a 0 °C, durante 1 hora, a 25 °C, durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 mL) y se extrajo con DCM (2 X 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío, se purificaron por
- 10 cromatografía en columna instantánea para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (1.45 g, 47%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆): δ 0.76-0.82 (m, 3H), 1.11 (dd, J₁= 1.5Hz, J₂=6.2Hz, 3H), 1.28 (t, J = 5.7Hz, 3H), 1.45-1.53 (m, 2H), 3.90-4.00 (m, 1H), 4.65-4.76 (m, 1H), 6.88-6.98 (m, 1H), 7.24-7.30 (m, 2H), 7.47-7.50 (m, 2H). ³¹P RMN (400 MHz, DMSO-d₆) indicó una proporción ~1:1 (0.49 y 0.42 ppm) de la mezcla diastereomérica. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 501 en el tiempo de retención = 1.13 min.

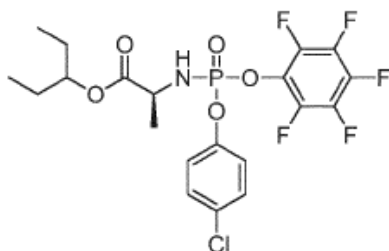
Ejemplo 1.4 (Ejemplo de referencia)

- 15 Síntesis de (2S)-pentan-3-il 2-(((4-clorofenoxi) (((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)amino)propanoato (Esquema 1, Etapa 6)



- 20 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (120 mg, 0.447 mmol) en THF (4.5 mL) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.4 mL, 1.4 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 30 minutos. A esta se le añadió una solución de (2S)-pentan-3-il 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato (462 mg, 0.895 mmol) en THF (2.0 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (145 mg, 54%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 0.73-0.79 (m, 6H), 1.23-1.29 (m, 3H), 1.39-1.53 (m, 4H), 2.96-2.98 (m, 1H), 3.81-3.90 (m, 1H), 3.95-4.06 (m, 2H), 4.23-4.31 (m, 1H), 4.36-4.47 (m, 1H), 4.59-4.68 (m, 1H), 5.54 (t, J = 7.5Hz, 1H), 5.93-5.94 (m, 1H), 7.12-7.17 (m, 2H), 7.25-7.27 (m, 2H), 7.53-7.56 (m, 1H). La HPLC indicó 56 % (tiempo de retención = 4.52 min) y 43 % (tiempo de retención = 4.66 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 600 en el tiempo de retención = 0.80 min y 0.82 min.
- 25

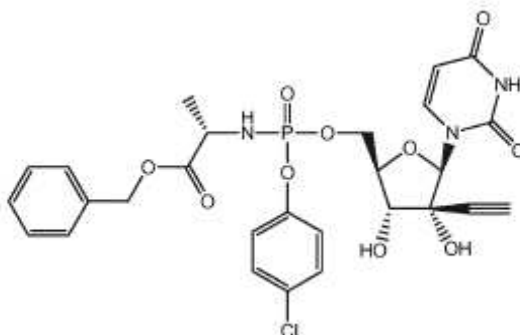
Síntesis de (2S)-pentan-3-il 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato



5 A una solución de fenil diclorofosfato (2.20 g, 8.96 mmol) en DCM seco (15 mL) a -78°C se le añadió una solución de pentafluoro fenol (1.65 g, 8.96 mmol) y Et_3N (1.13 mL, 8.96 mmol) en DCM seco (15 mL) durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78°C , durante 2 h. Se añadió clorhidrato de (S)-pentan-3-il-2-aminopropanoato (1.75 g, 8.96 mmol) en DCM (15 mL) a la mezcla de reacción a -78°C . A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et_3N (2.26 mL, 17.9 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78°C , durante 1 h, 0°C , durante 1 h, 25°C , durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 mL) y se extrajo con DCM (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío. Se purificó por cromatografía en columna instantánea hasta el compuesto base como un sólido de color blanco (1.64 g, 35%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 0.76-0.81 (m, 6H), 1.30-1.33 (m, 3H), 1.39-1.58 (m, 4H), 3.93-4.06 (m, 1H), 4.61-4.68 (m, 1H), 6.90-6.99 (m, 1H), 7.24-7.31 (m, 2H), 7.47 (d, $J = 8.9\text{Hz}$, 2H). LCMS (m/z): $[\text{M}+1]^+ = 515$ en el tiempo de retención = 1.17min.

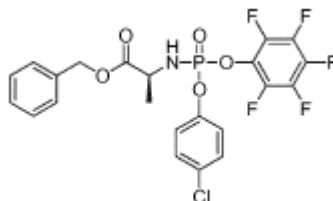
Ejemplo 1.5 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de (2S)-bencil2-(((4-clorofenoxi) (((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)fosforil)amino)propanoato (Esquema 1, Etapa 6)



15 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (95 mg, 0.354 mmol) en THF (4.0 mL) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.1 mL, 1,1 mmol) a 0°C . La mezcla se agitó a 0°C , durante 30 minutos. A esta se le añadió una solución de (2S)-bencil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato (380 mg, 0.71 mmol) en THF (2.0 mL) a 0°C . La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (157 mg, 71%) como un sólido de color blanco. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 1.36-1.40 (m, 3H), 3.07-3.09 (m, 1H), 3.98-4.09 (m, 2H), 4.12-4.16 (m, 1H), 4.32-4.38 (m, 1H), 4.45-4.53 (m, 1H), 5.14-5.16 (m, 2H), 5.63 (dd, $J_1=2.4\text{Hz}$, $J_2=8.1\text{Hz}$, 1H), 6.04 (d, $J = 3.6\text{Hz}$, 1H), 7.18-7.24 (m, 2H), 7.32-7.40 (m, 7H), 7.61-7.65 (m, 1H). La HPLC indicó 50 % (tiempo de retención = 4.48 min) & 50 % (tiempo de retención = 4.59 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (m/z): $[\text{M}+1]^+ = 620$ en el tiempo de retención = 0.84 min y 0.85 min.

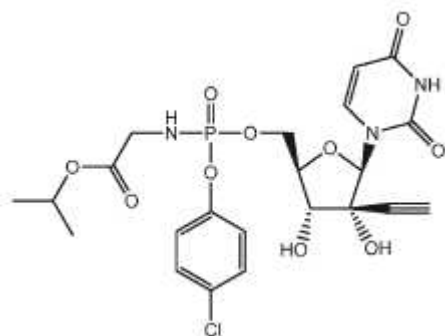
Síntesis de (2S)-bencil2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato



30 A una solución de fenil diclorofosfato (1.20 g, 4.89 mmol) en DCM seco (10 mL) a -78°C se le añadió una solución de pentafluoro fenol (0.429 g, 2.33 mmol) y Et_3N (0.618 mL, 4.89 mmol) en DCM seco (10 mL) durante un período de 15 minutos. La mezcla resultante se agitó a -78°C , durante 2 h. Se añadió clorhidrato de (S)-bencil-2-aminopropanoato (1.05 g, 4.89 mmol) en DCM (15 mL) a la mezcla de reacción a -78°C . A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et_3N (1.23 ml, 9.78 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78°C , durante 1 h, luego a 25°C , durante 2 horas. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 mL) y se extrajo con DCM (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío y se purificaron mediante cromatografía en columna instantánea para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (0.38 g, 14.5 %). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1.31 (d, $J = 7.1\text{Hz}$, 3H), 4.01-4.11 (m, 1H), 5.11 (s, 2H), 6.97-7.04 (m, 1H), 7.21-7.27 (m, 2H), 7.33 (s, 5H), 7.43-7.52 (m, 2H), 6.88-6.98 (m, 1H), 7.24-7.30 (m, 2H), 7.47-7.50 (m, 2H). ^{31}P RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) indicó una proporción ~1:1 (0.31 y 0.39 ppm) de la mezcla diastereomérica. LCMS (m/z): $[\text{M}+1]^+ = 536$ en el tiempo de retención = 1.25min.

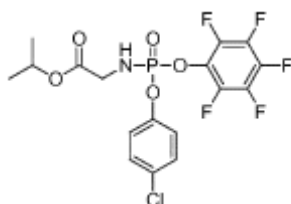
40 Ejemplo 1.6 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de isopropil 2-(((4-clorofenoxi)perfluorofenoxi)fosforil)amino)acetato (Esquema 1, Etapa 6)



5 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-
 10 diona (100 mg, 0.373 mmol) en THF (4.0 mL) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.1 mL, 1.1 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 30 minutos. A esta se le añadió una solución de isopropil 2-(((4 clorofenoxi)(per fluorofenoxi)fosforil)amino)acetato (353 mg, 0.746 mmol) en THF (2.0 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base
 15 (140 mg, 66%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 1.24 (dd, *J*₁= 1.8Hz, *J*₂=6.2Hz, 7H), 3.08-3.09 (m, 1H), 3.70-3.75 (m, 2H), 4.08-4.21 (m, 2H), 4.37-4.48 (m, 1H), 4.52-4.63 (m, 1H), 4.99-5.06 (m, 1H), 5.66 (t, *J*=8.2Hz, 1H), 6.06 (s, 1H), 7.26-7.29 (m, 2H), 7.37-7.40 (m, 2H), 7.64-7.72 (m, 1H). La HPLC indicó 58 % (tiempo de retención =3.61 min) & 39 % (tiempo de retención=3.73 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (*m/z*): [M+1]⁺ = 558 en el tiempo de retención = 0.72 min y 0.74 min.

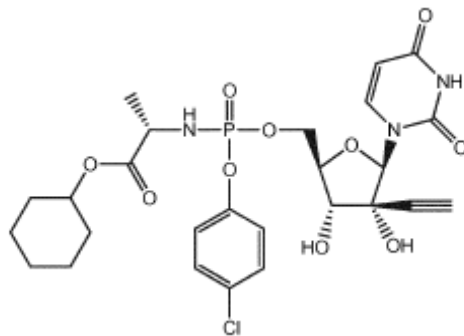
15 Síntesis de isopropil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)acetato



20 Este se sintetizó de una manera similar a la del compuesto (2S)-isopropil 2-
 ((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforilamino)propanoato. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.16 (d, *J* = 6.2Hz, 6H), 3.71 (q, *J* = 7.4Hz, 2H), 4.87 (qn, *J* = 6.2Hz, 1H), 6.76-6.84 (m, 1H), 7.28 (dd, *J*₁ = 1 Hz, *J*₂ = 8.8Hz, 2H), 7.48 (d, *J* = 8.8Hz, 2H). ³¹P RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ1.63 ppm. LCMS (*m/z*): [M+1]⁺ = 474 en el tiempo de retención = 1.20 min. HPLC (10 a 95%; 10 min) tiempo de retención = 7.25 min.

Ejemplo 1.7 (Ejemplo de referencia)

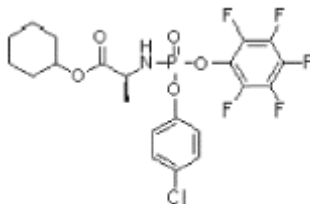
Síntesis de (2S)-ciclohexil 2-(((4-clorofenoxi)perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato (Esquema 1, Etapa 6)



25 A una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-
 diona (120 mg, 0.447 mmol) en THF (5.0 mL) se le añadió t-BuMgCl (1.0 M en solución de THF, 1.34 mL, 1,34 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C, durante 30 minutos. A esta se le añadió una solución de (2S)-ciclohexil 2-

(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato (472 mg, 0.895 mmol) en THF (2.5 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó para dar un material en bruto que se purificó por cromatografía en columna instantánea para dar una mezcla diastereomérica del compuesto base (216 mg, 78%) como un sólido de color blanco. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD): δ 1.22-1.49 (m, 9H), 1.55-1.63 (m, 1H), 1.62-1.91 (m, 4H), 3.08-3.09 (m, 1H), 3.89-3.98 (m, 1H), 4.07-4.17 (m, 2H), 4.35-4.59 (m, 2H), 4.69-4.80 (m, 1H), 5.66-5.69 (m, 1H), 6.03-6.06 (m, 1H), 7.24-7.29 (m, 2H), 7.34-7.47 (m, 2H), 7.65-7.74 (m, 1H). La HPLC indicó 55 % (tiempo de retención = 4.82 min) & 42 % (tiempo de retención = 4.90 min) de la mezcla de diastereómeros deseada. LCMS (*m/z*): [M+1]⁺ = 612 en el tiempo de retención = 0.91 min.

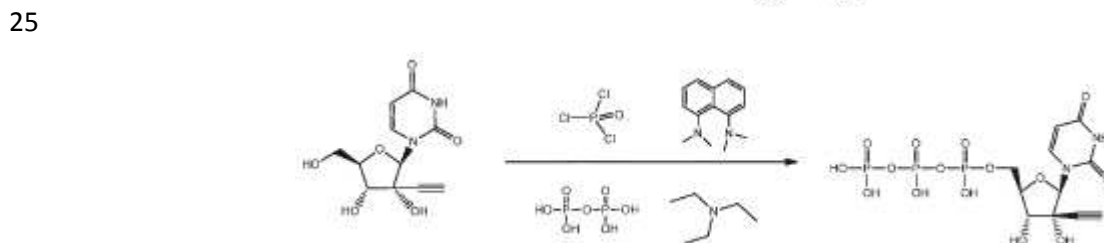
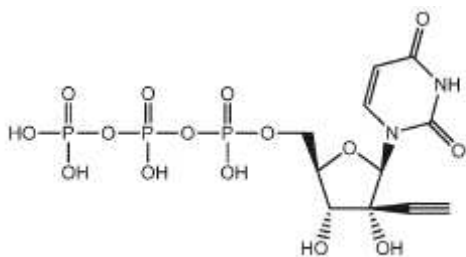
Síntesis de (2S)-ciclohexil 2-(((4-clorofenoxi)(perfluorofenoxi)fosforil)amino)propanoato



A una solución de fenil diclorofosfato (0.572 g, 2.33 mmol) en DCM seco (5 mL) a -78 °C se le añadió una solución de pentafluoro fenol (0.429 g, 2.33 mmol) y Et₃N (0.295 mL, 2.33 mmol) en DCM seco (5 mL) durante un período de 5 min. La mezcla resultante se agitó a -78 °C, durante 2 h. Se añadió clorhidrato de (S)-ciclohexil 2-aminopropanoato (0.80 g, 2.33 mmol) en DCM (5 mL) a la mezcla de reacción a -78 °C. A esta mezcla se le añadió una segunda porción de Et₃N (0.59 mL, 4.66 mmol). La mezcla de reacción resultante se agitó a -78 °C, durante 1 hora, a 0 °C, durante 1 hora, a 25 °C, durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 mL) y se extrajo con DCM (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos combinados se concentraron al vacío y se purificaron por cromatografía en columna instantánea para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (0.61 g, 49%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.35-1.43 (m, 7H), 1.53-1.57 (m, 1H), 1.73-1.81 (m, 4H), 4.02-4.09 (m, 1H), 4.70-4.75 (m, 1H), 7.26-7.33 (m, 2H), 7.40-7.44 (m, 2H). ³¹P RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) indicó una proporción ~1:1 (0.42 y 0.20 ppm) de la mezcla diastereomérica. LCMS (*m/z*): [M+1]⁺ = 527 en el tiempo de retención = 1.32 min.

Ejemplo 1.8 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de ((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrógeno trifosfato

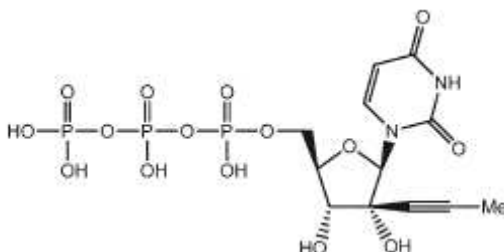


Al nucleósido de partida (10 mg, 0.037 mmol) disuelto en fosfato de trimetil (1 ml) se le añadió proton sponge® (15.98 mg, 0.075 mmol). La reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Con agitación, se añadió cloruro de fosforilo (0.031 ml, 0.336 mmol) puro. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se controló por intercambio iónico analítico por observación de la formación de monofosfonato al inactivar con agua. Después de 2 h, se añadió a la reacción una solución de pirofosfato de trietil amonio (0.204 mg, 0.373 mmol) y trietilamina (0.078 ml, 0.559 mmol) en 2 ml de DMF anhidra. La reacción se agitó durante 20 minutos a temperatura ambiente y luego se inactivó mediante la adición de 5 ml de solución de bicarbonato de trietilamonio (1 N, pH-8.5). La reacción se liofilizó a sequedad. El residuo se redisolvió en agua, se filtró y el producto se purificó por cromatografía de intercambio iónico preparativa. Se usó un gradiente de solución reguladora de bicarbonato de TEA del 0 al 50% (0.5 N) para eluir el producto deseado. (5 mg, 0.005 mmol, 13.5%). ¹H RMN (400 MHz, D₂O): δ 2.88 (s,

1H), 3.43-3.49 (m, 1H), 4.03-4.17 (m, 2H), 4.25-4.27 (m, 1H), 5.84 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5.95 (s, 1H), 7.85 (d, $J = 8$ Hz, 1H). LCMS (m/z): $[M+1]^+ = 509$.

Ejemplo 1.9

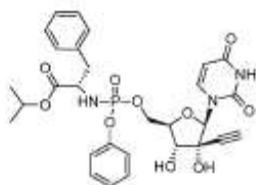
5 Síntesis de ((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3,4-dihidroxi-4-(prop-1-in-1-il)tetrahidrofuran-2-il)metil tetrahidrógeno trifosfato



10 A un matraz seco bajo argón se le añadió 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (20 mg, 0.071 mmol) y $\text{PO}(\text{OMe})_3$ (1.5 mL). La mezcla de reacción se sometió a ultrasonidos y se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos para dar una solución transparente. Bajo
 15 agitación, se añadió POCl_3 (0.026 mL, 0.283 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 minutos, luego se añadió proton sponge® (22.78 mg, 0.106 mmol). La reacción se controló por intercambio iónico analítico por observación de la formación de monofosfonato al inactivar con agua. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3.5 h, se añadió una solución premezclada de pirofosfato de tributilamonio (253 mg, 0.461 mmol) y
 20 tributilamina (0.168 mL, 0.709 mmol) en DMF (1.5 mL) y se agitó durante 10 minutos. La reacción se inactivó con bicarbonato de trietilamonio 1 N (4.93 mL, 4.93 mmol, pH 8.5). El producto en bruto se secó por congelación para dar un semisólido. El trifosfato en bruto se disolvió en 5 mL de agua y se purificó por cromatografía en columna de intercambio iónico. Se usó un gradiente de solución reguladora de bicarbonato de TEA del 0 al 50% (0.5 N) para eluir el producto deseado. El trifosfato purificado se combinó y se liofilizó para dar un sólido de producto trifosfato como sal de Et_3N 10 (15.0 mg, 13.1%). ^1H RMN (400 MHz, D_2O): δ 1.21 (t, 30H, Et_3N), 1.69 (s, 3H), 3.13 (cuarteto, 20H, Et_3N), 4.40- 4.00 (m, 4H), 5.91 (d, 1H, $J = 8.4$ Hz), 5.99 (s, 1H), 7.90 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H). ^{31}P RMN (162 MHz, D_2O): δ -10.61 (d, $J = 19.4$ Hz), -11.46 (d, $J = 19.4$ Hz). -23.20 (t, $J = 19.4$ Hz).

Ejemplo 1.10

Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-3-fenilpropanoato



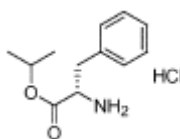
25 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (158 mg, 0.353 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (303 mg, 1.414 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.211 mL, 1.414 mmol). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base de (S)-isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (689 mg, 2.83 mmol) con trietilamina (0.394 mL, 2.83 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): $[M+1]^+ = 614.2$, tiempo de retención = 0.77, 0.79 min, mezcla -1:1 de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, $\text{CO}_2/\text{MeOH} = 70/30$. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna,

$\text{CO}_2/(\text{MeOH} + \text{DEA al } 0.1\%) = 70/30$).

Pico 1: tiempo de retención=0.98 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 28.1 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN(500MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.00 - 1.15 (m, 3 H) 1.15 - 1.26 (m, 3 H) 2.92 (dd, J=13.59, 8.22 Hz, 1 H) 2.99 - 3.14 (m, 2 H) 3.90 - 4.06 (m, 2 H) 4.11 (d, J=9.06 Hz, 1 H) 4.14 - 4.33 (m, 2 H) 4.61 (s, 1 H) 4.91 -4.96 (m, 1 H) 5.60 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.08 (s, 1 H) 7.03 - 7.42 (m, 10 H) 7.60 (d, J=8.05 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.32 (s).

Pico 2: tiempo de retención =1.90 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 23.1 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.07 (d, J=6.21 Hz, 3 H) 1.12 - 1.24 (m, 3 H) 2.89 (dd, J=13.59, 8.22 Hz, 1 H) 2.95 - 3.13 (m, 2 H) 3.97 (dt, J=8.89, 1.68 Hz, 1 H) 4.02 - 4.15 (m, 3 H) 4.24 (ddd, J=11.87, 6.33, 1.93 Hz, 1 H) 4.87 - 4.91 (m, 1 H) 5.54 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.01 (s, 1 H) 7.10 - 7.40 (m, 10 H) 7.52 - 7.63 (m, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.68 (s).

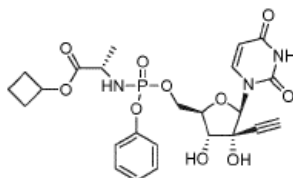
Síntesis de la sal HCl de (S) -isopropilo 2-amino-3-fenilpropanoato



Según el esquema 3 (Método 1), a una mezcla de ácido (S) -2-aminobutanoico (3.2 g, 19.37 mmol) y TMSCI (7.38 mL, 58.1 mmol) se le añadió 2-propanol (10 mL). La suspensión de color blanco se calentó a 80 °C, durante 16 h. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el solvente se eliminó a vacío para dar 4.7 g de polvo de color blanco como el compuesto base. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 208.1, tiempo de retención = 1,00 min. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.18 (d, J=6.26 Hz, 3 H) 1.25 (d, J=6.26 Hz, 3 H) 3.04 - 3.25 (m, 2 H) 4.24 (t, J=7.04 Hz, 1 H) 5.05 (dt, J=12.52, 6.26 Hz, 1 H) 7.21 - 7.46 (m, 5 H).

Ejemplo 1.11

Síntesis de (2S)-ciclobutil2-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

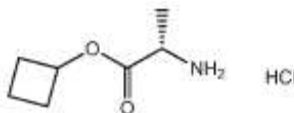


Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (200 mg, 0.746 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (639 mg, 2.98 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.446 mL, 2.98 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base de (S) -ciclobutil 2-amino-3-propanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (1.07 g, 5.97) mmol) con trietilamina (0.831 mL, 5.97 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 550.2, tiempo de retención = 0.68, 0.69 min, mezcla -1:1 de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, IA columna-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna IA, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=1.77 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 30 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.32 (d, J=7.43 Hz, 3 H), 1.58 - 1.71 (m, 1 H), 1.74 - 1.85 (m, 1 H), 1.98 - 2.13 (m, 2 H), 2.27 - 2.37 (m, 2 H), 3.07 (s, 1 H), 3.86 - 3.96 (m, 1 H), 4.07 - 4.13 (m, 1 H), 4.16 (d, J=9.40 Hz, 1 H), 4.36 - 4.41 (m, 1 H), 4.53 - 4.58 (m, 1 H), 4.91 - 5.00 (m, 1 H), 5.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 7.18 - 7.25 (m, 3 H), 7.38 (t, J=8.22 Hz, 2 H) 7.67 (d, J=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.80 (s).

Pico 2: tiempo de retención =2.46 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 29 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 1.35 (d, J=7.43 Hz, 3 H), 1.58 - 1.70 (m, 1 H), 1.74 - 1.84 (m, 1 H), 1.99 - 2.11 (m, 2 H), 2.27 - 2.35 (m, 2 H), 3.08 (s, 1 H), 3.89 - 3.98 (m, 1 H), 4.05 - 4.10 (m, 1 H), 4.16 (d, J=9.00 Hz, 1 H), 4.33 - 4.39 (m, 1 H), 4.46 - 4.52 (m, 1 H), 4.91 - 4.99 (m, 1 H), 5.61 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.04 (s, 1 H), 7.18 - 7.29 (m, 3 H), 7.38 (t, J=7.80 Hz, 2 H), 7.65 (d, J=7.83 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.70 (s).

Síntesis de sal HCl de (S) -ciclobutil 2-amino-3-propanoato (Esquema 3, Método 2)

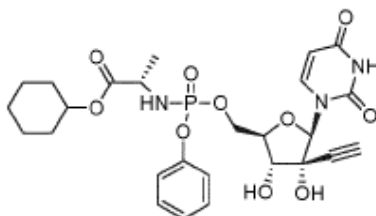


10 Etapa 1. A una solución de N-Boc-L-alanina (5.0 g, 26.4 mmol), ciclobutanol (2.06 g, 28.5 mmol) y DMAP (0.323 g, 2.64 mmol) en DCM (50 mL) se le añadió N1-((etilimino) metileno)-N3, N3-dimetilpropano-1,3-diamina clorhidrato (EDCI) (5.07 g, 26.4 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se eliminó y el residuo se disolvió en EtOAc/Heptano (2:1100 ml), se lavó con agua (50 ml), bicarbonato de sodio saturado (50 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para obtener un aceite incoloro (5.95 g, 93%). LCMS (*m/z*): [M+]⁺=244.2, 188.1.

15 Etapa 2. A una solución del aceite incoloro preparado anteriormente (5.75 g, 23.63 mmol) en Et₂O (40 ml) se le añadió HCl 4 M en dioxano (30 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se eliminó por completo para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (4.2 g, 99%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 1.39 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.57-1.69 (m, 1 H), 1.73-1.83 (m, 1 H), 1.99-2.14 (m, 2 H), 2.26-2.36 (m, 2 H), 4.01-4.13 (m, 1 H), 5.01 (quin, J=7.40 Hz, 1 H), 8.37 (br. s., 2 H).

20 Ejemplo 1.12

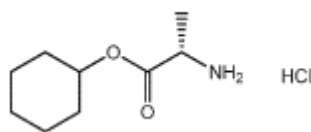
Síntesis de (2S)-ciclohexil2-(((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato



25 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (200 mg, 0.746 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (639 mg, 2.98 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.446 mL, 2.98 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de 2-amino-propanoato de (S) -ciclohexilo en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster

30 (1.24 g, 5.97 mmol) con trietilamina (0.831 ml, 5.97 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un sólido de color blanco (170 mg, 38% de rendimiento). LCMS (*m/z*): [M+]⁺ = 578,2, tiempo de retención = 0.76, 0.77 min, mezcla 1:1 de dos diastereómeros. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm: 1.25-1.58 (m, 9 H), 1.67-1.87 (m, 4 H), 3.07 (s, un diastereómero), 3.08 (s, el otro diastereómero), 3.87-3.98 (m, 1 H), 4.04-4.19 (m, 2 H), 4.31-4.43 (m, 1 H), 4.45-4.59 (m, 1 H), 4.69-4.78 (m, 1 H), 5.59-5.65 (m, 1 H), 6.04 (s, un diastereómero), 6.06 (s, el otro diastereómero), 7.17-7.29 (m, 3 H), 7.38 (t, J=7.80 Hz, 2 H), 7.63-7.69 (m, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.76 (s), 3.88 (s).

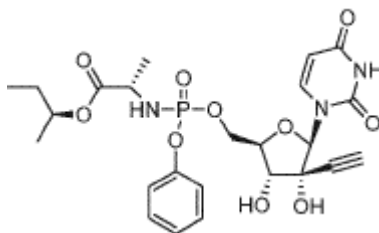
Síntesis de sal HCl de (S) -ciclohexil 2-amino-propanoato



El clorhidrato de éster de aminoácido deseado se preparó según el esquema 3 (Método 2) a partir de N-Boc-L-alanina y ciclohexanol. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 172.0, tiempo de retención = 0.23 min.

Ejemplo 1.13

- 5 Síntesis de (2S)-(S)-sec-butil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

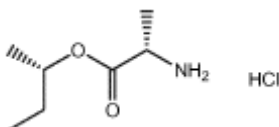


- 10 El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba a partir del mismo nucleósido original y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552.2, tiempo de retención = 0.69, 0.71 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

- 15 Pico 1: tiempo de retención=1.61 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 48 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.89 (t, J=7.43 Hz, 3 H), 1.20 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 1.33 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.52-1.64 (m, 2 H), 3.06 (s, 1 H), 3.87-3.96 (m, 1 H), 4.06-4.13 (m, 1 H), 4.16 (d, J=9.78 Hz, 1 H), 4.36-4.42 (m, 1 H), 4.53-4.58 (m, 1 H), 4.79-4.83 (m, 1 H), 5.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 7.20 (t, J=7.40 Hz, 1 H), 7.24 (d, J=7.83 Hz, 2 H), 7.37 (t, J=7.80 Hz, 2 H), 7.66 (d, J=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.88 (s).

- 20 Pico 2: tiempo de retención =2.86 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 49 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.89 (t, J=7.43 Hz, 3 H), 1.19 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 1.37 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.581-1.63 (m, 2 H), 3.08 (s, 1 H), 3.90-3.98 (m, 1 H), 4.05-4.10 (m, 1 H), 4.15 (d, J=8.61 Hz, 1 H), 4.32-4.40 (m, 1 H), 4.46-4.52 (m, 1 H), 4.78-4.83 (m, 1 H), 5.61 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.03 (s, 1 H), 7.20 (d, J=7.43 Hz, 1 H), 7.28 (d, J=7.43 Hz, 2 H), 7.37 (t, J=8.20 Hz, 2 H), 7.65 (d, J=7.83 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.85 (s).

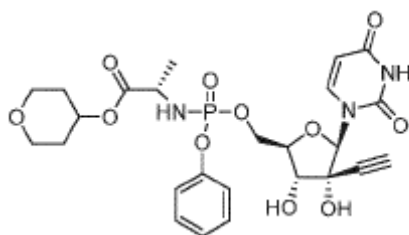
- 25 Síntesis de sal HCl de (S)-(S) -sec-butilo 2-aminopropanoato



El clorhidrato de éster de aminoácido deseado se preparó según el esquema 3 (Método 2) a partir de N-Boc-L-alanina y S (+)-2-butanol. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 0.86 (t, J=7.80 Hz, 3 H), 1.21 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 1.42 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.57 (quin, J=6.70 Hz, 2 H), 4.00 (q, J=7.43 Hz, 1 H), 4.78-4.89 (m, 1 H), 8.62 (br. s., 3 H).

30 Ejemplo 1.14

Síntesis de (2S)-tetrahidro-2H-pyran-4-il 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

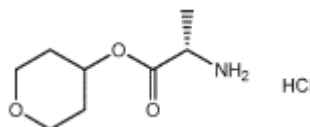


El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba a partir del mismo nucleósido original y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 580.2, tiempo de retención = 0.56, 0.58 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/EtOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(EtOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=2.05 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 40 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 1.35 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.58-1.69 (m, 2 H), 1.86-1.94 (m, 2 H), 3.06 (s, 1 H), 3.49-3.57 (m, 2 H), 3.83-3.90 (m, 2 H), 3.91-3.99 (m, 1 H), 4.08-4.12 (m, 1 H), 4.16 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 4.36-4.42 (m, 1 H), 4.52-4.59 (m, 1 H), 4.91-4.98 (m, 1 H), 5.64 (d, J=7.83 Hz, 1 H), 6.06 (s, 1 H), 7.18-7.27 (m, 3 H), 7.38 (t, J=7.80 Hz, 2 H), 7.66 (d, J=7.83 Hz, 1H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.84 (s).

Pico 2: tiempo de retención =2.57 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 40 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 1.37 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 1.57-1.68 (m, 2 H), 1.85-1.94 (m, 2 H), 3.08 (s, 1 H), 3.48-3.57 (m, 2 H), 3.83-3.90 (m, 2 H), 3.93-4.01 (m, 1 H), 4.05-4.11 (m, 1 H), 4.14 (d, J=9.39 Hz, 1 H), 4.33-4.40 (m, 1 H), 4.45-4.52 (m, 1 H), 4.90-4.96 (m, 1 H), 5.61 (d, J=8.61 Hz, 1 H), 6.03 (s, 1 H), 7.18-7.29 (m, 3 H), 7.38 (t, J=8.20 Hz, 2 H), 7.65 (d, J=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.73 (s).

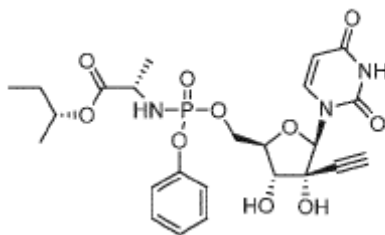
Síntesis de sal HCl de (S) -tetrahidro-2H-piran-4-il 2-aminopropanoato



El clorhidrato de éster de aminoácido deseado se preparó según el esquema 3 (Método 2) a partir de N-Boc-L-alanina y tetrahidro-2H-piran-4-ol. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 174.0, tiempo de retención = 0.22 min.

Ejemplo 1.15

Síntesis de (2S)-(R)-sec-butil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

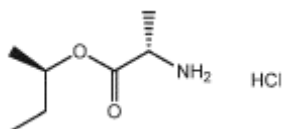


El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba a partir del mismo nucleósido original y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552.2, tiempo de retención = 0.69, 0.70 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=1.53 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 48 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.90 (t, J=7.43 Hz, 3 H), 1.20 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 1.33 (dd, J=7.24, 0.98 Hz, 3 H), 1.52-1.65 (m, 2 H), 3.07 (s, 1 H), 3.88-3.97 (m, 1 H), 4.08-4.12 (m, 1 H), 4.15 (d, J=9.39 Hz, 1 H), 4.36-4.42 (m, 1 H), 4.53-4.59 (m, 1 H), 4.79-4.83 (m, 1 H), 5.64 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.05 (s, 1 H), 7.20 (t, J=7.00 Hz, 1 H), 7.26 (d, J=9.40 Hz, 2 H), 7.38 (t, J=9.00 Hz, 2 H), 7.67 (d, J=7.83 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.88 (s).

Pico 2: tiempo de retención =2.43 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 47 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.88 (t, *J*=7.43 Hz, 3 H), 1.19 (d, *J*=6.26 Hz, 3 H), 1.36 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 1.52-1.63 (m, 2 H), 3.08 (s, 1 H), 3.90-3.98 (m, 1 H), 4.05-4.10 (m, 1 H), 4.15 (d, *J*=9.00 Hz, 1 H), 4.33-4.39 (m, 1 H), 4.46-4.52 (m, 1 H), 4.78-4.83 (m, 1 H), 5.61 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H), 6.03 (s, 1 H), 7.20 (t, *J*=7.40 Hz, 1 H), 7.27 (d, *J*=8.22 Hz, 2 H), 7.37 (t, *J*=7.40 Hz, 2 H), 7.65 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.78 (s).

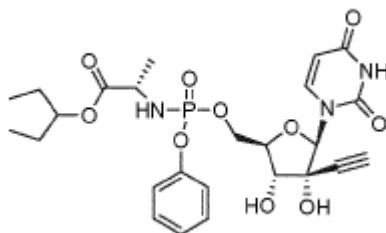
Síntesis de sal HCl de (S)-(R)-sec-butil 2-aminopropanoato



El clorhidrato de éster de aminoácido deseado se preparó según el esquema 3 (Método 2) a partir de N-Boc-L-alanina y R (-)-2-butanol. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 0.86 (t, *J*=7.24 Hz, 3 H), 1.19 (d, *J*=5.87 Hz, 3 H), 1.41 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 1.56 (quin, *J*=7.14 Hz, 2 H), 4.00 (q, *J*=7.04 Hz, 1 H), 4.83 (sxt, *J*=6.18 Hz, 1 H), 8.64 (br. s., 3 H).

Ejemplo 1.16

Síntesis de (2S)-pentan-3-il-2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

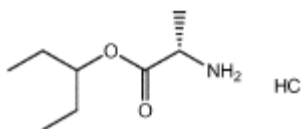


El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba con el mismo nucleósido original y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+]⁺ = 566.2, tiempo de retención = 0.75, 0.76 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/EtOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(EtOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=1.58 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 27 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.88 (td, *J*=7.14, 4.89 Hz, 6 H), 1.36 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 1.51-1.66 (m, 4 H), 3.06 (s, 1 H), 3.91-4.00 (m, 1 H), 4.07-4.13 (m, 1 H), 4.16 (d, *J*=9.00 Hz, 1 H), 4.36-4.43 (m, 1 H), 4.52-4.59 (m, 1 H), 4.72-4.79 (m, 1 H), 5.64 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H), 6.06 (s, 1 H), 7.17-7.27 (m, 3 H), 7.37 (t, *J*=7.40 Hz, 2 H), 7.66 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.88 (s).

Pico 2: tiempo de retención =2.31 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 32 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 0.87 (td, *J*=7.14, 4.89 Hz, 6 H), 1.39 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 1.49-1.65 (m, 4 H), 3.07 (s, 1 H), 3.93-4.02 (m, 1 H), 4.05-4.11 (m, 1 H), 4.16 (d, *J*=8.61 Hz, 1 H), 4.33-4.40 (m, 1 H), 4.46-4.52 (m, 1 H), 4.70-4.77 (m, 1 H), 5.62 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H), 6.04(s, 1 H), 7.17-7.29 (m, 3 H), 7.37 (t, *J*=8.20 Hz, 2 H), 7.66 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.78 (s).

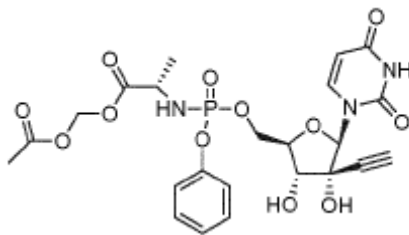
Síntesis de sal HCL de (S)-pentan-3-il 2-aminopropanoato



El clorhidrato de éster de aminoácido deseado se preparó según el esquema 3 (Método 2) a partir de N-Boc-L-alanina y pentan-3-ol. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 0.80-0.87 (m, 6 H), 1.44 (d, *J*=7.43 Hz, 3 H), 1.47-1.65 (m, 4 H), 4.02 (q, *J*=7.30 Hz, 1 H), 4.74 (tt, *J*=7.39, 4.94 Hz, 1 H), 8.71 (br. s., 3 H).

Ejemplo 1.17

Síntesis de (2S)-acetoximetil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

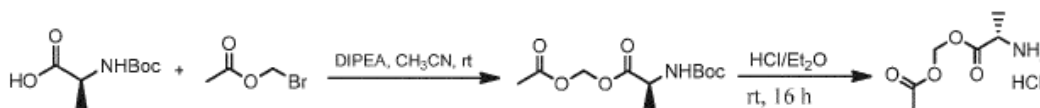
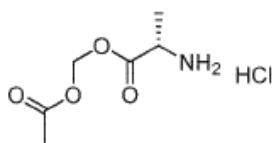


5 El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba con el mismo nucleósido original y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 568.1, tiempo de retención = 0.54, 0.56 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, IA columna-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna IA, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

10 Pico 1: tiempo de retención=1.57 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 5 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm: 1.38 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 2.09 (s, 3 H), 2.63 (s, 1 H), 4.04-4.23 (m, 3 H), 4.39-4.53 (m, 2 H), 5.65 (d, J=7.43 Hz, 1 H), 5.74 (s, 2 H), 6.02 (s, 1 H), 7.14-7.25 (m, 3 H) 7.30-7.37 (m, 2 H) 7.43 (d, J=7.04 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 3.0 (s).

15 Pico 2: tiempo de retención =1.97 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 6 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm: 1.39 (d, J=6.26 Hz, 3 H), 2.11 (s, 3 H), 2.62 (s, 1 H), 3.97-4.32 (m, 3 H), 4.35-4.52 (m, 2 H), 5.70 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 5.76 (s, 2 H), 5.98 (s, 1 H), 7.14-7.25 (m, 3 H), 7.30-7.38 (m, 2 H), 7.52 (d, J=7.10 Hz, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 2.73 (s).

Síntesis de sal HCL de (S)-acetoximetil 2-aminopropanoato

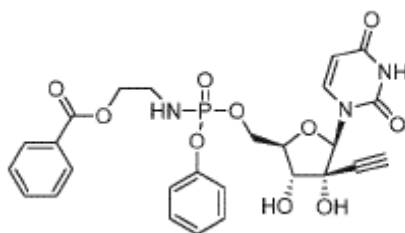


20 A una solución de N-Boc-L-alanina (3.32 g, 17.55 mmol) y DIPEA (4.58 ml, 26.3 mmol) en CH₃CN (100 ml) se le añadió acetato de bromometilo (2.07 ml, 21.06 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El solvente se eliminó y el residuo en bruto se purificó mediante columna instantánea eluyendo con 10-40% de EtOAc/hexanos para proporcionar un aceite incoloro viscoso (4.30 g, 94%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 262.1, tiempo de retención = 0.68 min.

25 A una solución del aceite incoloro preparado anteriormente (4.30 g, 16.46 mmol) en EtOAc (20 ml) se le añadió HCl 4 M en dioxano (20 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó luego a temperatura ambiente, durante 5 h. El solvente se eliminó por completo para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (3.08 g, 95%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 1.42 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 2.09 (s, 3 H), 4.12 (q, J=7.40 Hz, 1 H), 5.75 (d, J=5.90 Hz, 1 H), 5.79 (d, J=5.87 Hz, 1 H), 8.73 (br. s., 3 H).

Ejemplo 1.18 (Ejemplo de referencia)

30 Síntesis de 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)etil benzoato



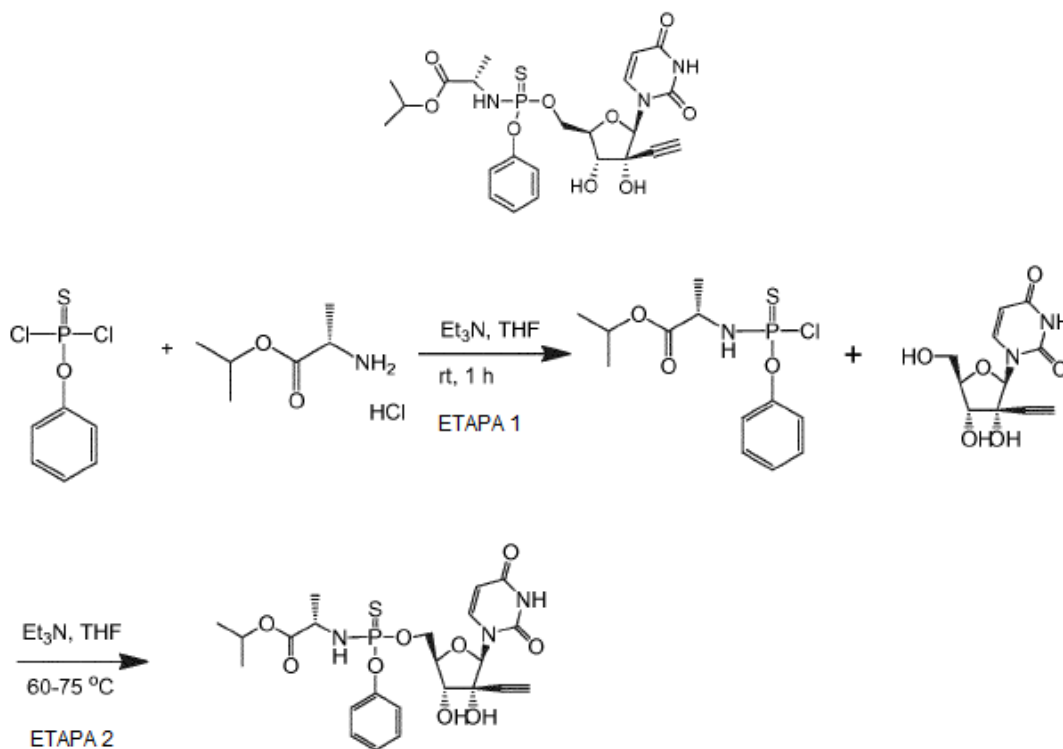
5 El compuesto se preparó con el mismo procedimiento como arriba con el mismo nucleósido precursor y el éster de aminoácido apropiado de acuerdo con lo anterior. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 572.2, tiempo de retención = 0.66, 0.68 min (~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

10 Pico 1: tiempo de retención=1.27 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 52 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.06 (s, 1 H), 3.39 (dt, J=12.52, 5.48 Hz, 2 H), 4.04-4.09 (m, 1 H), 4.15 (d, J=9.00 Hz, 1 H), 4.31 (t, J=5.28 Hz, 2 H), 4.33-4.38 (m, 1 H), 4.46-4.51 (m, 1 H), 5.55 (d, J=7.83 Hz, 1 H), 6.00 (s, 1 H), 7.16 (t, J=7.00 Hz, 1 H), 7.23 (d, J=8.22 Hz, 2 H), 7.31 (t, J=7.40 Hz, 2 H), 7.45 (t, J=7.40 Hz, 2 H), 7.56-7.61 (m, 1 H), 7.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 8.01-8.05 (m, 2 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 5.66 (s).

15 Pico 2: tiempo de retención =2.27 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 51 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 3.05 (s, 1 H) 3.36-3.42 (m, 2 H) 4.02-4.07 (m, 1 H) 4.12 (d, J=8.61 Hz, 1 H) 4.30-4.37 (m, 3 H) 4.46-4.51 (m, 1 H) 5.57 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.01 (s, 1 H) 7.15 (t, J=7.80 Hz, 1 H) 7.23 (d, J=8.22 Hz, 2 H) 7.30 (t, J=7.00 Hz, 2 H) 7.46 (t, J=7.80 Hz, 2 H) 7.56-7.61 (m, 1 H) 7.61 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 8.01-8.05 (m, 2 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 5.60 (s).

Ejemplo 1.19 (Ejemplo de referencia)

20 Síntesis de (2S)-isopropil2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosfortioil)amino)propanoato



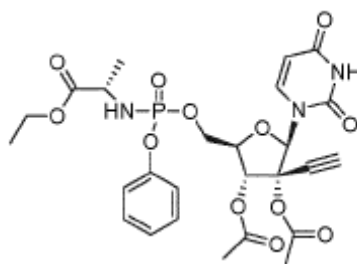
25 Etapa 1. Se añadió una solución de trietilamina (0.86 ml, 6.17 mmol) en THF (2 ml) en una mezcla de clorhidrato de (S) -isopropil 2-aminopropanoato (517 mg, 3.08 mmol) y fosforodichloridato de O-fenilo (700 mg, 3.08 mmol) en THF (12 ml) a 0 °C, durante 5 min. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C, durante 1 h, luego se calentó lentamente a temperatura ambiente. Después de 1 hora de la agitación a temperatura ambiente, se eliminó el solvente y se

añadieron 15 ml de THF. El precipitado resultante se separó por filtración y el filtrado se concentró para dar un producto en bruto. Este se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (10-40% de EtOAc en heptano) para proporcionar un aceite de color naranja claro (260 mg, 26%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 322.0, 324.0.

5 Etapa 2. A la solución del intermedio preparado anteriormente (130 mg, 0.404 mmol) y trietilamina (0.084 ml, 0.606 mmol) en THF (3 mL) se le añadió el nucleósido, 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (108 mg, 0.404 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 60 °C, durante 16 h, luego a 75 °C, durante 6 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna instantánea sobre gel de sílice (0-8% de MeOH en DCM). Las fracciones que contienen el producto deseado se combinaron y se concentraron. El residuo resultante se purificó mediante otra cromatografía en columna instantánea sobre gel de sílice (EtOAc al 40-80% en heptano) para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (10 mg), que era una mezcla de dos diastereómeros. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 554.2, ~1:1 mezcla de dos diastereómeros (tiempo de retención = 0.82, 0.83 min). ¹H RMN (400 MHz, METANOL-*d*4) δ ppm: 1.21-1.26 (m, 6 H), 1.31-1.39 (m, 3 H), 3.06 (s, un diastereómero) 3.07 (s, el otro diastereómero), 4.02-4.14 (m, 2 H), 4.15-4.23 (m, 1 H), 4.27-4.41 (m, 1 H), 4.45-4.54 (m, 1 H), 4.95-5.02 (m, 1 H), 5.54-5.62 (m, 1 H), 6.04 (s, un diastereómero) 6.07 (s, el otro diastereómero), 7.15-7.21 (m, 1 H), 7.23-7.30 (m, 2 H), 7.31-7.38 (m, 2 H), 7.76 (m, 1 H); ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*4) δ ppm 68.28 (s), 68.48 (s).

Ejemplo 1.20 (Ejemplo de referencia)

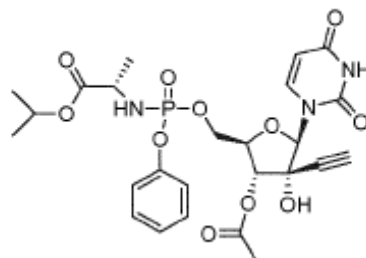
Síntesis de (2R,3R,4R,5R)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-etinil-5-((((S)-1-isopropoxi-1-oxopropan-2-il)amino)(fenoxi)fosforil)oximetil)tetrahidrofuran-3,4-diil diacetato



20 A una solución agitada de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato (62 mg, 0.116 mmol) en piridina (2 mL) se le añadió anhídrido acético (14 ul) en 0.2 ml de DCM a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C, durante 5 h, luego a temperatura ambiente durante 14 h. La reacción se inactivó con MeOH (0.5 ml) y se eliminó el solvente. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50-80% en heptano) para obtener un sólido de color blanco como una mezcla de productos de monoacetato y diacetato, que se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase reversa (NH₄OAc como solución reguladora) para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (9 mg, 12%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 622.2, tiempo de retención = 0.81 min, ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm: 1.23 (d, *J*=2.74 Hz, 3 H), 1.25 (d, *J*=2.74 Hz, 3 H), 1.38 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 2.12 (s, 3 H), 2.14 (s, 3 H), 2.77 (s, 1 H), 3.73 (t, *J*=10.17 Hz, 1 H), 3.94-4.04 (m, 1 H), 4.22-4.27 (m, 1 H), 4.42-4.49 (m, 2 H), 4.98-5.06 (m, 1 H), 5.58 (d, *J*=3.52 Hz, 1 H), 5.67 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H), 6.35 (s, 1 H), 7.16-7.25 (m, 3 H), 7.31-7.37 (m, 2 H), 7.77 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 3.0 (s).

Ejemplo 1.21 (Ejemplo de referencia)

35 Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-3-acetoxi-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-4-hidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

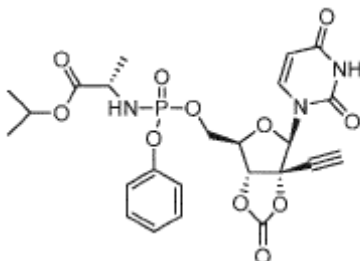


A una solución agitada de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato (62 mg, 0.116 mmol) en piridina (2 mL) se le añadió anhídrido acético (14 ul) en 0.2 ml de DCM a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C, durante 5 h, luego

a temperatura ambiente durante 14 h. Se inactivó con MeOH (0.5 ml) y se eliminó el solvente. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50-80% en heptano) para obtener un sólido de color blanco como una mezcla de productos de monoacetato y diacetato, que se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase reversa (NH₄OAc como solución reguladora) para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (36 mg, 52%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 580.2, tiempo de retención = 0.73 min, ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm: 1.24 (d, J=3.13 Hz, 3 H) 1.26 (d, J=3.13 Hz, 3 H) 1.39 (d, J=7.00 Hz, 3 H), 2.21 (s, 3 H), 2.65 (s, 1 H), 3.72-3.82 (m, 1 H), 3.94-4.04 (m, 1 H), 4.29-4.40 (m, 2 H), 4.44-4.50 (m, 1 H), 4.99-5.07 (m, 1 H), 5.34 (d, J=5.48 Hz, 1 H), 5.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.01 (s, 1 H), 7.16-7.26 (m, 3 H), 7.32-7.37 (m, 2 H), 7.67 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 8.57 (br. s, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 2.7 (s).

10 Ejemplo 1.22 (Ejemplo de referencia)

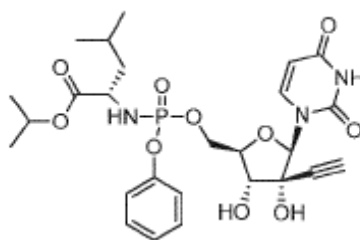
Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((3aR,4R,6R,6aR)-6-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-6a-etinil-2-oxotetrahidrofuro[3,4-d][1,3]dioxol-4-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



A una solución agitada de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino) propanoato (27 mg, 0.05 mmol) en DMF (1 mL) se le añadió carbonildiimidazol (20 mg, 0.125 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 8 h. La DMF se eliminó a alto vacío sin calentamiento. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (EtOAc al 50-80% en heptano) para obtener el producto deseado como un sólido de color blanco (24 mg, 82%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 564.1, tiempo de retención = 0.77 min, ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm: 1.22-1.26 (m, 6 H), 1.37 (d, J=7.04 Hz, 3 H), 3.83 (s, 1 H), 3.89-3.98 (m, 1 H), 4.42-4.54 (m, 4 H), 4.95-5.03 (m, 1 H), 5.31 (d, J=4.30 Hz, 1 H), 5.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H), 6.21 (s, 1 H), 7.19-7.28 (m, 3 H), 7.38 (t, J=7.80 Hz, 2 H), 7.59 (d, J=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 2.58 (s).

Ejemplo 1.23

Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-4-metilpentanoato



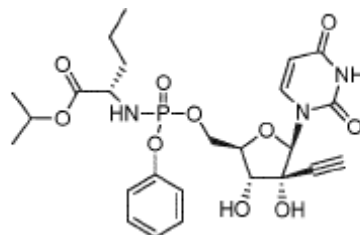
Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (200 mg, 0.746 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (639 mg, 2.98 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.446 mL, 2.98 mmol). Esta se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base de (S)-isopropil 2-amino-4-metilpentanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl de aminoéster (1407 mg, 6.71 mmol) con trietilamina (0.935 mL, 6.71 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-2 min, 100% de DCM, 2-10 min, 0-5% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 580.2, tiempo de retención = 0.78, 0.79 min, ~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/EtOH = 75/25. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(EtOH + DEA al 0.1%) = 75/25).

Pico 1: tiempo de retención=2.56 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 36.7 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.89 (br. s., 8 H) 1.23 (br. s., 11 H) 2.56 (br. s., 1 H) 3.92 (br. s., 1 H) 4.15 (br. s., 2 H) 4.42 (br. s., 1 H) 5.00 (d, *J*=5.48 Hz, 1 H) 5.63 (br. s., 1 H) 6.01 (br. s., 1 H) 7.23 (br. s., 4 H) 7.32 (br. s., 4 H). ³¹P RMN (202 MHz, MD₃OD) δ ppm 4.13 (s).

- 5 Pico 2: tiempo de retención =4.07 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 39.2 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.81-1.00 (m, 8 H) 1.25 (br. s., 9 H) 2.58 (d, *J*=4.30 Hz, 1 H) 3.55 (br. s., 1 H) 3.88 (br. s., 1 H) 4.09-4.52 (m, 5 H) 5.02 (d, *J*=5.09 Hz, 1 H) 5.63-5.78 (m, 1 H) 5.98 (br. s., 1 H) 7.22 (br. s., 2 H) 7.34 (d, *J*=8.22 Hz, 3 H) 7.47-7.59 (m, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 4.06 (s).

10 Ejemplo 1.24

Síntesis de (2S)-isopropil2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)pentanoato



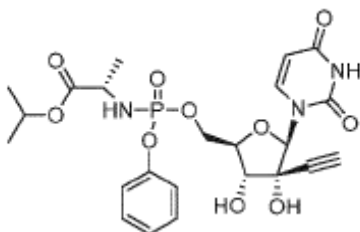
- 15 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (479 mg, 2.24 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.334 mL, 2.24 mmol). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de 2-aminopentanoato de (S) -isopropilo en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (985 mg, 5.03 mmol) con trietilamina (0.702 mL, 5.03 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-2 min, 100% de DCM, 1-10 min, 0-5% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+]⁺ = 566.2, tiempo de retención = 0.75, 0.76 min, mezcla -1:1 de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/EtOH = 75/25. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(EtOH + DEA al 0.1%) = 75/25).

- 30 Pico 1: tiempo de retención=1.50 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 28.5 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 0.89 (t, *J*=7.24 Hz, 4 H) 1.12-1.41 (m, 11 H) 2.56 (s, 1 H) 3.64 (t, *J*=10.37 Hz, 1 H) 3.86-4.01 (m, 1 H) 4.16 (br. s., 2 H) 4.42 (t, *J*=8.41 Hz, 3 H) 4.92-5.10 (m, 1 H) 5.62 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H) 6.01 (s, 1 H) 7.14-7.25 (m, 3 H) 7.31-7.43 (m, 3 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 4.17 (s).

- 35 Pico 2: tiempo de retención =2.89 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 24.3 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, <cdcl3>) δ ppm 0.76-0.97 (m, 3 H) 1.25 (d, *J*=6.26 Hz, 9 H) 1.64-1.77 (m, 2 H) 2.58 (s, 1 H) 3.49-3.71 (m, 1 H) 3.78-3.97 (m, 1 H) 4.05-4.53 (m, 6 H) 4.90-5.12 (m, 1 H) 5.63-5.79 (m, 1 H) 5.98 (s, 1 H) 7.22 (d, *J*=8.61 Hz, 4 H) 7.35 (s, 2 H) 7.45-7.56 (m, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 4.13 (s).

Ejemplo 1.25

- 40 Síntesis de (2S)-isopropil2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



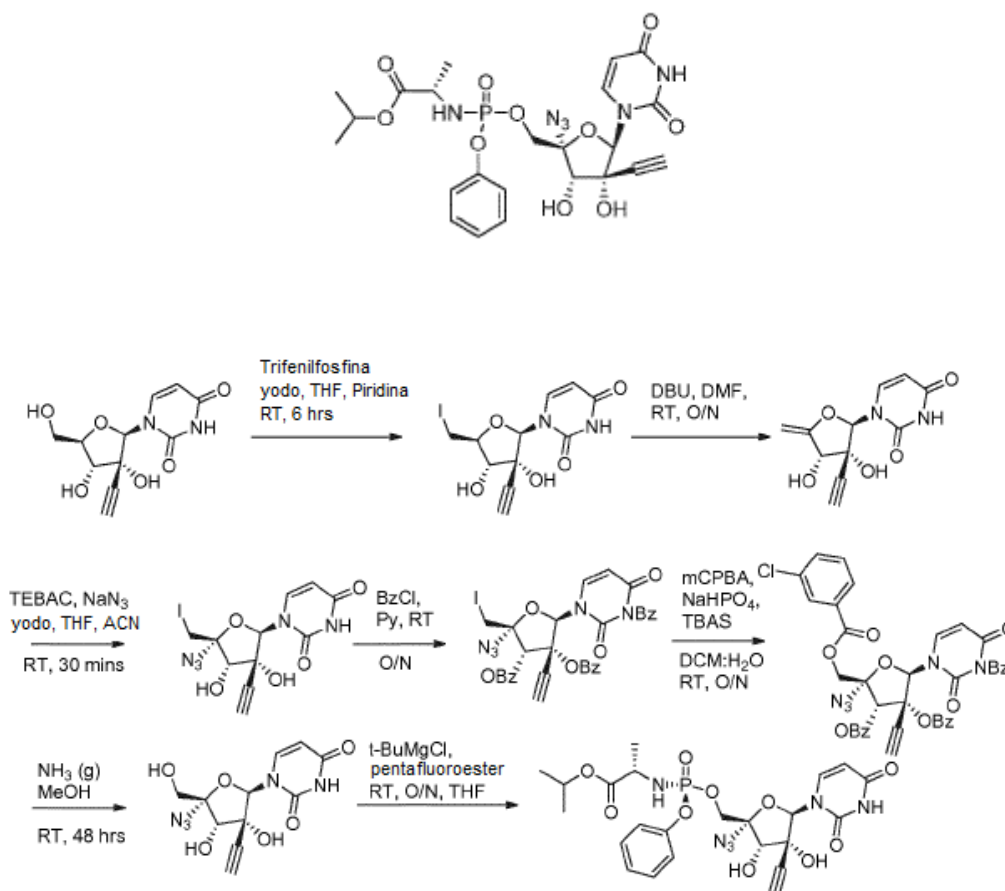
Según el esquema 1 (etapa 6), se añadió cloruro de tert-butilmagnesio (0.267 mL, 0.267 mmol, 1M en THF) a una suspensión de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (34 mg, 0.127 mmol) en THF anhidro (0.300 mL) a 0 °C bajo Ar. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de enfriar a 5 °C. A continuación, se añadió a la mezcla de reacción una solución de ((2S)-isopropil 2-(((perfluorofenoxi)(fenoxi) fosforil)amino)propanoato (69.0 mg, 0.152 mmol) en THF (0.200 mL). La mezcla de reacción se agitó a 5 °C, durante la noche. La reacción se inactivó luego con una solución de ácido acético (0.022 mL, 0.380 mmol) en MeOH (5 mL) y se concentró. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-2 min, 100% de DCM, 1-10 min, 0-5% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 566.2, tiempo de retención = 0.65, 0.66 min, ~ 1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/EtOH = 75/25. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(EtOH + DEA al 0.1%) = 75/25).

Pico 1: tiempo de retención=1.63 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 7.9 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, <cd3od>) δ ppm 1.22 (dd, J=6.26, 4.30 Hz, 7 H) 1.29-1.33 (m, 3 H) 3.89 (dd, J=9.00, 7.43 Hz, 1 H) 4.03-4.21 (m, 2 H) 4.54 (dd, J=5.09, 1.96 Hz, 1 H) 4.93-5.04 (m, 1 H) 5.63 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.05 (s, 1 H) 7.13-7.29 (m, 3 H) 7.30-7.45 (m, 2 H) 7.66 (d, J=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.88 (s).

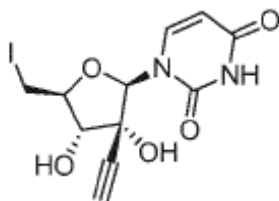
Pico 2: tiempo de retención =3.11 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 6.4 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, <cd3od>) δ ppm 1.21 (dd, J=6.26, 1.57 Hz, 6 H) 1.34 (d, J=7.04 Hz, 3 H) 3.07 (s, 1 H) 3.84-3.97 (m, 1 H) 4.01-4.22 (m, 2 H) 4.30-4.41 (m, 1 H) 4.43-4.55 (m, 1 H) 4.92-5.01 (m, 2 H) 5.60 (d, J=7.83 Hz, 1 H) 6.03 (s, 1 H) 7.14-7.30 (m, 3 H) 7.31-7.43 (m, 2 H) 7.64 (d, J=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.78 (s).

Ejemplo 1.26 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de ((2S)-isopropil2-(((2R,3S,4R,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato

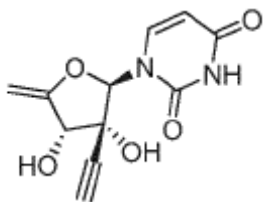


Etapa 1. Síntesis de 1-((2R,3R,4R,5S)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona



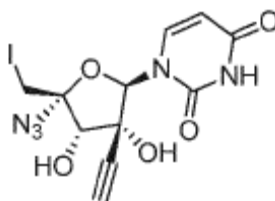
Se añadió una solución de yodo (523 mg, 2.061 mmol) en 1 mL de THF a una solución de trifetilfosfina (880 mg, 3.36 mmol) en 3 ml de THF a temperatura ambiente. Después de unos minutos, se formó una suspensión sólida. A esta se le añadió una solución de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (500 mg, 1.864 mmol) en piridina (8 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente hasta que LCMS mostró aproximadamente 70% de finalización de la reacción. En un vial separado, se mezclaron más yodo (523 mg, 2.061 mmol) y trifetilfosfina (880 mg, 3.36 mmol) según el procedimiento anterior y esta vez la suspensión se añadió a la mezcla de reacción y se agitó durante otras 4 h. La mezcla de reacción se inactivó luego con MeOH (10 mL), se agitó durante 20 minutos y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-2 mins: 100% de DCM, 2-20 minutos: 0%-10% de MeOH/DCM) para dar el compuesto base (533 mg, 1.410 mmol, 76% de rendimiento) como un sólido de color amarillo pálido. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 378.9, tiempo de retención = 0.44 min). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.11 (s, 1 H) 3.46-3.57 (m, 1 H) 3.62-3.75 (m, 2 H) 3.92 (d, J=7.83 Hz, 1 H) 5.73 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.03 (s, 1 H) 7.78 (d, J=8.22 Hz, 1 H)

Etapa 2. Síntesis de 1-((2R,3R,4S)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-metilenotetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona



Se añadió DBU (1.10 mL, 7.05 mmol) a una solución de 1-((2R,3R,4R,5S)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (533 mg, 1.410 mmol) en DMF (7 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró usando velocidad de vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0-2 min: 100% de DCM, 2-20 min: 0%-10% de MeOH/DCM) para dar el compuesto base (440 mg, 1.759 mmol, 125% de rendimiento) como un aceite de color amarillo. Nota: La contaminación DBU parecía estar presente, lo que se llevó a cabo en la siguiente etapa. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 378,9, tiempo de retención = 0.44 min). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.15 (s, 1 H) 4.39 (d, J=1.56 Hz, 1 H) 4.58 (t, J=1.96 Hz, 1 H) 4.67-4.74 (m, 1 H) 5.74 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.17 (s, 1 H) 7.48 (d, J=8.22 Hz, 1 H).

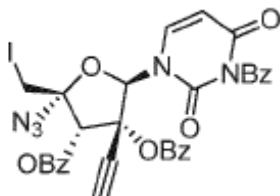
Etapa 3. Síntesis de 1-((2R,3R,4S,5S)-5-azido-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona



Se añadió azida sódica (249 mg, 3.84 mmol) a una solución de cloruro de trietilbencilamonio (874 mg, 3.84 mmol) en ACN (4 mL) y la mezcla se agitó durante 30 minutos. Se formó una suspensión y la solución se pasó a un filtro de jeringa en una suspensión de 1-((2R,3R,4S)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-metilenotetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (400 mg, 1.279 mmol) en THF (4 mL). A esta mezcla se le añadió una solución de yodo (325 mg, 1.279 mmol) en THF (0.500 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 1 h, luego se concentró para llevar el volumen total a aproximadamente 2 mL. Esto se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice usando una técnica de carga en seco (0-2 min: 100% de DCM, 2-20 minutos: 10% de MeOH/DCM) para dar el compuesto base (500 mg, 1.193 mmol, 93% de rendimiento) como aceite de color amarillo. El producto contiene impurezas pero se usó en la siguiente reacción. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 419.9, tiempo de retención = 0.47 min). ¹H RMN (400 MHz,

CD₃OD) δ pm 3.21 (s, 1 H) 3.65-3.83 (m, 2 H) 4.54 (s, 1 H) 5.73 (d, $J=8.22$ Hz, 1 H) 6.12 (s, 1 H) 7.65 (d, $J=8.22$ Hz, 1 H).

Etapa 4. Síntesis de (2S,3S,4R,5R)-2-azido-5-(3-benzoil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-2-(yodometil)tetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato

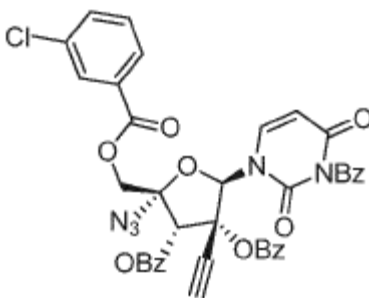


5

Se añadió cloruro de benzoilo (0.269 mL, 2.32 mmol) a una solución de 11-((2R,3R,4S,5S)-5-azido-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(yodometil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (278 mg, 0.663 mmol), trietil amina (0.324 mL, 2.321 mmol) y 4-dimetilamino piridina (16.21 mg, 0.133 mmol) en piridina (11 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se concentró a sequedad y se volvió a disolver en EtOAc (20 mL). La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ sat. (10 mL) y agua (10 mL), se secó (MgSO₄) y se concentró a sequedad. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (0-2 minutos: 100% de n-heptano, 2-10 minutos: 0% a 30% de EtOAc/Heptano, 10-15 minutos 30% de EtOAc/Heptano) para dar el compuesto base (242 mg, 0.331 mmol, 49.9% de rendimiento) como un sólido de color blanco. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 732.1, tiempo de retención = 1.19 min). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3.03 (br. s., 1 H) 3.71-4.00 (m, 2 H) 5.98 (dd, $J=8.02, 5.28$ Hz, 1 H) 6.36 (br. s., 1 H) 7.29-8.18 (m, 16 H).

15

Etapa 5. Síntesis de (2R,3S,4R,5R)-2-azido-5-(3-benzoil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-2-(((3-clorobenzoil)oxi)metil)-4-etiniltetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato

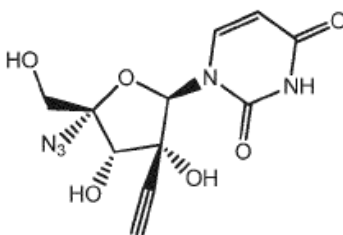


20

A una solución bifásica de fosfato potásico dibásico (61.4 mg, 0.353 mmol), (2S,3S,4R,5R)-2-azido-5-(3-benzoil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-2-(yodometil)tetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (172 mg, 0.235 mmol) y una solución al 50% de sulfato de tetrabutilamonio (0.135 mL, 0.235 mmol) en DCM (2.80 mL) y agua (0.560 mL) se le añadió ácido m-cloroperbenzoico (348 mg, 1.411 mmol). La mezcla resultante se agitó rápidamente a temperatura ambiente durante la noche. La capa orgánica se separó y se diluyó con 20 mL de DCM. La reacción se inactivó con una solución de tiosulfato de sodio 1 M (15 mL). La capa orgánica se lavó adicionalmente con agua (20 mL) y solución sat. de NaHCO₃ (20 mL). La capa orgánica se aisló, se secó (MgSO₄) y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0% a 30% de EtOAc/heptano: 10 minutos, 30% de EtOAc/Heptano: 5 minutos) para dar el compuesto base (129 mg, 0.170 mmol, 72.2% de rendimiento) como sólido de color blanco. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 760.0, tiempo de retención = 1.26 min). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 2.98 (br. s., 1 H) 4.81 (d, $J=11.74$ Hz, 1 H) 5.94 (d, $J=8.22$ Hz, 1 H) 7.29-8.15 (m, 19 H).

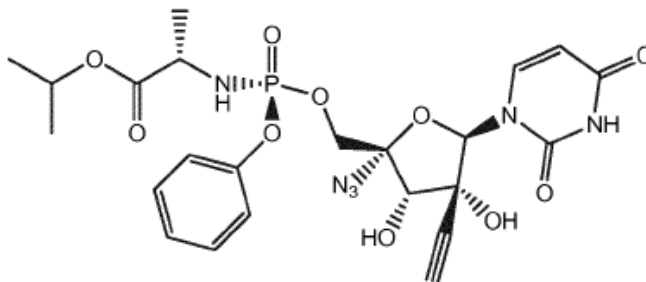
25

Etapa 6. Síntesis de 1-((2R,3R,4S,5R)-5-azido-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona



Se burbujeó gas de amoníaco a través de una solución de (2R,3S,4R,5R)-2-azido-5-(3-benzoil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-2-(((3-clorobenzoil)oxi)metil)-4-etiniltetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (129 mg, 0.170 mmol) en MeOH (2mL) en un vial sellado y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM al 100%: 0-2 min; MeOH al 0%-10%/DCM; 2-10 min; MeOH al 10%/DCM: 5 min) para dar el compuesto base (37 mg, 0.120 mmol, 70.5% de rendimiento) como un aceite casi incoloro. (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 310.0, tiempo de retención = 0.26 min). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.12 (s, 1 H) 3.64-3.75 (m, 1 H) 3.75-3.85 (m, 1 H) 4.42 (s, 1 H) 5.71 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.29 (s, 1 H) 7.96 (d, J=8.22 Hz, 1 H).

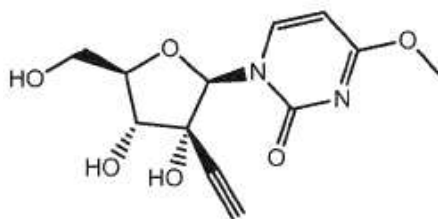
Etapa 7. Síntesis de (S)-isopropil 2-(((S)-(((2R,3S,4R,5R)-2-azido-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



Se añadió cloruro de tert-butilmagnesio (1M, 263 ml, 0.263 mmol) a la solución de 1-((2R,3R,4S,5R)-5-azido-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (37 mg, 0.120 mmol) en THF (708 ml) a 0 °C y se calentó a temperatura ambiente durante 20 minutos. La mezcla se enfrió a 5 °C y se le añadió una solución de (S)-isopropil 2-(((S)-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (65.1 mg, 0.144 mmol) en THF (0.300 mL). La mezcla de reacción se agitó a 5 °C, durante la noche. Después de esto, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se añadieron cloruro de tert-butilmagnesio adicional (263 ml, 0,263 mmol) y (S)-isopropil 2-(((S)-((perfluorofenoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (65.1 mg, 0.144 mmol). De nuevo, la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche (esto se repitió 4 veces más en el transcurso de 4 días hasta que la reacción se completó). La reacción se inactivó con AcOH (103 µl, 1.795 mmol) y se concentró al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (0% a 5% de MeOH/DCM: 0-13 minutos, MeOH al 5%/DCM: 3 minutos) para dar un sólido espumoso. A continuación, se purificó mediante cromatografía SFC (columna Achiral 2EP, sistema SFC, 100 mL/min, CO₂/IPA = 80/20) para dar el compuesto base (13.5 mg, 0.023 mmol, rendimiento del 18.92%) como un sólido de color blanco. LCMS (m/z): [M + Na]⁺ = 601.1, tiempo de retención = 0.75 min. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 1.13-1.25 (m, 6 H) 1.34 (d, J=7.43 Hz, 3 H) 3.18 (s, 1 H) 3.78-4.00 (m, 1 H) 4.32 (d, J=5.87 Hz, 2 H) 4.44 (s, 1 H) 4.91-5.05 (m, 1 H) 5.62 (d, J=8.22 Hz, 1 H) 6.25 (s, 1 H) 7.12-7.32 (m, 3 H) 7.32-7.44 (m, 2 H) 7.59 (d, J=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.35 (s).

Ejemplo 1.27 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-4-metoxipirimidin-2(1H)-ona

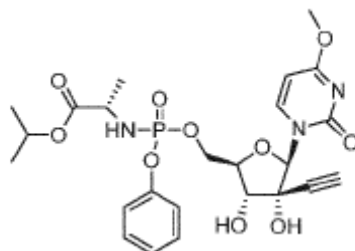


Una mezcla de 1,2,4-triazol (1199 mg, 17.35 mmol) y ((2R,3R,4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-etiniltetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (403 mg, 0.694 mmol, compuesto 5 en el esquema 1) se disolvió en piridina (6 mL) y se enfrió a 0 °C. A esta se le añadió POC₃ (0.550 mL, 5.90 mmol) gota a gota. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró luego y se redisolvió en DCM (20 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 20 mL), se secó (MgSO₄) y se purificó para dar el intermedio de triazol. El triazol intermedio se disolvió en MeOH (15 ml) y se le añadió TEA (0.968 mL, 6.94 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A esta mezcla, se le hizo burbujear gas de amoníaco y se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a continuación para dar un aceite de color amarillo. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (DCM al 100%: 0-2 minutos; MeOH al 0%-20%/DCM: 2-15 minutos, MeOH al 20%/DCM: 15 minutos-20 minutos) para dar el compuesto base. (99 mg, 0.351 mmol, 50.5% de rendimiento) como un aceite incoloro. LCMS

(m/z): [M+1]⁺ = 283.0, tiempo de retención = 0.20 min. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 2.88 (s, 1 H) 3.75-3.82 (m, 1 H) 3.88-4.02 (m, 5 H) 4.20 (d, J=9.00 Hz, 1 H) 5.96-6.21 (m, 2 H) 8.36 (d, J=7.43 Hz, 1 H).

Ejemplo 1.28 (Ejemplo de referencia)

5 Síntesis de (2S)-isopropil2-((((2R,3R,4R,5R)-4-etinil-3,4-dihidroxi-5-(4-metoxi-2-oxopirimidin-1(2H)-il)tetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



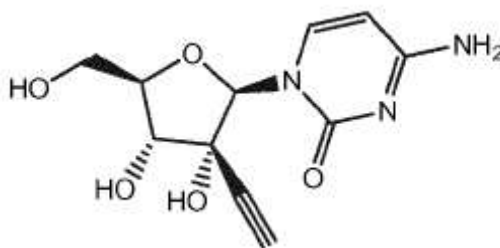
Según el esquema 2, a una solución agitada de -((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)-4-metoxipirimidin-2(1 H)-ona (66 mg, 0.234 mmol) en fosfato de trimetilo (2 mL) se le añadió proton sponge® (200 mg, 0.935 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.144 mL, 0,935 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S) -isopropil 2-aminopropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (2 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (353 mg, 2.11 mmol) con trietilamina (0.293 mL, 2.11 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-2 min, 100% de DCM, 2-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552.2, tiempo de retención = 0.73, 0.74 min, mezcla -1:1 de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 20 mL/min, Heptano/EtOH = 75/25. Condición analítica: columna AD-H, velocidad de flujo 1 mL/min/columna, Heptano/EtOH = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=8.1 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 6.4 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 1.22 (dd, J=6.26, 3.13 Hz, 6 H) 1.31 (d, J=7.43 Hz, 3 H) 2.92 (s, 1 H) 3.93 (s, 3 H) 4.15 (s, 2 H) 4.35-4.47 (m, 1 H) 4.52-4.63 (m, 1 H) 4.93-5.03 (m, 1 H) 6.01 (d, J=7.43 Hz, 1 H) 6.13 (s, 1 H) 7.24 (d, J=8.61 Hz, 3 H) 7.35 (d, J=7.43 Hz, 2 H) 7.96 (d, J=7.43 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.78 (s).

Pico 2: tiempo de retención =9.2 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 5.5 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ ppm 1.21 (d, J=6.26 Hz, 6 H) 1.34 (d, J=7.04 Hz, 3 H) 2.93 (s, 1 H) 3.92 (s, 4 H) 4.34-4.43 (m, 1 H) 4.45-4.55(m, 1 H) 4.92-4.99 (m, 1 H) 5.97 (d, J=7.43 Hz, 1 H) 6.12 (s, 1 H) 7.26 (d, J=8.61 Hz, 3 H) 7.36 (d, J=7.83 Hz, 2 H) 7.93 (d, J=7.43 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, CD₃OD) δ ppm 3.90 (s).

Ejemplo 1.29 (Ejemplo de referencia)

Síntesis de 4-amino-1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidin-2(1H)-ona

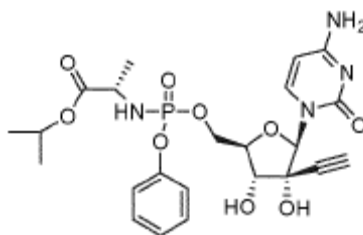


35 A una solución de 1,2,4-triazol (1041 mg, 15.07 mmol) en piridina (3 mL) a 0 °C, se le añadió POCl₃ (0.478 mL, 5.12 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos y la sal de piridina se filtró. El filtrado se añadió a una solución de (2R,3R,4R,5R)-5-((benzoiloxi)metil)-2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-3-etiniltetrahidrofuran-3,4-diil dibenzoato (350 mg, 0.603 mmol, compuesto 5 en el esquema 1) en piridina (3 mL) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró luego y se

redisolvió en DCM (15 mL). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 15 mL). La capa orgánica se concentró y redisolvió en dioxano (3 mL). A esta se le añadió NH_3 7 N en solución de MeOH (3 mL, 39,0 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h. Se hizo burbujear gas de amoníaco adicional a través de la solución y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. La mezcla de reacción se concentró para dar un jarabe de color naranja. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (DCM al 100%: 0-2 minutos; MeOH al 0% a 20%/DCM: 2-10 minutos; MeOH al 20%/DCM: 10-15 minutos) para dar el compuesto base (143 mg, 0.535 mmol, 89% de rendimiento). ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 2.94 (s, 1 H) 3.78 (dd, $J=12.52, 2.74$ Hz, 1 H) 3.86-4.05 (m, 2 H) 4.19 (d, $J=9.00$ Hz, 1 H) 5.86-6.17 (m, 2H) 8.10 (d, $J=7.43$ Hz, 1 H).

Ejemplo 1.30

- 10 Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(4-amino-2-oxopirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



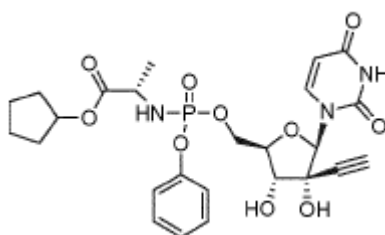
- 15 Según el esquema 2, a una solución agitada de 4-amino-1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil) tetrahydrofuran-2-il)pirimidin-2(1 H)-ona (83 mg, 0.311 mmol) en fosfato de trimetilo (2 mL) se le añadió proton sponge® (133 mg, 0.621 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.139 mL, 0.932 mmol). Esto se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S) -isopropil 2-aminopropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (2 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (312 mg, 1.86 mmol) con trietilamina (0.303 mL, 2.17 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente de 0-2 min, 100% de DCM, 2-10 min, 0-5% de MeOH en DCM, 5% de MeOH/DCM: 10-15 min). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): $[\text{M}+1]^+$ = 537.2, tiempo de retención = 0.61, 0.59 min, ~1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO_2/MeOH = 80/20. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, $\text{CO}_2/(\text{MeOH} + \text{DEA}$ al 0.1%) = 80/20).

- 30 Pico 1: tiempo de retención=1.37 min, se concentró y liofilizó con $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ 1:1 para dar 2.2 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 1.18-1.23 (m, 6 H) 1.29-1.33 (m, 3 H) 2.84-2.97 (m, 1 H) 3.72-3.83 (m, 1 H) 3.87-4.02 (m, 3 H) 4.15 -4.23 (m, 1 H) 6.02-6.12 (m, 1 H) 7.10-7.17 (m, 1 H) 7.18-7.26 (m, 3 H) 7.27-7.35 (m, 2 H).

- 35 Pico 2: tiempo de retención =2.12 min, se concentró y liofilizó con $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$ 1:1 para dar 1.7 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ^1H RMN (400 MHz, CD_3OD) δ ppm 1.12-1.18 (m, 6 H) 1.30-1.34 (m, 3 H) 2.81-2.94 (m, 1 H) 3.73-3.83 (m, 1 H) 3.86-4.10 (m, 4 H) 4.14 -4.23 (m, 1 H) 5.96-6.18 (m, 1 H) 7.08-7.26 (m, 5 H) 7.26-7.36 (m, 3 H).

Ejemplo 1.31

Síntesis de (2S)-ciclopentil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran- 2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



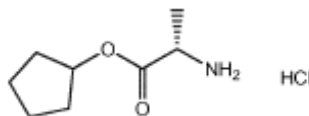
- 40 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran- 2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (10 mL) se

le añadió proton sponge® (479 mg, 2.23 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.333 mL, 2.23 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S) -isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl de aminoéster (703 mg, 4.47 mmol) con trietilamina (0.624 mL, 4.47 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-20% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 564, tiempo de retención = 0.73 min). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFCX5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH+DEA al 0.1%)=70/30).

Pico 1: tiempo de retención=1.77 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 30 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm: 1.35 (d, *J*=6.65 Hz, 3 H), 1.49-1.97 (m, 8 H), 2.58 (s, 1 H), 3.91-4.27 (m, 3 H), 4.34-4.56 (m, 2 H), 5.08-5.25 (m, 1 H), 5.65 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H), 6.04 (s, 1 H) 7.09-7.39 (m, 5 H), 7.44 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.26 (s).

Pico 2: tiempo de retención = 2.40 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 32 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm: 1.34 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H), 1.50-1.74 (m, 6 H), 1.76-1.96 (m, 2 H), 2.63 (s, 1 H) 3.56-3.80 (m, 1 H), 3.85-4.04 (m, 1 H), 4.08-4.58 (m, 3 H), 5.17 (t, *J*=5.67 Hz, 1 H), 5.71 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H) 6.02 (s, 1 H), 7.10-7.42 (m, 5H), 7.55 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.06 (s).

Síntesis de sal HCL de (S)-ciclopentil 2-aminopropanoato (Esquema 3, Método 2)

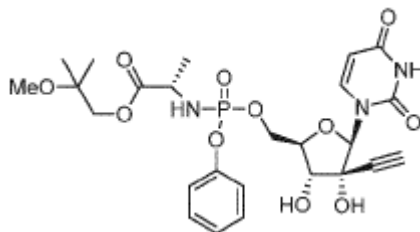


Etapa 1: Al ácido (S) -2-t-((butoxicarbonil) amino) propanoico (3 g, 15.86 mmol) en DCM (50 mL), DMAP (0.194 g, 1.58 mmol), ciclopentanol (1.64 g), 19.03 mmol) y DCC (3.60 g, 17.44 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción luego se extrajo con DCM, se lavó con bicarbonato de sodio saturado (50 ml) y salmuera (50 ml). El producto en bruto obtenido después de secar la capa de DCM con sulfato de sodio seguido de la eliminación del solvente se tomó como tal para la siguiente etapa.

Etapa 2: Al producto obtenido de la reacción previa (4 g, 15.54 mmol) tomado en dioxano (10 mL), se añadió HCl en dioxano (4 M, 10 mL, 40 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de lo cual, el solvente se eliminó y el sólido de color blanco obtenido (2.3 g, 94%) se secó a alto vacío. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 158; ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.48-2.06 (m, 11 H) 4.16 (br. s., 1 H) 5.26 (br. s., 1 H).

Ejemplo 1.32

Síntesis de (2S)-2-metoxi-2-metilpropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



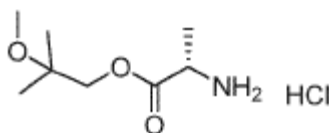
Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (10 mL) se le añadió proton sponge® (479 mg, 2.23 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.333 mL, 2.23 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base de (S) -isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y

aminoéster (784 mg, 4.47 mmol) con trietilamina (0.624 mL, 4.47 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-20% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 582, tiempo de retención = 0.65 min). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFCX5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH+DEA al 0.1%)=70/30).

Pico 1: tiempo de retención = 1.71 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 44 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm: 1.07-1.23 (m, 6 H) 1.38 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 2.63 (s, 1 H) 3.19 (s, 3 H) 3.93-4.25 (m, 4 H) 4.45 (br. s., 3 H) 5.66 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H) 6.05 (br. s., 1 H) 7.07-7.36 (m, 5 H) 7.46 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.10 (s).

Pico 2: tiempo de retención = 2.25 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 55 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm: 1.18 (d, *J*=4.70 Hz, 6 H) 1.39 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 2.61 (br. s., 1 H) 3.10-3.28 (m, 3 H) 3.94-4.10 (m, 2 H) 4.11-4.27 (m, 2 H) 4.27-4.57 (m, 3 H) 5.65 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H) 6.02 (br. s., 1 H) 7.08-7.38 (m, 5 H) 7.51 (d, *J*=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 2.89 (s).

Síntesis de sal HCL de (S)-2-metoxi-2-metilpropil 2-aminopropanoato (Esquema 3, Método 2)

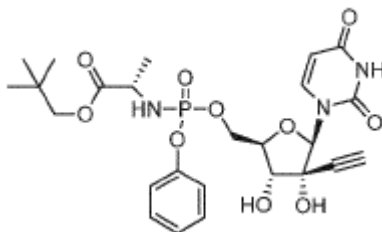


Etapa 1: Al ácido (S) -2-t-((butoxicarbonil) amino) propanoico (2 g, 10.57 mmol) en DCM (50 mL) a 0 °C, DMAP (0.129 g, 1.05 mmol), se le añadieron 2-metoxi-2-propan-1-ol (1.32 g, 12.68 mmol) y EDCI (2.02 g, 10.57 mmol) y se agitó a 0 °C, durante 2 horas y luego se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción luego se extrajo con DCM, se lavó con bicarbonato de sodio saturado (50 mL) y salmuera (50 mL). El producto en bruto obtenido después de secar la capa de DCM con sulfato de sodio seguido de la eliminación del solvente se tomó como tal para la siguiente etapa.

Etapa 2: al producto obtenido de la reacción previa (2 g, 7.26 mmol) tomado en dioxano (10 mL), se le añadió HCl en dioxano (4 M, 5.45 mL, 21.79 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de lo cual, el solvente se eliminó y el sólido de color blanco obtenido (1.25 g, 98%) se secó a alto vacío. LCMS: 176 (M+1); ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 1.09-1.36 (m, 6 H) 1.75 (d, *J*=6.26 Hz, 3 H) 3.11-3.33 (m, 3 H) 4.02-4.21 (m, 2 H) 4.29 (m, 1 H).

Ejemplo 1.33

Síntesis de (2S)-neopentil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



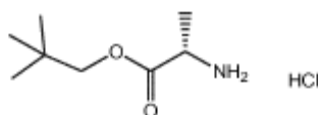
Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (180 mg, 0.671 mmol) en fosfato de trimetilo (10 mL) se le añadió proton sponge® (575 mg, 2.68 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.4 mL, 2.68 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S) -isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (855 mg, 5.37). mmol) con trietilamina (0.748 mL, 5.37 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA

de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-20% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 566, tiempo de retención = 0.75 min). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFCP100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH+DEA al 0.1%)=70/30).

Pico 1: tiempo de retención = 1.37 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 30 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.93 (s, 9 H) 1.41 (d, *J*=7.04 Hz, 3 H) 2.58 (s, 1 H) 3.72-3.82 (m, 3 H) 4.18 (d, *J*=7.43 Hz, 2 H) 4.45 (d, *J*=6.26 Hz, 2 H) 5.64 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H) 6.03 (s, 1 H) 7.12-7.46 (m, 6 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.26 (s).

Pico 2: tiempo de retención = 1.83 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 30 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.91 (s, 9 H) 1.39 (d, *J*=6.65 Hz, 3 H) 2.62 (s, 1 H) 3.67-3.91 (m, 2 H) 4.03 (d, *J*=7.43 Hz, 1 H) 4.09-4.28 (m, 2 H) 4.33-4.57 (m, 2 H) 5.68 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H) 6.02 (s, 1 H) 7.08-7.41 (m, 5 H) 7.54 (d, *J*=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 2.98 (s).

Síntesis de sal HCL de (S)-neopentil 2-aminopropanoato

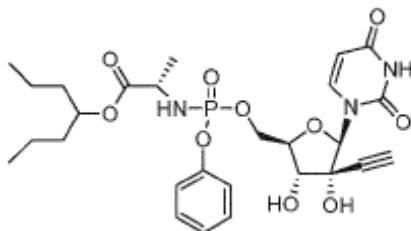


Etapa 1: Al ácido (S) -2-t-((butoxicarbonil) amino) propanoico (3 g, 15.86 mmol) en DCM (50 mL), DMAP (0.194 g, 1.58 mmol), alcohol neopentílico (1.39 g, 15.86 mmol) y DCC (3.60 g, 17.44 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción luego se extrajo con DCM, se lavó con bicarbonato de sodio saturado (50 mL) y salmuera (50 mL). El producto en bruto obtenido después de secar la capa de DCM con sulfato de sodio seguido de la eliminación del solvente se tomó como tal para la siguiente etapa.

Etapa 2: Al producto obtenido de la reacción previa (4 g, 15.42 mmol) tomado en dioxano (10 mL), se le añadió HCl en dioxano (4 M, 10 mL, 40 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de lo cual, el solvente se eliminó y el sólido de color blanco obtenido (2.4 g, 98%) se secó a alto vacío. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 160; ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.95 (s, 9 H) 1.75 (d, *J*=6.65 Hz, 3 H) 3.77-4.01 (m, 2 H) 4.18-4.34 (m, 1 H).

Ejemplo 1.34

Síntesis de (2S)-heptan-4-il 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



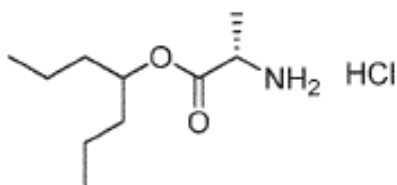
Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (120 mg, 0.447 mmol) en fosfato de trimetilo (10 mL) se le añadió proton sponge® (384 mg, 1.79 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.267 mL, 1.79 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base de (S) -isopropil 2-amino-3-fenilpropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl de aminoéster (670 mg, 3.58) mmol) con trietilamina (0.499 mL, 3.58 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice,

5 gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-20% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 594, tiempo de retención = 0.88 min). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

10 Pico 1: tiempo de retención = 2.40 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 18 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.78-0.98 (m, 6 H) 1.16-1.32 (m, 4 H) 1.32-1.41 (m, 3 H) 1.48 (d, *J*=5.87 Hz, 4 H) 2.58 (br. s., 1 H) 4.00 (br. s., 1 H) 4.08-4.34 (m, 2 H) 4.42 (br. s., 2 H) 4.90 (t, *J*=5.67 Hz, 1 H) 5.65 (d, *J*=6.65 Hz, 1 H) 6.03 (br. s., 1 H) 7.07-7.38 (m, 5 H) 7.43 (d, *J*=5.09 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.28 (s).

15 Pico 2: tiempo de retención = 3.27 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 20 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.78-1.00 (m, 6 H) 1.11-1.32 (m, 4 H) 1.31-1.41 (m, 3 H) 1.48 (br. s., 4 H) 2.59 (br. s., 1 H) 3.98 (d, *J*=5.48 Hz, 1 H) 4.18 (br. s., 2 H) 4.27-4.59 (m, 2 H) 4.89 (d, *J*=5.09 Hz, 1 H) 5.68 (br. s., 1 H) 6.02 (br. s., 1 H) 7.13 (t, *J*=6.85 Hz, 1 H) 7.20-7.41 (m, 4 H) 7.53 (br. s., 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-*d*₄) δ ppm 3.20 (s).

Síntesis de sal HCL de (S)-heptan-4-il 2-aminopropanoato

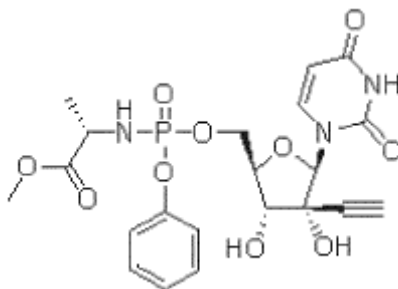


20 Etapa 1: Al ácido (S) -2-t-((butoxicarbonil) amino) propanoico (2 g, 10.57 mmol) en DCM (50 mL) a 0 °C, DMAP (0.129 g, 1.05 mmol), se le añadieron 4-heptanol (1.47 g, 12.68 mmol) y EDCI (2.02 g, 10.57 mmol) y se agitó a 0 °C, durante 2 horas y luego se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción luego se extrajo con DCM, se lavó con bicarbonato de sodio saturado (50 mL) y salmuera (50 mL). El producto en bruto obtenido después de secar la capa de DCM con sulfato de sodio seguido de la eliminación del solvente se tomó como tal para la siguiente etapa.

25 Etapa 2: Al producto obtenido de la reacción previa (3 g, 10.44 mmol) tomado en dioxano (10 mL), se le añadió HCl en dioxano (4 M, 2.61 mL, 10.44 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de lo cual, el solvente se eliminó y el residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en combi-instantánea usando metanol al 15% en DCM dando como resultado el producto puro como un sólido de color blanco (1 g, 51%). LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 188; ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-*d*) δ ppm 0.90 (td, *J*=7.34, 1.37 Hz, 6 H) 1.21-1.44 (m, 4 H) 1.45-1.66 (m, 4 H) 1.71 (d, *J*=7.43 Hz, 3 H) 4.14 (q, *J*=7.17 Hz, 1 H) 4.90-5.04 (m, 1 H).

Ejemplo 1.35

Síntesis de (2S)-metil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



35 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (200 mg, 0.353 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (639 mg, 2.98 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.446 mL, 2.98 mmol). Esto se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S) -metil-2-aminopropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (937 mg, 6.72

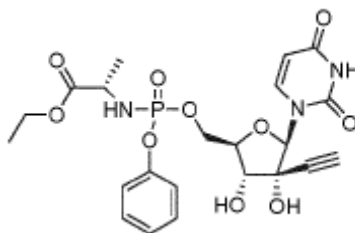
mmol) con trietilamina. (0.935 mL, 6.71 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 510.1, tiempo de retención = 0.56, 0.57 min, ~ 1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 70/30).

Pico 1: tiempo de retención=1.44 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 45 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.25-1.39 (m, 3 H) 3.06 (s, 1 H) 3.69 (s, 3 H) 3.96 (dd, J=9.00, 7.04 Hz, 1 H) 4.04-4.13 (m, 1 H) 4.13-4.21 (m, 1 H) 4.38 (ddd, J=11.74, 5.48, 3.13 Hz, 1 H) 4.55 (ddd, J=11.84, 4.79, 2.15 Hz, 1 H) 5.63 (d, J=7.83 Hz, 1 H) 6.05 (s, 1 H) 7.13-7.28 (m, 3 H) 7.32-7.44 (m, 2 H) 7.66 (d, J=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN, 1 pico de fósforo 3.86 ppm.

Pico 2: tiempo de retención=2.27 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 41 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.31-1.40 (m, 3 H) 3.08 (s, 1 H) 3.62-3.71 (m, 3 H) 3.88-4.03 (m, 1 H) 4.03-4.11 (m, 1 H) 4.11 -4.21 (m, 1 H) 4.35 (ddd, J=11.74, 6.06, 3.72 Hz, 1 H) 4.48 (ddd, J=12.03, 5.77, 1.76 Hz, 1 H) 5.59 (d, J=7.83 Hz, 1 H) 5.97-6.08 (m, 1 H) 7.10-7.31 (m, 3 H) 7.31-7.43 (m, 2 H) 7.65 (d, J=7.83 Hz, 1 H). ³¹P RMN: 1 pico de fósforo, 3.73 ppm.

Ejemplo 1.36

Síntesis de (2S)-etil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato



Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahydrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (479 mg, 2.24 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodiolcloridato (0.334 mL, 2.24 mmol). Esto se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S)-etil-2-aminopropanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (773 mg, 5.03 mmol) con trietilamina (0.702 mL, 5.03 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 524.1, tiempo de retención = 0.58, 0.59 min, mezcla ~ 1:1 de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 75/25. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 75/25).

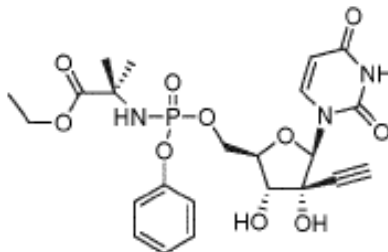
Pico 1: tiempo de retención=1.23 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 31 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.27 (t, J=7.09 Hz, 3 H) 1.36 (d, J=7.25 Hz, 3 H) 3.11 (d, J=0.63 Hz, 1 H) 3.90-4.04 (m, 1 H) 4.07-4.26 (m, 4 H) 4.38-4.47 (m, 1 H) 4.55-4.69 (m, 1 H) 5.67 (d, J=8.20 Hz, 1 H) 6.09 (s, 1 H) 7.19-7.33 (m, 3 H) 7.40 (d, J=7.88 Hz, 2 H) 7.71 (d, J=8.20 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOLd₄) δ ppm 3.85 (s).

Pico 2: tiempo de retención =2.24 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 27 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.27 (t, J=7.09 Hz, 3 H) 1.39 (d, J=6.94 Hz, 3 H) 3.12 (d, J=0.63 Hz, 1 H) 3.90-4.05 (m, 1 H) 4.07-4.25 (m, 4 H) 4.35-4.46 (m, 1 H) 4.48-4.59 (m, 1 H) 5.64 (d,

J=8.20 Hz, 1 H) 6.07 (s, 1 H) 7.18-7.28 (m, 1 H) 7.28-7.36 (m, 2 H) 7.41 (d, J=7.88 Hz, 2 H) 7.69 (d, J=7.88 Hz, 1 H). ^{31}P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 3.75(s).

Ejemplo 1.37

5 Síntesis de etil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato (Esquema 1, Etapa 6)



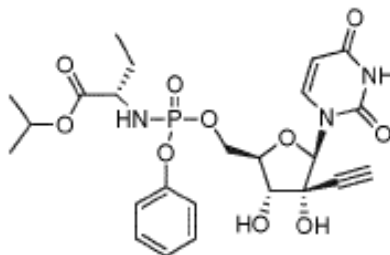
10 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (177 mg, 0.660 mmol) en THF (6 mL) a 5°C, se le añadió gota a gota cloruro de tert-butilmagnesio (1.320 ml, 1,320 mmol) mediante una jeringa. La mezcla se agitó a 5 °C, durante 10 min. A esta mezcla se le añadió 2-metil-2-(((perfluorofenoxi) (fenoxi) fosforil) amino) propanoato de etilo (359 mg, 0.792 mmol) en solución de THF (4.00 mL) mediante una jeringa. La reacción se agitó en nitrógeno a 5 °C, durante la noche. La reacción se inactivó a 0 °C mediante la adición de MeOH (3 mL) y la mezcla se concentró para dar un aceite. Esto se disolvió en MeOH y DCM y se cargó en ISCO para la purificación (columna de gel de sílice, elución: 0-2 min, 100% de DCM, 1-16 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): 15 [M+1]⁺ = 538.2, tiempo de retención = 0.68 min). Los diastereómeros se separaron por HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 70/30. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(Me-OH + DEA al 0.1%) = 70/30).

20 Pico 1: tiempo de retención=1.09 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 18 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ^1H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.21-1.33 (m, 3 H) 1.51 (d, J=13.76 Hz, 7 H) 3.09 (s, 1 H) 4.02-4.25 (m, 4 H) 4.41 (ddd, J=11.79, 5.92, 3.10 Hz, 1 H) 4.51-4.63 (m, 1 H) 5.60 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.06 (s, 1 H) 7.13-7.26 (m, 1 H) 7.29 (d, J=8.56 Hz, 2 H) 7.34-7.47 (m, 2 H) 7.65 (d, J=8.05 Hz, 1 H). ^{31}P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 2.19 (s).

25 Pico 2: tiempo de retención =1.37 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 16 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ^1H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.16-1.28 (m, 3 H) 1.41-1.53 (m, 6 H) 2.99-3.11 (m, 1 H) 3.99-4.27 (m, 4 H) 4.40 (ddd, J=11.70, 5.91, 3.52 Hz, 1 H) 4.51 (ddd, J=11.75, 5.37, 2.01 Hz, 1 H) 5.50-5.65 (m, 1 H) 6.04 (s, 1 H) 7.13-7.31 (m, 3 H) 7.31-7.44 (m, 2 H) 7.71 (d, J=8.22 Hz, 1 H). ^{31}P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 2.38 (s).

Ejemplo 1.38

30 Síntesis de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)butanoato



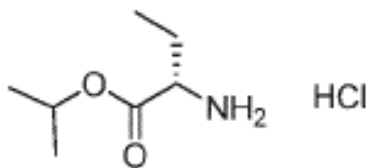
35 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (479 mg, 2.237 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodiolcloridato (0.334 mL, 2.237 mmol). Esta se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de (S)-isopropil 2-aminobutanoato en fosfato de trimetilo anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl y aminoéster (914 mg, 5.03 mmol) con trietilamina (0.702 mL, 5.03 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una 40

pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552,1, tiempo de retención = 0.68, 0.70 min, ~ 1:1 mezcla de dos diastereómeros). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 75/25. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 75/25).

5 Pico 1: tiempo de retención = 1.02 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 57 mg de polvo de color blanco. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 0.87 (t, J=7.38 Hz, 3 H) 1.23 (dd, J=5.87, 4.87 Hz, 6 H) 1.64 (dt, J=14.18, 7.34 Hz, 1 H) 1.69-1.81 (m, 1 H) 3.06 (s, 1 H) 3.69-3.77 (m, 1 H) 3.78 (s, 2 H) 4.04-4.12 (m, 1 H) 4.12-4.19 (m, 1 H) 4.38 (ddd, J=11.75, 5.54, 3.02 Hz, 1 H) 4.54 (ddd, J=11.70, 4.74, 1.85 Hz, 1 H) 4.99 (dt, J=12.54, 6.23 Hz, 1 H) 5.64 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.05 (s, 1 H) 7.16-7.22 (m, 1 H) 7.24 (d, J=8.39 Hz, 2 H) 7.32-7.45 (m, 2 H) 7.65 (d, J=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 4.24 (s).

10 Pico 2: tiempo de retención = 2.00 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 54 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 0.95 (t, J=7.38 Hz, 3 H) 1.19-1.29 (m, 6 H) 1.62-1.75 (m, 1 H) 1.75-1.87 (m, 1 H) 3.11 (s, 1 H) 3.72-3.84 (m, 1 H) 4.05-4.13 (m, 1 H) 4.19 (d, J=9.06 Hz, 1 H) 4.33-4.44 (m, 1 H) 4.52 (ddd, J=11.70, 5.92, 1.68 Hz, 1 H) 4.99 (dt, J=12.54, 6.23 Hz, 1 H) 5.63 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.06 (s, 1 H) 7.18-7.25 (m, 1 H) 7.29 (d, J=8.22 Hz, 2 H) 7.36-7.43 (m, 2 H) 7.68 (d, J=8.05 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 4.18 (s).

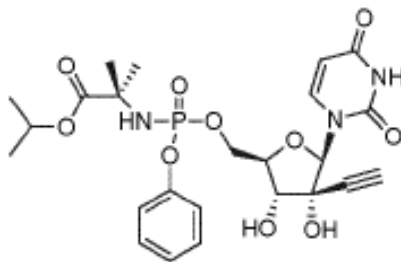
Síntesis de sal HCL de (S)-isopropil 2-aminobutanoato



Este compuesto se sintetizó según el esquema 3, método 1. LCMS (m/z) [M+1]⁺ = 146.0. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.04 (t, J=7.63 Hz, 3 H) 1.19-1.46 (m, 6 H) 1.74-2.14 (m, 2 H) 3.94 (t, J=6.06 Hz, 1 H) 5.13 (dt, J=12.52, 6.26 Hz, 1 H).

Ejemplo 1.39

Síntesis de isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)-2-metilpropanoato

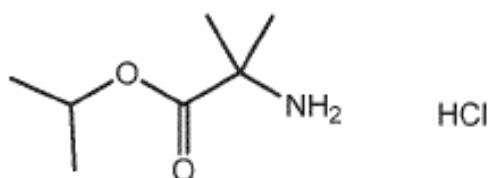


30 Según el esquema 2, a una solución agitada de 1-((2R,3R,4R,5R)-3-etinil-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)tetrahidrofuran-2-il)pirimidina-2,4(1H,3H)-diona (150 mg, 0.559 mmol) en fosfato de trimetilo (3 mL) se le añadió proton sponge® (479 mg, 2.237 mmol) a 25 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos seguido de la adición de fenil fosforodichloridato (0.334 mL, 2.237 mmol). Esto se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. A esta mezcla se le añadió una solución de base libre de isopropil 2-amino-2-metilpropanoato en trimetil fosfato anhidro (3 mL) (la base libre fresca se formó mezclando la sal HCl de aminoéster (930 mg, 5.12 mmol) con trietilamina (0.713 mL, 5.12 mmol) en fosfato de trimetilo, la sal HCl de TEA de color blanco se eliminó por filtración). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. LCMS mostró que contenía el producto deseado. La mayoría del fosfato de trimetilo se eliminó mediante la velocidad de vacío (50 °C) para dar una pasta oleosa. El material en bruto se purificó mediante el sistema ISCO (columna de gel de sílice, gradiente: 0-1 min, 100% de DCM, 1-15 min, 0-15% de MeOH en DCM). Las fracciones que contenían el producto deseado se combinaron y se concentraron a vacío para dar un aceite que se volvió a purificar (ISCO, columna de gel de sílice, 1-3 min. 0-100% EtOAc en heptano, 3-16 min. 100% EtOAc). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a

vacío para dar un aceite incoloro (LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 552.2, tiempo de retención = 0.68 min, pico ancho). Los diastereómeros se separaron mediante HPLC quiral (Waters SFC-P100, columna AD-21x250 mm, velocidad de flujo 100 mL/min, CO₂/MeOH = 85/15. Condición analítica: Waters SFC-X5, columna AD, velocidad de flujo 5 mL/min/columna, CO₂/(MeOH + DEA al 0.1%) = 85/15).

- 5 Pico 1: tiempo de retención=2.15 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 28 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.24 (dd, J=6.21, 3.02 Hz, 6 H) 1.47 (d, J=11.58 Hz, 6 H) 3.05 (s, 1 H) 4.04-4.16 (m, 3 H) 4.39 (ddd, J=11.83, 5.96, 3.02 Hz, 1 H) 4.53 (ddd, J=11.87, 4.91, 2.01 Hz, 1 H) 4.98 (quin, J=6.25 Hz, 1 H) 5.56 (d, J=8.05 Hz, 1 H) 6.03 (s, 1 H) 7.15-7.22 (m, 1 H) 7.26 (d, J=8.56 Hz, 2 H) 7.33-7.40 (m, 2 H) 7.60 (d, J=8.22 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d) δ ppm 2.20 (s).
- 10 Pico 2: tiempo de retención = 3.16 min, se concentró y liofilizó con H₂O/ACN 1:1 para dar 28 mg de polvo de color blanco como el compuesto base. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.18-1.26 (m, 6 H) 1.46 (d, J=6.04 Hz, 6 H) 3.04-3.09 (m, 1 H) 4.03-4.15 (m, 1 H) 4.21 (d, J=9.06 Hz, 1 H) 4.40 (ddd, J=11.79, 6.00, 3.69 Hz, 1 H) 4.51 (ddd, J=11.79, 5.41, 1.93 Hz, 1 H) 4.97 (dt, J=12.46, 6.27 Hz, 1 H) 5.53-5.60 (m, 1 H) 6.04 (s, 1 H) 7.20 (t, J=7.30 Hz, 1 H) 7.26 (d, J=8.56 Hz, 2 H) 7.31-7.44 (m, 2 H) 7.71 (d, J=8.05 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 2.38 (s).

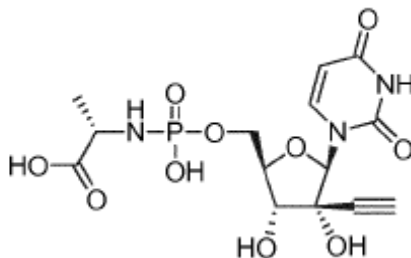
Síntesis de sal HCL de isopropil 2-amino-2-metilpropanoato



Este compuesto se sintetizó según el esquema 3, método 1. LCMS (m/z) [M+1]⁺ = 160.1. ¹H RMN (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.31 (d, J=6.26 Hz, 6 H) 1.47-1.62 (m, 6 H) 3.82-4.01 (m, 1 H) 4.98-5.18 (m, 1 H).

20 Ejemplo 1.40 (Ejemplo de referencia)

Síntesis del ácido (2S)-2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(hidroxi)fosforil)amino)propanoico



- 25 Una suspensión de (2S)-isopropil 2-((((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahydrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato (54 mg, 0.100 mmol) y TEA (0.728 mL, 5.22 mmol) en agua (0.2 mL) se calentó en un tubo sellado a 60 °C, durante 46 h. La mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. La mezcla en bruto se purificó mediante un sistema ISCO (columna de gel de sílice, elución: 0-1 min, 100% de DCM, 1-9 min, 0-15% de MeOH en DCM, 9-15 min., 15% de MeOH en DCM). Las fracciones puras se combinaron y se concentraron a vacío para dar 21 mg del producto deseado que se liofilizó con ACN/agua 1:1 para dar un polvo de color blanco. LCMS (m/z): [M+1]⁺ = 420.0, tiempo de retención = 0.31 min. ¹H RMN (500 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1.37 (d, J=7.02 Hz, 3 H) 3.02 (s, 1 H) 3.75-3.92 (m, 1 H) 3.96-4.13 (m, 3 H) 4.23 (ddd, J=11.98, 4.27, 2.06 Hz, 1 H) 4.31 (d, J=9.00 Hz, 1 H) 5.81-5.93 (m, 1 H) 6.07 (s, 1 H) 8.07 (d, J=8.09 Hz, 1 H). ³¹P RMN (202 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 6.43 (s).

II. Actividad antiviral de los compuestos de la invención

35 Ejemplo 2: Virus del dengue

1) Detección de la actividad antiviral de los compuestos en el ensayo HuH7 del replicón del dengue (ref.1)

Placas de prueba: placas de 96 pocillos

Línea celular: replicón HuH7-Dengue

ES 2 671 478 T3

Medios: DMEM-PRF + FCS al 2% + P/S al 1% + L-Glutamina 2 mM + NEAA 0.1 mM + SP 1 mM, Control de fármaco: solución madre del fármaco a 10 mM en DMSO al 90%

Incubación: 2 días @ 37 °C, 5% de CO₂

5 Día 1: suspensión de células de replicación HuH7-Dengue de semilla 80 µl (1.875x10⁵ células/ml) en DMEM-PRF + FCS al 2% + P/S al 1% + L-Glutamina 2 mM + NEAA 0.1 mM + SP 1 mM, O/N @ 37 °C, 5% de CO₂

Día 2: Preparación de la solución de compuestos:

1 µl de los compuestos (a partir de una solución madre de DMSO al 90% de diferente dilución preparada en placas de solución madre) + 19 µl de medio en una placa de 96 pocillos con fondo en V.

10 Se añaden 20 µl de solución de compuestos en las células del replicón, se incuban durante 48 horas @ 37 °C, 5% de CO₂

Día 4: Placa para detección de luciferasa y detección de viabilidad celular

Detección:

A partir de 37 °C, se añaden 25 µl de ViviRen 25 mM (Promega) diluido en medio (concentración final @ 5 µM), se agita, se incuba durante 20'.

15 Se mide la luminiscencia en el lector de placas Clarity a 0.1s

Se añaden 25 µl de CellTiter-Glo (Promega) (10 µl de CellTiter-Glo + 15 µl de medio/pocillo), se agita durante 2 min, se deja durante 15 min. (mantener en la oscuridad)

Se mide la luminiscencia en el lector de placas Clarity 4.0 @ 0.1s

Soluciones:

20 Medios:

Para mantener las células: DMEM (glucosa alta) + FCS al 10% + P/S al 1% + L-Glutamina 2 mM + NEAA 0.1 mM + 10 µg/ml de Puomicina

Para el ensayo: DMEM-PRF + FCS al 2% + P/S al 1% + L-Glutamina 2 mM + NEAA 0.1 mM + SP 1 mM

3) Protocolos para el ensayo automático de citotoxicidad CCK8 (Dojindo) de 4 días en células HepG2 y THP-1

25 1. 25 µl de suspensión HepG2 que contenía 1.6x10⁴ células/ml (400 células/pocillo) o 25 µl de suspensión de THP-1 que contenía 8x10⁴ células/ml (2000 células/pocillo) se dispensaron en una placa transparente de 384 pocillos mediante dispensador GNF 2B de cabeza vertical.

2. La placa se preincubó durante 24 h en la incubadora GNF (humidificada, a 37 °C, 5% de CO₂).

3. El compuesto diluido en serie se transfirió directamente al medio de cultivo en la placa (diluciones de 200 x).

30 4. Las placas se incubaron durante 96 horas en la incubadora GNF.

5. CCK-8 se descongeló en la mesa de trabajo y se diluyó previamente con medio (diluciones de 2.5 x).

6. Se añadieron 35 µl de CCK8 diluido a 2.5 x a cada pocillo de la placa mediante el dispensador GNF 1C de cabeza angular.

7. Las placas se incubaron durante 3 horas en la incubadora.

35 8. Se midió la absorbancia a 450 nm mediante Envision.

Ensayo de dengue en células PBMC criopreservadas

40 Células PBMC humanas criopreservadas se compraron de proveedores aprobados. A continuación, se descongelan según las instrucciones del fabricante y se suspendieron en medio RPMI suplementado con solución al 1% de penicilina/estreptomicina y 10% de suero de ternero fetal. Las células se contaron y se verificó la viabilidad (la viabilidad debería ser al menos del 70%). Después de la centrifugación y la eliminación de los medios, se diluyeron las células a 1x10⁷ células/mL en medio RPMI suplementado con 1% de penicilina/estreptomicina. Luego se dispensaron 50 µl de las células en una placa de cultivo tisular de 96 pocillos que constituía 5x10⁵ células/pocillo. A continuación, se preparó el virus con la mezcla de 4G2 humanizada para la infección. En resumen, virus (2 x10⁷ pfu/ml) se mezcló con anticuerpo 4G2 humanizado con la concentración de anticuerpo final de 0.38 µg/ml y se

incubaron durante 30 minutos a 4 °C para ayudar a la formación del complejo virus/anticuerpo. El complejo virus-anticuerpo se añadió luego a las PBMC a una multiplicidad de infección (M.O.I) de 0.5. El medio resultante se incubó luego y adicionalmente las placas a 37°C en la incubadora humidificada para que tuviera lugar la infección. A continuación, se añadieron compuestos diluidos en serie y finalmente se añadieron medios de modo que el volumen de medio final fuera de 200 µl con suero de ternera fetal al 2%. Las placas se incubaron luego a 37 °C, 5% de CO₂ durante otras 48 horas. El alcance de la infección y la inhibición del compuesto se midió mediante ensayo de reducción de placa usando células BHK. En resumen, las células BHK cultivadas en un cultivo de tejidos de 24 pocillos se sometieron a sobrenadantes derivados de una infección que contenía compuestos diluidos en serie. Después de 4 días adicionales, se fijaron las monocapas de células BHK, se tiñeron con tinción de cristal violeta y se contaron las placas. Las curvas de respuesta a la dosis se representaron a partir de la absorbancia media (n = 3) frente al logaritmo de la concentración de compuestos de ensayo. La EC₅₀ se calcula mediante análisis de regresión no lineal. Se utilizó un control positivo (7-deaza-2'-C-acetilenadenosina) para garantizar la calidad de los datos.

Ejemplo 3: citotoxicidad con células THP-1

Ensayo de citotoxicidad de 4 días utilizando células THP-1

Se contaron células THP-1 crecidas en suspensión y se diluyeron a 8 x 10⁴ células/ml en medio RPMI-1640 suplementado con 10% de suero bovino fetal y 1% de penicilina/estreptomicina. Se dispensaron 25 ul de los medios que contenían THP-1 constituidos por 2000 células en placas de cultivo tisular de 384 pocillos y se preincubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos, seguido de 37 °C, 5% de CO₂ durante la noche en el incubador humidificado. Al día siguiente, se prepararon placas de compuestos diluidas en serie y a continuación se dispensaron 125 nl de compuestos a diversas concentraciones en el pocillo de cultivo tisular (dilución de 200 x). Las placas se transfirieron entonces a una incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO₂ durante 96 horas adicionales. Las placas se transfirieron entonces a una incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO₂ durante 96 horas adicionales. La citotoxicidad se midió mediante el ensayo CCK-8. En resumen, CCK-8 se descongeló en la parte superior del banco de laboratorio y se diluyó 2.5 x con los medios de crecimiento. Luego se introdujeron 35 ul de CCK-8 prediluido en cada pocillo y luego las placas se incubaron adicionalmente en incubadora humidificada a 37 °C, 5% de CO₂, durante 3 horas. La absorbancia fue leída por Envision a 450 nm. Las curvas de respuesta a la dosis se representaron a partir de la absorbancia media (n = 2) frente al logaritmo de la concentración de los compuestos de ensayo. La EC₅₀ se calcula mediante análisis de regresión no lineal. Se utilizó un control positivo (puromicina) para garantizar la calidad de los datos.

Ejemplo 4: ensayo de replicón de HCV

Ensayos de EC50 antivirales del replicón de HCV.

Se sembraron células de replicón, que expresan el replicón de luciferasa HCV GT1b, en placas de 96 pocillos a una densidad de 5,000 células por pocillo en 100 µl de medio de cultivo DMEM. Los compuestos se diluyeron en serie en dimetilsulfóxido al 100% (DMSO) y se añadieron a las células a una dilución 1: 200 a una concentración final de DMSO al 0.5% en un volumen total de 200 µl. En ensayos de 96 pocillos, se usaron diluciones triples de fármacos en serie con 11 concentraciones y la concentración inicial fue de 50 µM. Las placas de células se incubaron a 37 °C, durante 3 días, después de lo cual se eliminó el medio de cultivo y las células se analizaron para determinar la actividad de luciferasa como marcadores para los niveles de replicón. La expresión de luciferasa se cuantificó usando un ensayo de luciferasa comercial. Los niveles de luciferasa se convirtieron en porcentajes relativos a los niveles en los controles no tratados definidos como 100%.

Ensayo de CC50 de citotoxicidad de replicón de HCV.

Se sembraron células de replicón, que expresan el replicón de luciferasa HCV GT1b, en placas de 96 pocillos a una densidad de 5,000 células por pocillo en 100 µl de medio de cultivo DMEM. Los compuestos se diluyeron en serie en dimetilsulfóxido al 100% (DMSO) y se añadieron a las células a una dilución 1: 200 a una concentración final de DMSO al 0.5% en un volumen total de 200 µl. En ensayos de 96 pocillos, se usaron diluciones triples de fármacos en serie con 11 concentraciones y la concentración inicial fue de 50 µM. Las placas de células se incubaron a 37 °C, durante 3 días, después de lo cual se retiró el medio de cultivo y las células se analizaron para determinar los niveles de ATP, como una indicación de la proliferación con respecto al control citotóxico de la estaurosporina. Los niveles de ATP se cuantificaron mediante Cell Titer Glow, un ensayo comercial de luminiscencia de luciferasa. Los niveles de luminiscencia se convirtieron en porcentajes relativos a los niveles en los controles no tratados definidos como 100%.

Tabla 1. Datos de citotoxicidad, HCV y dengue

Ejemplo	EC ₅₀ de Dengue (PBMC, uM)	CC ₅₀ de Dengue (THP-1, uM)	HCV GT1b EC ₅₀ (uM)	HCV GT1b CC ₅₀ (uM)
1	0.23	>50	0.098	>20

ES 2 671 478 T3

Ejemplo	EC ₅₀ de Dengue (PBMC, uM)	CC ₅₀ de Dengue (THP-1, uM)	HCV GT1b EC ₅₀ (uM)	HCV GT1b CC ₅₀ (uM)
1.26	ND	ND	1.44	>25
1.2	ND	>50	1.47	>25
1.1	0.97	48	0.243	>25
1.3	0.06	16	0.095	>25
1.4	0.06	>50	0.087	>25
1.5	0.06	8.3	0.131	>25
1.11 (pico 2)	ND	ND	0.058	>25
1.11 (pico 1)	ND	ND	0.1	>25
1.6	0.17	>50	0.152	>25
1.7	0.17	13	0.087	>25
1.17 (pico 2)	ND	ND	9.09	>25
1.17 (pico 1)	ND	ND	6.8	>25
1.19	ND	ND	0.036	>25
1.28 (pico 2)	ND	ND	>100	>25
1.28 (pico 1)	ND	ND	>100	>25
1.2	ND	ND	0.024	>25
1.30 (pico 2)	ND	ND	54.3	>25
1.30 (pico 1)	ND	ND	44.9	>25
1.21	ND	ND	0.067	>25
1.12	ND	ND	0.013	>25
1.18 (pico 2)	ND	ND	0.089	>25
1.18 (pico 1)	ND	ND	0.08	>25
1.13 (pico 2)	ND	ND	0.025	>25
1.13 (pico 1)	ND	ND	0.302	>25
1.22	ND	ND	0.108	>25
1.14 (pico 2)	ND	ND	0.459	>25
1.14 (pico 1)	ND	ND	1.15	>25
1.15 (pico 2)	ND	ND	0.029	>25
1.15 (pico 1)	ND	ND	0.172	>25
1.16 (pico 2)	ND	ND	0.056	>25
1.16 (pico 1)	ND	ND	0.34	>25
1.23 (pico 2)	ND	ND	0.305	>25
1.23 (pico 1)	ND	ND	2.72	>25

ES 2 671 478 T3

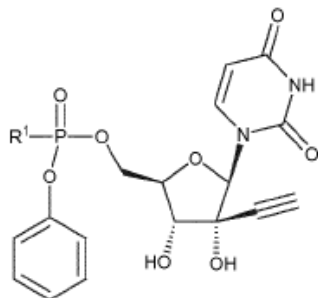
Ejemplo	EC ₅₀ de Dengue (PBMC, uM)	CC ₅₀ de Dengue (THP-1, uM)	HCV GT1b EC ₅₀ (uM)	HCV GT1b CC ₅₀ (uM)
1.24 (pico 2)	ND	ND	0.062	>25
1.24 (pico 1)	ND	ND	0.89	>25
1.35 (pico 2)	ND	ND	0.194	>25
1.35 (pico 1)	ND	ND	0.294	>25
1.31 (pico 2)	ND	ND	0.006	>25
1.31 (pico 1)	ND	ND	0.024	>25
1.36 (pico 2)	ND	ND	0.096	>25
1.36 (pico 1)	ND	ND	0.103	>25
1.32 (pico 2)	ND	ND	0.182	>25
1.32 (pico 1)	ND	ND	0.53	>25
1.33 (pico 2)	ND	ND	0.994	>25
1.33 (pico 1)	ND	ND	0.081	19.7
1.34 (pico 2)	ND	ND	0.151	>25
1.34 (pico 1)	ND	ND	0.301	>25
1.40	ND	ND	0.148	>25
1.37 (pico 2)	ND	ND	0.478	>25
1.37 (pico 1)	ND	ND	0.367	>25
1.38 (pico 2)	ND	ND	0.54	>25
1.38 (pico 1)	ND	ND	0.37	>25
1.39 (pico 2)	ND	ND	0.047	>25
1.39 (pico 1)	ND	ND	1.5	>25
1.10 (pico 2)	ND	ND	0.023	>25
1.10 (pico 1)	ND	ND	2.87	>25
1, 1.25 (pico 2)	0.4	>50	0.066	>25
1.25 (pico 1)	ND	ND	0.358	>25

Tabla 2. Dengue Polimerasa y HCV polimerasa

Número del compuesto	Dengue polimerasa (Elongación) IC ₅₀ (µm)	Dengue polimerasa (De novo) IC ₅₀ (µm)	HCV polimerasa IC ₅₀ (µm)
1.8	1.2	2.9	8.3
1.9	2.1	3.4	ND

REIVINDICACIONES

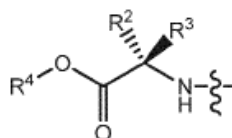
1. Un compuesto representado por la fórmula I:



I

en la que

5 R¹ es



;

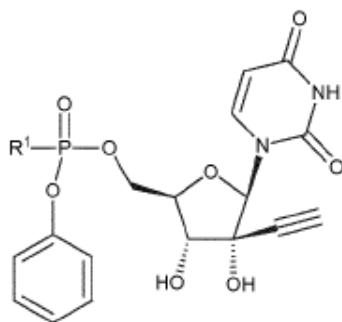
R² es un alquilo C₁-C₆ opcionalmente sustituido con halógeno, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄;

10 R³ es H o alquilo C₁-C₄

R² y R³ tomados juntos y el átomo de carbono al que están unidos forman un cicloalquilo C₃-C₇;

15 R⁴ es alquilo C₁-C₈ opcionalmente sustituido con halógeno o alcoxi C₁-C₄, un cicloalquilo C₃-C₇ opcionalmente sustituido con halógeno, un fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄; un alquilo C₁-C₄-fenilo opcionalmente sustituido con halógeno o alquilo C₁-C₄ o un heterociclo de 4 a 7 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de N, S y O, en la que dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con uno o más halógenos, o alquilo C₁-C₄.

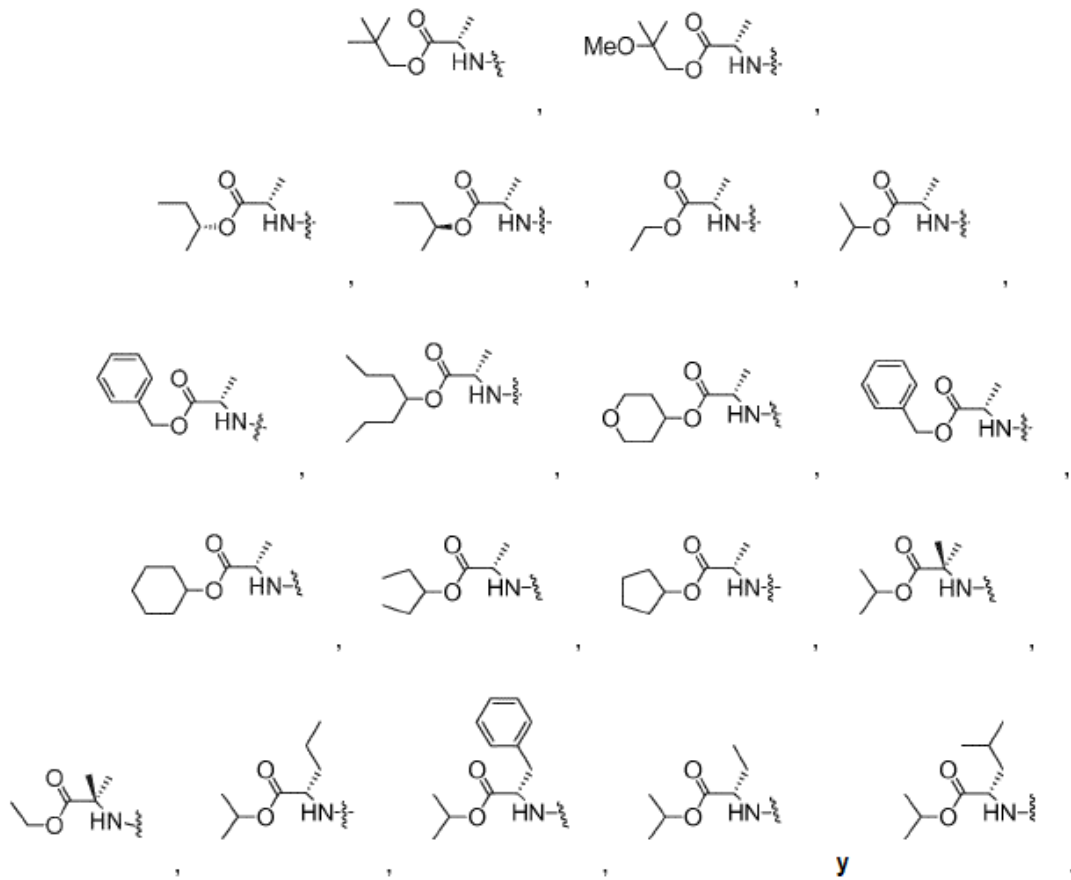
2. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



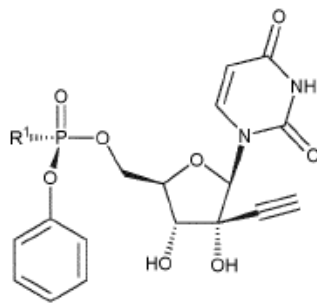
I

en la que:

20 R¹ se selecciona del grupo que consiste en



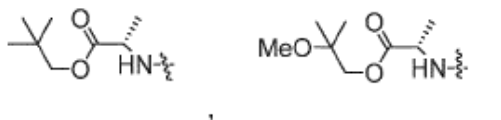
3. El compuesto según la reivindicación 1, que es un compuesto de fórmula (II), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

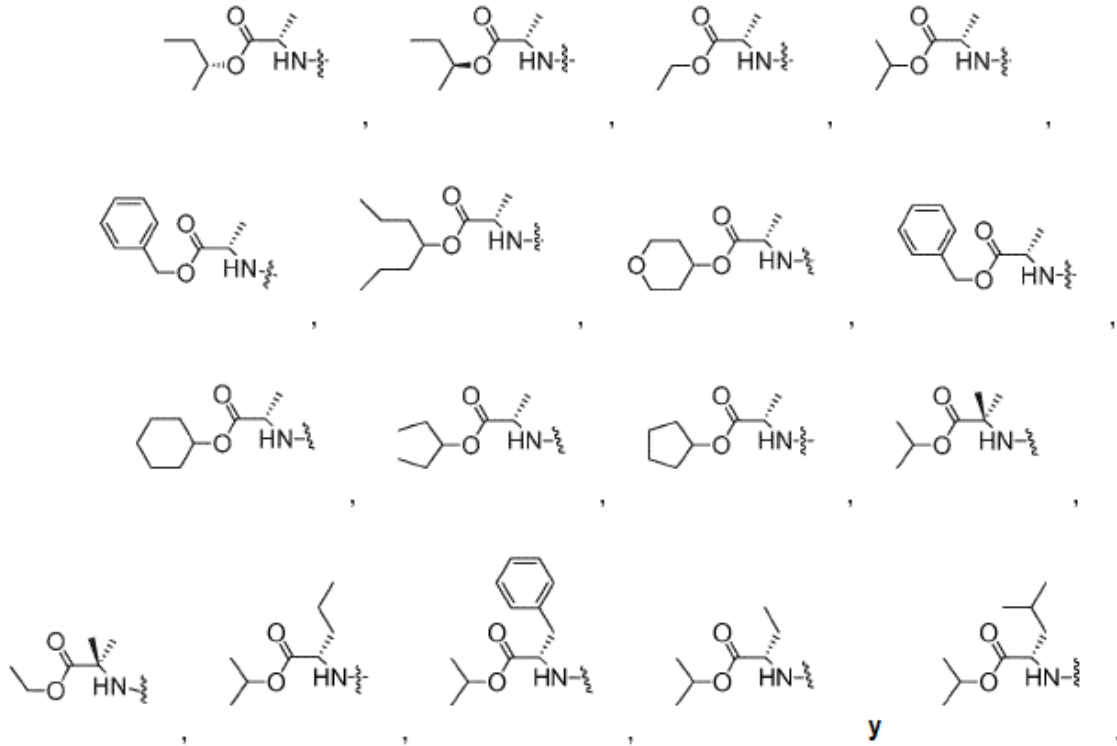


II

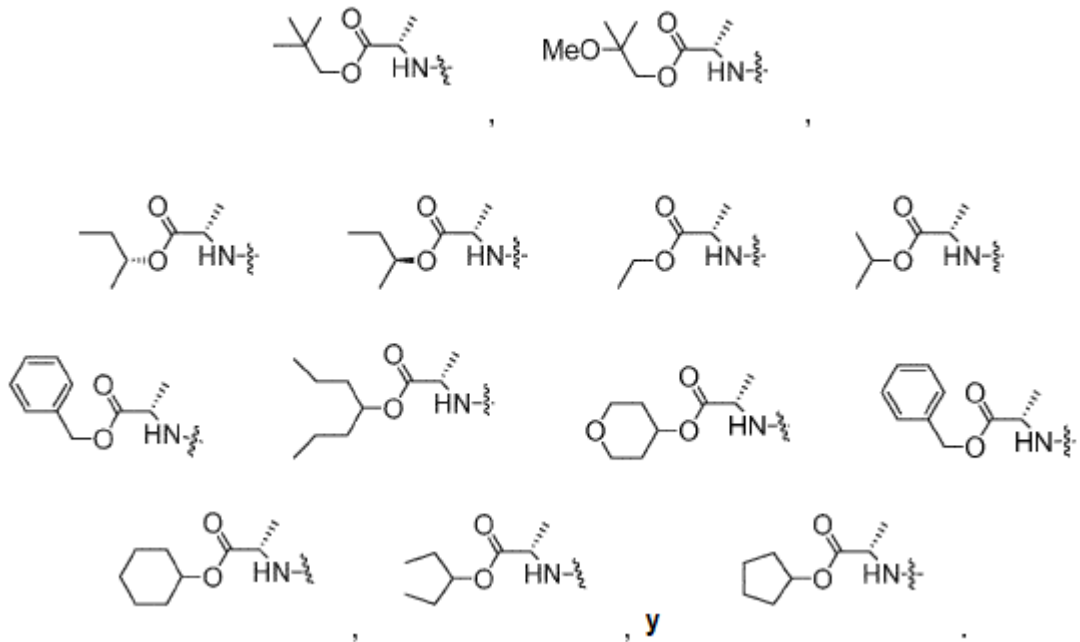
5 en la que:

R¹ se selecciona del grupo que consiste en

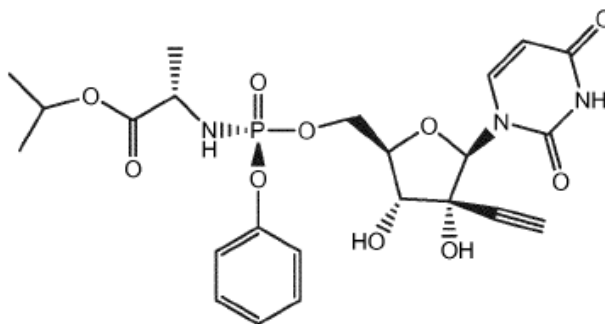




4. El compuesto según cualquier reivindicación anterior, en el que R¹ se selecciona del grupo que consiste en



5. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo según cualquier reivindicación precedente, representado por la estructura:



y por el nombre (S)-isopropil 2-(((S)-((2R,3R,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1 (2H)-il)-4-etinil-3,4-dihidroxitetrahidrofuran-2-il)metoxi)(fenoxi)fosforil)amino)propanoato.

6. Una composición de cocristal farmacéutica, que comprende:

5 el compuesto según la reivindicación 5 y el formador de cocristal L-prolina.

7. Una composición farmacéutica, que comprende:

el compuesto o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y

un excipiente, diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

10 8. Un compuesto o composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento y/o prevención de una enfermedad causada por una infección viral.

9. El compuesto o composición para su uso según la reivindicación 8, en el que la infección viral es causada por un virus seleccionado del grupo que consiste en virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, virus del Nilo Occidental, virus de la encefalitis japonesa, virus de la encefalitis transmitida por garrapatas, virus Kunjin, encefalitis de Murray Valley, encefalitis de San Luis, virus de la fiebre hemorrágica de Omsk, virus de la diarrea viral bovina, virus del Zika y virus de la hepatitis C.

15 10. Una composición de combinación farmacéutica, que comprende:

el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y

uno o más agentes terapéuticamente activos.

20 11. La composición de combinación farmacéutica de la reivindicación 10, en la que el uno o más agentes terapéuticamente activos se seleccionan de interferones, ribavirina y análogos de ribavirina, aglutinante de ciclofilina, inhibidores de proteasa NS3 de HCV, inhibidores de NS5a de HCV, inhibidores de NS5b nucleósidos y no nucleósidos o mezclas en esto.