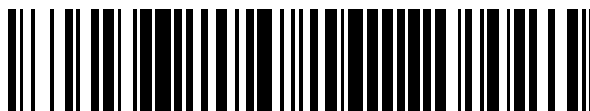


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 147**

51 Int. Cl.:

C07D 491/048 (2006.01)

A61K 31/407 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2015 PCT/US2015/021641**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.09.2015 WO15143257**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2015 E 15714138 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 3119786**

54 Título: **Compuestos de 6H-furo[2,3-e]indol para el tratamiento de la hepatitis C**

30 Prioridad:

21.03.2014 US 201461968747 P

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

31.10.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**WANG, TAO;
ZHANG, ZHONGXING y
KADOW, JOHN F.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 688 147 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

Compuestos de 6H-furo[2,3-e]indol para el tratamiento de la hepatitis C

5 Campo de la invención

La invención se refiere a compuestos novedosos, que incluyen sus sales, que tienen actividad contra el virus de la hepatitis C (VHC) y que son útiles en el tratamiento de los infectados con el VHC. La invención también se refiere a composiciones que contienen estos compuestos, así como a métodos de preparación y uso de estos compuestos.

10 Antecedentes de la invención

El virus de la hepatitis C (VHC) es un patógeno humano importante, que infecta a aproximadamente 170 millones de personas en todo el mundo, aproximadamente cinco veces el número de personas infectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1. Una fracción sustancial de estos individuos infectados por el VHC desarrolla una enfermedad hepática progresiva grave, que incluye cirrosis y carcinoma hepatocelular (Lauer, GM; Walker, BDN Engl. J. Med. 2001, 345, 41-52).

El VHC es un virus de ARN de cadena positiva. Sobre la base de una comparación de la secuencia de aminoácidos deducida y la exhaustiva similitud en la región 5' no traducida, el VHC se ha clasificado como un género separado en la familia Flaviviridae. Todos los miembros de la familia Flaviviridae tienen viriones envueltos que contienen un genoma de ARN de cadena positiva que codifica todas las proteínas específicas de virus conocidas mediante la traducción de un marco de lectura abierto único e ininterrumpido.

Se encuentra una considerable heterogeneidad dentro del nucleótido y la secuencia de aminoácidos codificada en todo el genoma del VHC. Se han caracterizado al menos seis genotipos principales y se han descrito más de 50 subtipos. Los principales genotipos del VHC difieren en su distribución en todo el mundo, y la importancia clínica de la heterogeneidad genética del VHC sigue siendo difícil de alcanzar a pesar de los numerosos estudios del posible efecto de los genotipos sobre la patogénesis y la terapia.

El genoma del ARN del VHC monocatenario tiene aproximadamente 9500 nucleótidos de longitud y tiene un único marco de lectura abierto (ORF) que codifica una única poliproteína grande de aproximadamente 3000 aminoácidos. En las células infectadas, esta poliproteína se escinde en sitios múltiples mediante proteasas celulares y virales para producir las proteínas estructurales y no estructurales (NS). En el caso del VHC, la generación de proteínas maduras no estructurales (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B) se efectúa mediante dos proteasas virales. La primera se cree que es una metaloproteasa y se escinde en la unión NS2-NS3; la segunda es una serina proteasa contenida en la región N-terminal de NS3 (también denominada proteasa NS3) y media todas las escisiones posteriores aguas abajo de NS3, tanto en cis, en el sitio de escisión NS3-NS4A, como en trans, para el resto de sitios NS4A-NS4B, NS4B-NS5A, NS5A-NS5B. La proteína NS4A parece cumplir múltiples funciones, actuar como un cofactor para la proteasa NS3 y posiblemente ayudar en la localización de la membrana de NS3 y otros componentes de la replicasa viral. La formación del complejo de la proteína NS3 con NS4A parece necesaria para los eventos de procesamiento, potenciando la eficacia proteolítica en todos los sitios. La proteína NS3 también muestra actividades nucleósido trifosfatasa y ARN helicasa. NS5B (también denominada polimerasa del VHC) es una ARN polimerasa dependiente de ARN de la replicación del VHC. La proteína NS5B del VHC se describe en "Análisis estructural de la ARN polimerasa del virus de la hepatitis C en complejo con ribonucleótidos (Bressanelli; S. et al., Journal of Virology 2002, 3482-3492; y Defrancesco y Rice, Clinics in Liver Disease 2003, 7, 211-242).

Actualmente, la terapia de VHC más eficaz emplea una combinación de interferón alfa y ribavirina, que conduce a una eficacia sostenida en el 40 % de los pacientes (Poynard, T. et al., Lancet 1998, 352, 1426-1432). Resultados clínicos recientes demuestran que el interferón alfa pegilado es superior al interferón alfa no modificado como monoterapia (Zeuzem, S. et al., N. Engl. J. 2000, 343, 1666-1672). Sin embargo, incluso con regímenes terapéuticos experimentales de combinaciones de interferón alfa pegilado y ribavirina, una fracción sustancial de pacientes no tienen una reducción sostenida en la carga viral. Por tanto, existe una clara e importante necesidad de desarrollar agentes terapéuticos eficaces para el tratamiento de la infección por VHC.

El VHC-796, un inhibidor de VHC NS5B, ha demostrado la capacidad de reducir los niveles de ARN del VHC en pacientes. Los niveles de ARN viral disminuyeron transitoriamente y luego se recuperaron durante la dosificación cuando el tratamiento fue con el compuesto como un agente único, pero los niveles disminuyeron más robustamente cuando se combinaron con el tratamiento de referencia que es una forma de interferón y ribavirina. El desarrollo de este compuesto se suspendió debido a la toxicidad hepática observada durante la administración prolongada de los regímenes de combinación. La Patente de los EE.UU n.º 7.265.152 y la correspondiente solicitud de patente PCT WO2004/041201 describe compuestos de la clase VHC-796. Se han divulgado otros compuestos; véase por ejemplo, el documento WO2009/101022, así como el documento WO 2012/058125.

Por lo tanto, lo que se necesita en la técnica son compuestos adicionales que sean novedosos y eficaces contra la hepatitis C. Además, estos compuestos deberían proporcionar ventajas para usos farmacéuticos, por ejemplo, con

respecto a uno o más de sus mecanismos de acción, unión, eficacia de inhibición, objetivo de selectividad, solubilidad, perfiles de seguridad y/o biodisponibilidad. También se necesitan nuevas formulaciones y métodos de tratamiento que utilicen estos compuestos.

5 Sumario de la invención

Un aspecto de la invención es un compuesto de la reivindicación 1, que incluye sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

10 La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la reivindicación 1, que incluye una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 Además, la invención proporciona un compuesto de la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento de la infección por hepatitis C.

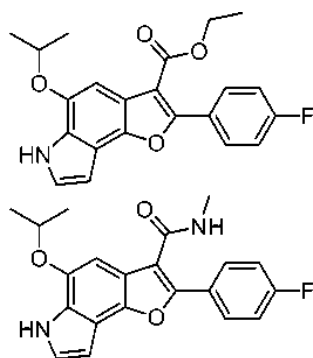
Descripción detallada de las realizaciones

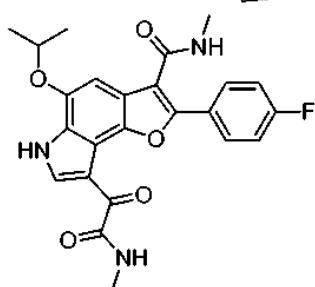
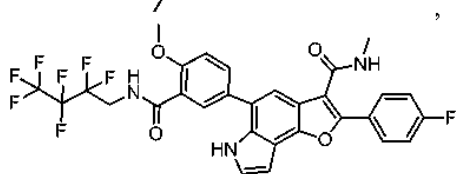
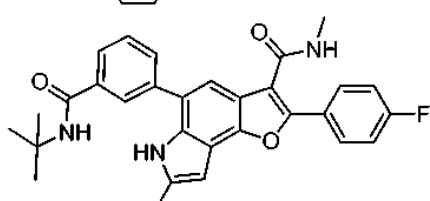
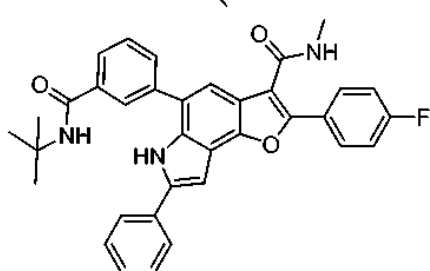
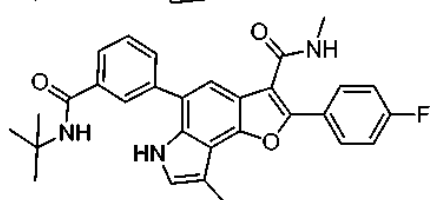
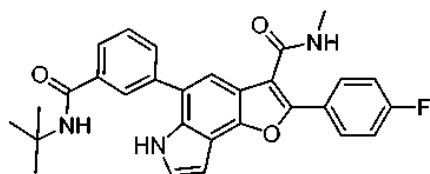
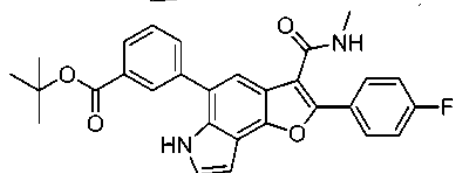
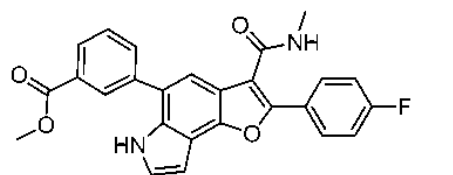
20 La invención incluye todas las formas de sal farmacéuticamente aceptables de los compuestos. Las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas en las que los contraiones no contribuyen significativamente a la actividad fisiológica o a la toxicidad de los compuestos y, como tales, funcionan como equivalentes farmacológicos. Estas sales se pueden preparar de acuerdo con técnicas orgánicas comunes que emplean reactivos disponibles en el mercado. Algunas formas de sales aniónicas incluyen acetato, acitrato, besilato, bromuro, camsilato, cloruro, citrato, fumarato, glucuronato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, yoduro, lactato, maleato, mesilato, nitrato, pamoato, fosfato, succinato, sulfato, tartrato, tosilato y xinofoato. Algunas formas de sales catiónicas incluyen amonio, aluminio, benzatina, bismuto, calcio, colina, dietilamina, dietanolamina, litio, magnesio, meglumina, 4-fenilciclohexilamina, piperazina, potasio, sodio, trometamina y cinc.

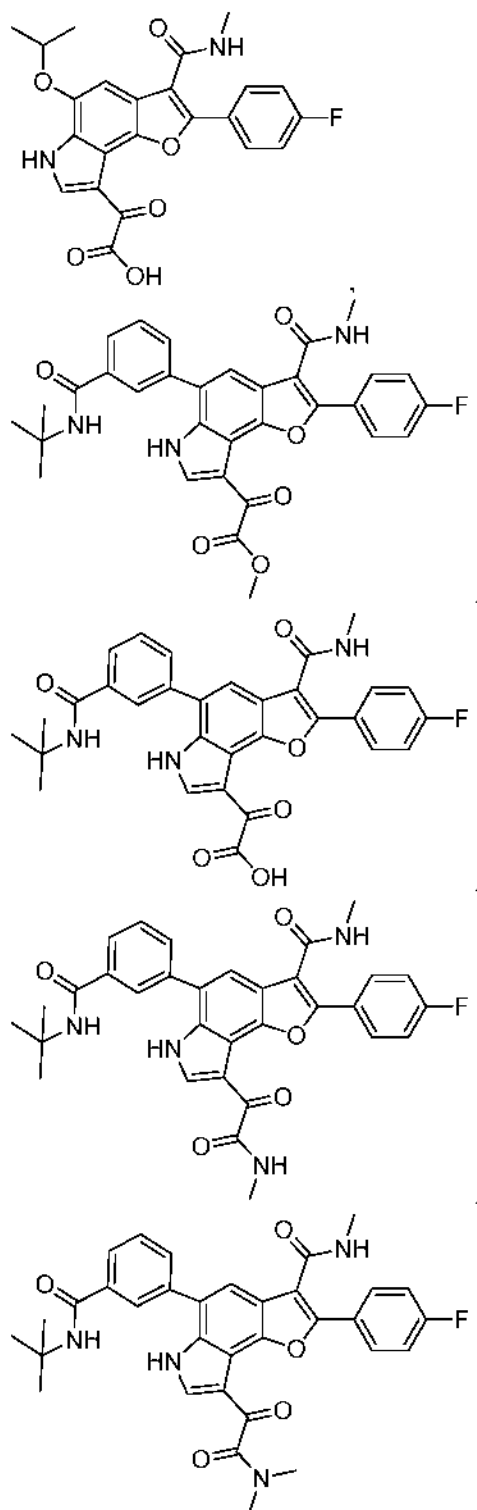
30 Algunos de los compuestos de la invención poseen átomos de carbono asimétricos. La invención incluye todas las formas estereoisoméricas, que incluyen enantiómeros y diastereómeros, así como mezclas de estereoisómeros tales como racematos. Algunos estereoisómeros pueden prepararse usando métodos conocidos en la técnica. Las mezclas estereoisoméricas de los compuestos e intermedios relacionados se pueden separar en isómeros individuales de acuerdo con los métodos comúnmente conocidos en la técnica. El uso de cuñas o almohadillas en las representaciones de estructuras moleculares en los siguientes esquemas y tablas está destinado solo a indicar la estereoquímica relativa, y no debe interpretarse como que implica asignaciones estereoquímicas absolutas.

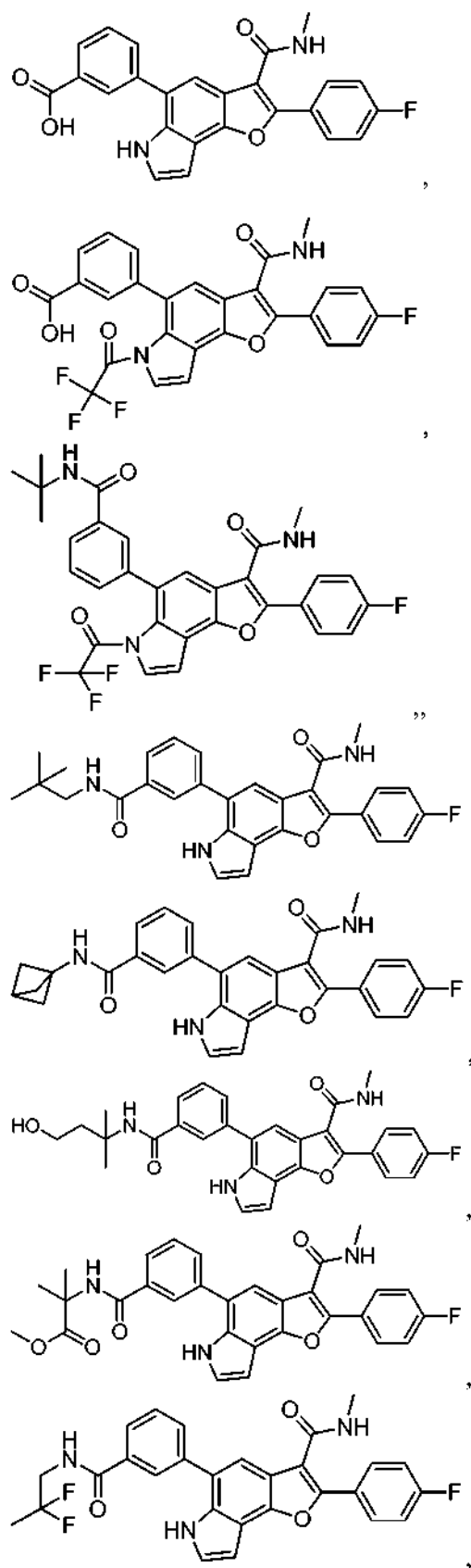
40 La invención pretende incluir todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Los compuestos marcados isotópicamente de la invención se pueden preparar generalmente por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o por procedimientos análogos a los descritos en el presente documento, usando un reactivo marcado isotópicamente adecuado en lugar del reactivo no marcado empleado de otro modo. Dichos compuestos pueden tener diversos usos potenciales, por ejemplo, como patrones y reactivos para determinar la actividad biológica. En el caso de los isótopos estables, dichos compuestos pueden tener la posibilidad de modificar favorablemente las propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.

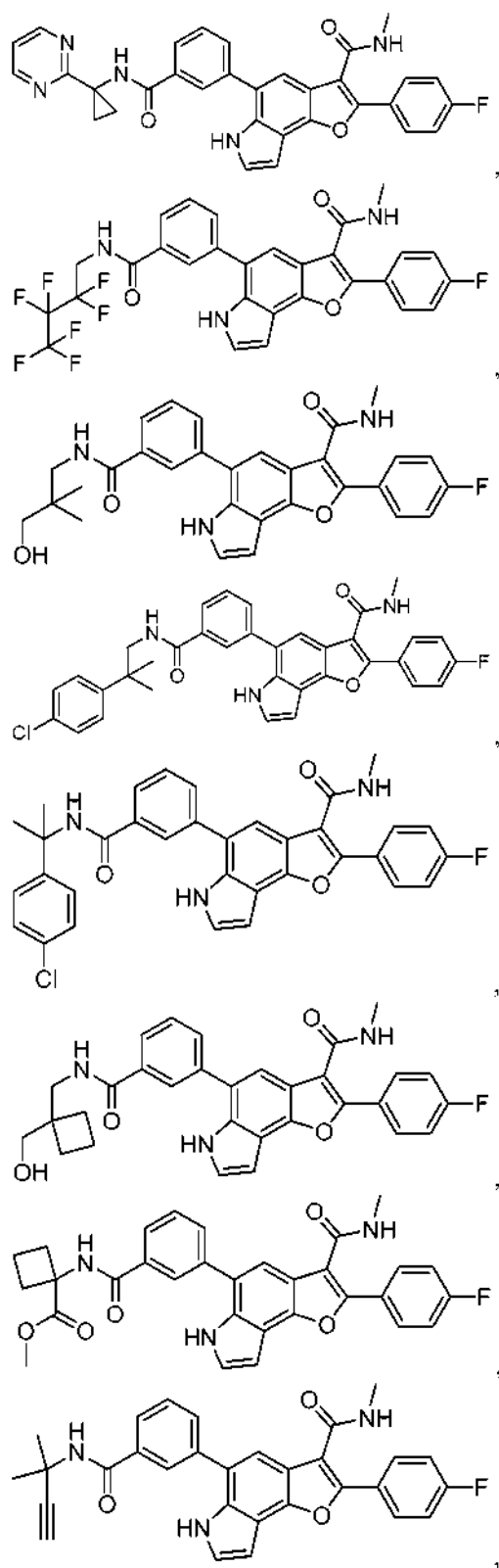
La invención se refiere a compuestos, que incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que se seleccionan de entre el grupo de:

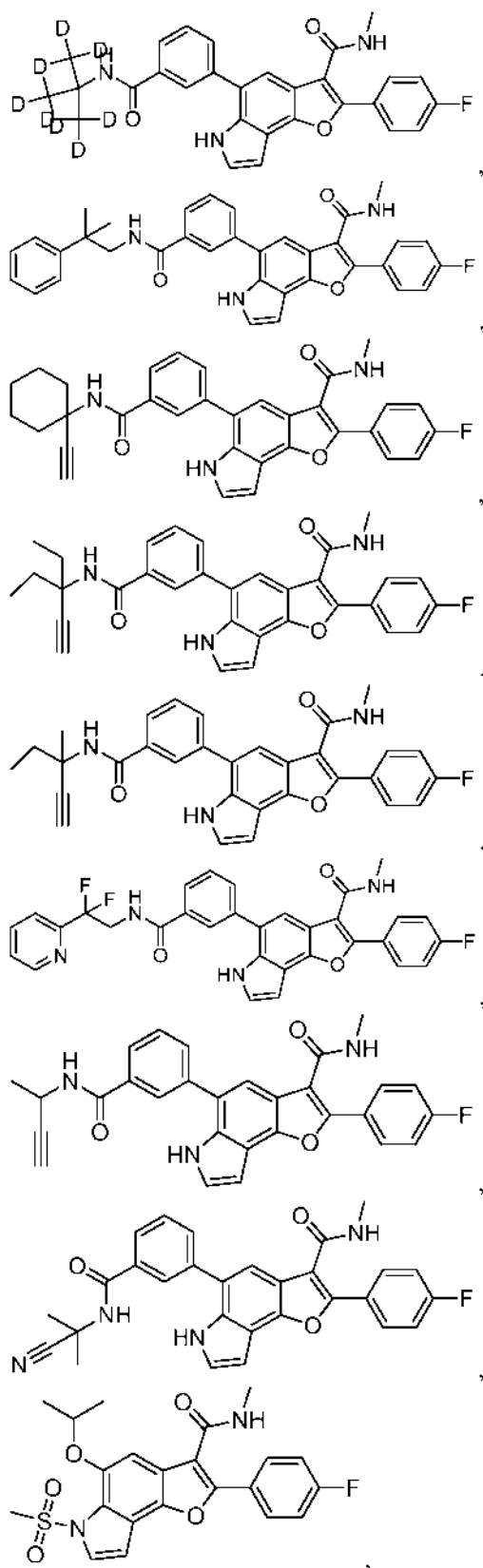


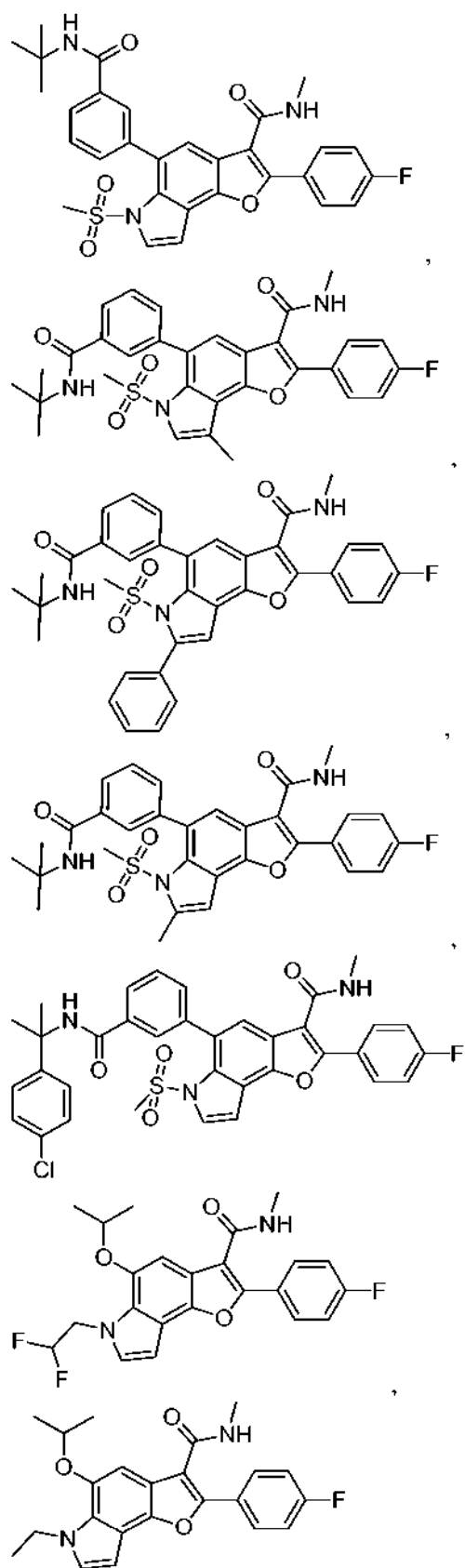


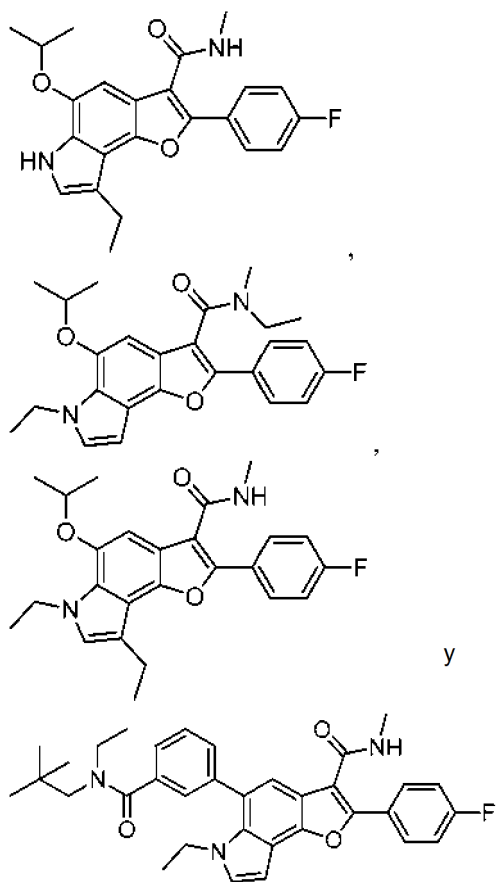






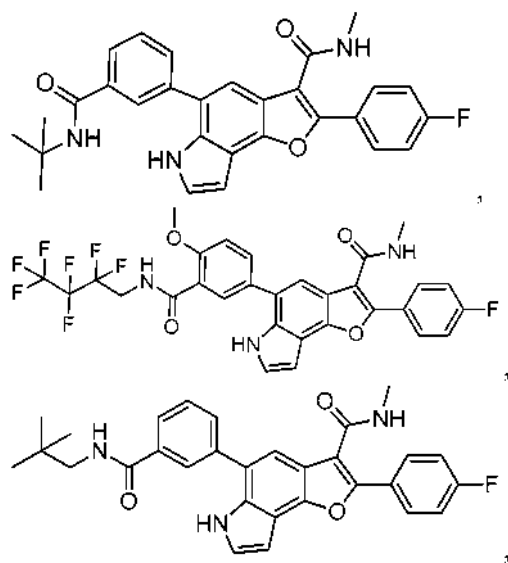


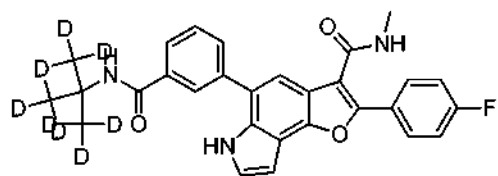
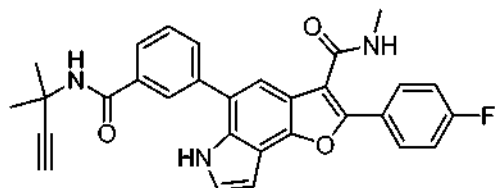
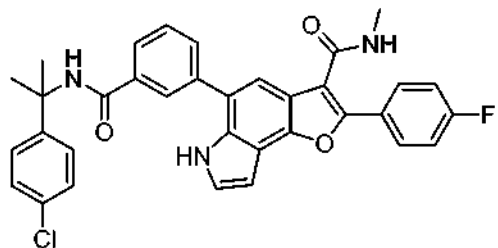
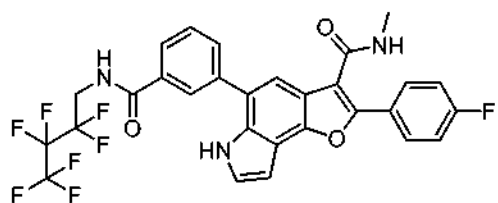
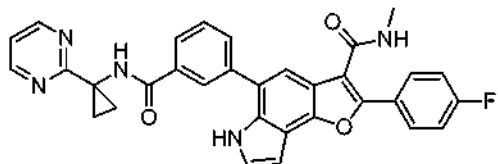
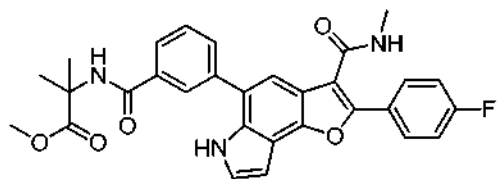
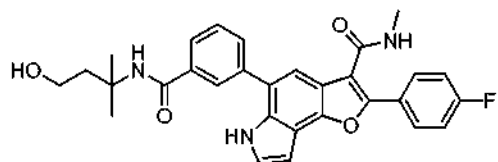
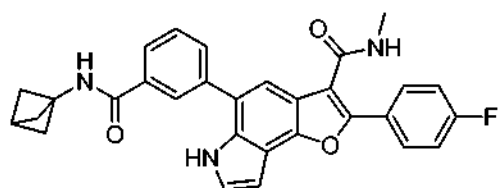


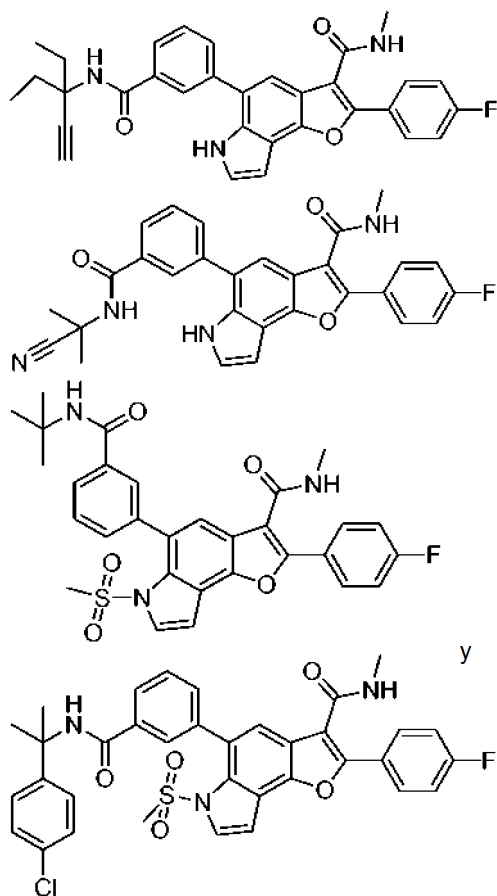


Se prefieren además compuestos, que incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que se seleccionan de entre el grupo de:

5







Composiciones farmacéuticas y métodos de tratamiento

5 Los compuestos de acuerdo con las diversas realizaciones en el presente documento expuestas demuestran actividad contra VHC NS5B, y pueden ser útiles en el tratamiento de VHC e infección por VHC. Por lo tanto, otro aspecto de la invención es una composición que comprende un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

10 Otro aspecto de la invención es una composición que comprende además un compuesto adicional que tiene actividad anti-VHC.

Otro aspecto de la invención es una composición en la que el compuesto que tiene actividad anti-VHC es un interferón o una ribavirina. Otro aspecto de la invención es en el que el interferón se selecciona de entre el grupo de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón linfoblastoideo tau.

Otro aspecto de la invención es una composición en la que el compuesto que tiene actividad anti-VHC es una ciclosporina. Otro aspecto de la invención es en el que la ciclosporina es ciclosporina A.

20 Otro aspecto de la invención es una composición en la que el compuesto que tiene actividad anti-VHC se selecciona de entre el grupo de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de una respuesta de linfocitos T colaboradores de tipo 1, ARN interferente, ARN antisentido, Imiquimod, ribavirina, un inhibidor de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

25 Otro aspecto de la invención es una composición en la que el compuesto que tiene actividad anti-VHC es eficaz para inhibir la función de un objetivo seleccionado de entre el grupo de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, IMPDH y un análogo de nucleósido para el tratamiento de una infección por VHC.

30 Otro aspecto de la invención es una composición que comprende un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un vehículo, excipiente y /o diluyente farmacéuticamente aceptable, como interferona y ribavirina.

También se divulga un método para inhibir la función del replicón de VHC que comprende poner en contacto el replicón de VHC con un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un método para inhibir la función de la proteína NS5B de VHC que comprende poner en contacto la proteína NS5B del VHC con un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un método para tratar una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, el compuesto es eficaz para inhibir la función del replicón de VHC. En otra realización, el compuesto es eficaz para inhibir la función de la proteína NS5B del VHC.

Un método para tratar una infección por VHC en un paciente que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con (antes, después o al mismo tiempo) otro compuesto que tiene actividad anti-VHC.

El método en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es un interferón o una ribavirina.

El método en el que el interferón se selecciona de entre el grupo de interferón alfa 2B, interferón alfa pegilado, interferón de consenso, interferón alfa 2A, interferón lambda e interferón linfoblastoideo tau.

El método en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es una ciclosporina.

El método en el que la ciclosporina es ciclosporina A.

El método en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC se selecciona de entre el grupo de interleucina 2, interleucina 6, interleucina 12, un compuesto que potencia el desarrollo de una respuesta de linfocitos T colaboradores de tipo 1, ARN interferente, ARN antisentido, Imiquimod, ribavirina, un inhibidor de la inosina 5'-monofosfato deshidrogenasa, amantadina y rimantadina.

El método en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es eficaz para inhibir la función de un objetivo seleccionado de entre el grupo de metaloproteasa del VHC, serina proteasa del VHC, polimerasa del VHC, helicasa del VHC, proteína NS4B del VHC, entrada del VHC, ensamblaje del VHC, salida del VHC, proteína NS5A del VHC, IMPDH y un análogo de nucleósido para el tratamiento de una infección por VHC.

La invención es el método en el que el otro compuesto que tiene actividad anti-VHC es eficaz para inhibir la función del objetivo en el ciclo de vida del VHC distinto de la proteína NS5B del VHC.

"Terapéuticamente eficaz" significa la cantidad de agente requerida para proporcionar un beneficio significativo para el paciente tal como lo entienden los médicos en el campo de la hepatitis y la infección por VHC.

"Paciente" significa una persona infectada con el virus del VHC y adecuada para terapia según lo entienden los médicos en el campo de la hepatitis y la infección por VHC.

"Tratamiento", "terapia", "régimen", "infección por VHC" y términos relacionados se usan tal como los entienden los médicos en el campo de la hepatitis y la infección por VHC.

Los compuestos de la presente invención se administran generalmente como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o su sal farmacéuticamente aceptable y un vehículo farmacéuticamente aceptable y pueden contener excipientes convencionales. Los vehículos farmacéuticamente aceptables son aquellos vehículos convencionalmente conocidos que tienen perfiles de seguridad aceptables. Las composiciones abarcan todas las formas sólidas y líquidas comunes que incluyen, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, grageas, y polvos así como suspensiones líquidas, jarabes, elixires y soluciones. Las composiciones se preparan usando técnicas de formulación comunes, y los excipientes convencionales (tales como agentes aglutinantes y humectantes) y vehículos (tales como agua y alcoholes) se usan generalmente para composiciones. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA, 17ª edición, 1985.

Las composiciones sólidas se formulan normalmente en unidades de dosificación y se prefieren las composiciones que proporcionan de aproximadamente 1 a 1000 mg del principio activo por dosis. Algunos ejemplos de posología son 1 mg, 10 mg, 100 mg, 250 mg, 500 mg y 1000 mg.

En general, otros agentes estarán presentes en un intervalo unitario similar a los agentes de esa clase usados clínicamente. Normalmente, esto es alrededor de 0,25-1000 mg/unidad.

Las composiciones líquidas generalmente están en intervalos unitarios de dosificación. En general, la composición líquida estará en un intervalo de dosificación unitario de aproximadamente 1-100 mg/ml. Algunos ejemplos de

posología son 1 mg/ml, 10 mg/ ml, 25 mg/ ml, 50 mg/ml y 100 mg/ml. En general, otros agentes estarán presentes en un intervalo unitario similar a los agentes de esa clase usados clínicamente. Normalmente, esto es aproximadamente de 1-100 mg/ml.

- 5 La invención abarca todos los modos de administración convencionales; se prefieren los métodos oral y parenteral. En general, la posología será similar a otros agentes usados clínicamente. Normalmente, la dosis diaria será de aproximadamente 1-100 mg/kg de peso corporal por día. En general, se requiere más compuesto por vía oral y menos por vía parenteral. La posología específica, sin embargo, será determinada por un médico que use un criterio médico sólido.

- 10 La invención también abarca métodos en los que el compuesto se administra en terapia de combinación. Es decir, el compuesto se puede usar, pero por separado, junto con otros agentes útiles en el tratamiento de la hepatitis y la infección por VHC. En estos métodos de combinación, el compuesto generalmente se administrará en una dosis diaria de aproximadamente 1-100 mg/kg de peso corporal por día junto con otros agentes. Los otros agentes
- 15 generalmente se administrarán en las cantidades usadas terapéuticamente. La posología específica, sin embargo, será determinada por un médico que use un criterio médico sólido.

Algunos ejemplos no limitantes de compuestos adecuados para composiciones y métodos de acuerdo con la invención se enumeran en la Tabla 1.

20

Tabla 1

<i>Marca comercial</i>	<i>Clase fisiológica</i>	<i>Tipo de inhibidor u objetivo</i>	<i>Empresa de origen</i>
NIM811		Inhibidor de ciclofilina	Novartis
Zadaxin		Inmunomodulador	Sciclone
Suvus		Azul de metileno	Bioenvision
Actilon (CPG10101)		Agonista de TLR9	Coley
Batabulina (T67)	Anti cáncer	Inhibidor de la β -tubulina	Tularik Inc., San Francisco sur, CA
ISIS 14803	Antiviral	antisentido	ISIS Pharmaceuticals Inc, Carlsbad, CA/Elan Pharmaceuticals Inc., Nueva York, NY
Summetrel	Antiviral	antiviral	Endo Pharmaceuticals Holdings Inc., Chadds Ford, PA
GS-9132 (ACH-806)	Antiviral	Inhibidor de VHC	Achillion/Gilead
Compuestos de pirazolopirimidina y sales del documento WO-2005047288, 26 de mayo de 2005	Antiviral	Inhibidores de VHC	Arrow Therapeutics Ltd.
Levovirina	Antiviral	Inhibidor de IMPDH	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA
Merimepodib (VX-497)	Antiviral	Inhibidor de IMPDH	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA
XTL-6865 (XTL-002)	Antiviral	anticuerpo monoclonal	XTL Biopharmaceuticals Ltd., Rejovot, Israel
Telaprevir (VX-950, LY-570310)	Antiviral	Inhibidor de la NS3 serina proteasa	Vertex Pharmaceuticals Inc., Cambridge, MA/ Eli Lilly and Co. Inc., Indianápolis, IN
VHC-796	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Wyeth/Viropharma
NM-283	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Idenix/Novartis
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Gene Labs/Novartis
GL-60667	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Gene Labs/Novartis
2'C MeA	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Gilead
PSI 6130	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Roche
R1626	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Roche
2'C metil adenosina	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Merck
JTK-003	Antiviral	inhibidor de RdRp	Japan Tobacco Inc., Tokio, Japón
Levovirina	Antiviral	ribavirina	ICN Pharmaceuticals, Costa Mesa, CA
Ribavirina	Antiviral	ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Viramidina	Antiviral	Profármaco de ribavirina	Ribapharm Inc., Costa Mesa, CA

Heptazima	Antiviral	ribozima	Ribozyme Pharmaceuticals Inc., Boulder, CO
BILN-2061	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
SCH 503034	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Schering Plough
Zadazim	Inmunomodulador	Inmunomodulador	SciClone Pharmaceuticals Inc., San Mateo, CA
Ceplene	Inmunomodulador	inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
CellCept	Inmunosupresor	Inmunosupresor IgG del VHC	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Civacir	Inmunosupresor	Inmunosupresor IgG del VHC	Nabi Biopharmaceuticals Inc., Boca Raton, FL
Albuferon- α	Interferón	albúmina IFN- α 2b	Human Genome Sciences Inc., Rockville, MD
Infergen A	Interferón	IFN alfacon-1	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
IFN omega	Interferón	IFN- ω	Intarcia Therapeutics
IFN- β y EMZ701	Interferón	IFN- β y EMZ701	Transition Therapeutics Inc., Ontario, Canadá
Rebif	Interferón	IFN- β 1a	Serono, Ginebra, Suiza
Roferon A	Interferón	IFN- α 2a	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Intrón A	Interferón	IFN- α 2b	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Intrón A y Zadaxin	Interferón	IFN- α 2b/ α 1-timosina	RegeneRx Biopharma. Inc., Bethesda, MD/SciClone Pharmaceuticals Inc, San Mateo, CA
Rebetron	Interferón	IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
Actimmune	Interferón	INF- γ	InterMune Inc., Brisbane, CA
Interferón- β	Interferón	Interferón- β -1a	Serono
Multiferon	Interferón	IFN de larga duración	Viragen/Valentis
Wellferon	Interferón	IFN- α 1 linfo-blastoide	GlaxoSmithKline plc, Uxbridge, RU
Omniferon	Interferón	IFN- α natural	Viragen Inc., Plantation, FL
Pegasys	Interferón	IFN- α 2a PEGilado	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
Pegasys y Ceplene	Interferón	IFN- α 2a PEGilado/inmunomodulador	Maxim Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
Pegasys y Ribavirin	Interferón	PEGylated IFN- α 2a/ribavirina	F. Hoffmann-La Roche LTD, Basilea, Suiza
PEG-Intrón	Interferón	IFN- α 2b PEGilado	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
PEG-Intron /Ribavirin	Interferón	PEGylated IFN- α 2b/ribavirina	Schering-Plough Corporation, Kenilworth, NJ
IP-501	Protección del hígado	antifibrótico	Indevus Pharmaceuticals Inc., Lexington, MA
IDN-6556	Protección del hígado	inhibidor de caspasa	Idun Pharmaceuticals Inc., San Diego, CA
ITMN-191 (R-7227)	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	InterMune Pharmaceuticals Inc., Brisbane, CA
GL-59728	Antiviral	Inhibidor de la replicasa NS5B	Genelabs
ANA-971	Antiviral	Agonista de TLR-7	Anadys
Boceprevir	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Schering Plough
TMS-435	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Tibotec BVBA, Mechelen, Bélgica
BI-201335	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Boehringer Ingelheim Pharma KG, Ingelheim, Alemania
MK-7009	Antiviral	Inhibidor de la serina proteasa	Merck
PF-00868554	Antiviral	inhibidor de replicasa	Pfizer
ANA598	Antiviral	Inhibidor no nucleosídico de la polimerasa NS5B	Anadys Pharmaceuticals, Inc., San Diego, CA, EE. UU.

IDX375	Antiviral	Inhibidor no nucleosídico de la replicasa	Idenix Pharmaceuticals, Cambridge, MA, EE. UU.
BILB 1941	Antiviral	Inhibidor de la polimerasa NS5B	Boehringer Ingelheim Canada Ltd R&D, Laval, QC, Canadá
PSI-7851	Antiviral	Inhibidor nucleosídico de la polimerasa	Pharmasset, Princeton, NJ, EE. UU.
PSI-7977	Antiviral	Inhibidor nucleotídico de la polimerasa NS5B	Pharmasset, Princeton, NJ, EE. UU.
VCH-759	Antiviral	Inhibidor de la polimerasa NS5B	ViroChem Pharma
VCH-916	Antiviral	Inhibidor de la polimerasa NS5B	ViroChem Pharma
GS-9190	Antiviral	Inhibidor de la polimerasa NS5B	Gilead
Peg-interferon lambda	Antiviral	Interferón	ZymoGenetics/Bristol-Myers Squibb

Métodos de síntesis

Los compuestos se pueden preparar mediante métodos disponibles en la técnica, así como aquellos descritos a continuación. Algunos reactivos e intermedios están disponibles en la técnica. Otros reactivos e intermedios se pueden preparar mediante métodos disponibles en la técnica usando materiales disponibles en el mercado. Las variables (por ejemplo, sustituyentes "R" numerados) usadas para describir la síntesis de los compuestos están destinadas solo a ilustrar cómo preparar y no deben confundirse con las variables usadas en las reivindicaciones o en otras secciones de la memoria descriptiva. Las abreviaturas usadas dentro de los esquemas generalmente siguen las convenciones usadas en la técnica.

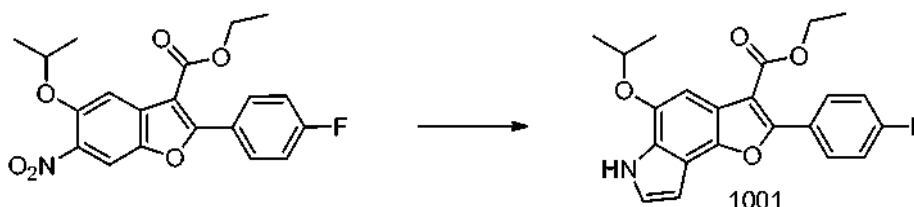
Las abreviaturas usadas en los esquemas generalmente siguen las convenciones usadas en la técnica. Las abreviaturas químicas usadas en la memoria descriptiva y los ejemplos se definen del modo siguiente: "NaHMDS" para bis(trimetilsilil)amida de sodio; "DMF" para N,N-dimetilformamida; "MeOH" para metanol; "NBS" para N-bromosuccinimida; "Ar" para arilo; "TFA" para ácido trifluoroacético; "LAH" para hidruro de litio y aluminio; "DMSO" para dimetilsulfóxido; "h" para horas; "ta" para temperatura ambiente; "tr" para tiempo de retención; "min" para minutos; "EtOAc" para acetato de etilo; "THF" para tetrahidrofurano; "EDTA" para ácido etilendiaminetetraacético; "Et₂O" para éter dietílico; "DMAP" para 4-dimetilaminopiridina; "DCE" para 1,2-dicloroetano; "ACN" para acetonitrilo; "DME" para 1,2-dimetoxietano; "HOBt" para hidrato de 1-hidroxibenzotriazol; "DIEA" para diisopropiletilamina.

Para la sección de compuestos en la serie 0000, todos los datos de cromatografía líquida (CL) se registraron en un cromatógrafo líquido Shimadzu CL-10AS o CL-20AS usando un detector SPD-10AV o SPD-20A UV-Vis y los datos de espectrometría de masas (MS) se determinaron con una plataforma Micromass para CL en modo de electropulverización.

Método de HPLC (es decir, aislamiento del compuesto). Los compuestos purificados por HPLC preparativa se diluyeron en metanol (1,2 ml) y se purificaron usando un sistema de HPLC preparativa automatizada Shimadzu CL-8A o CL-10A o Dionex APS-3000 o Waters Acuity™.

Ejemplos:

Preparación de los compuestos 1001, 1003-1008:

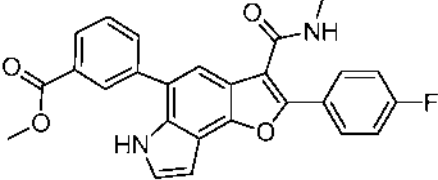


A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-6-nitrobenzofuran-3-carboxilato de etilo (30 mg) en THF (5 ml) se añadió bromuro de vinilmagnesio (71,2 mg) lentamente a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 30 minutos y luego a -40 °C. durante 4 horas. La reacción se interrumpió con solución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml). La fase orgánica se combinó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar un residuo que se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa para proporcionar el compuesto 1001.

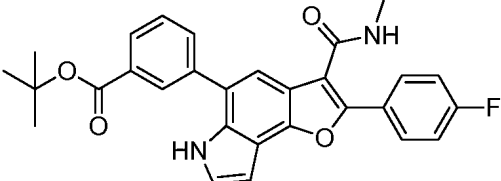
1001	
MS (M+H) ⁺ calculada	382,1
MS (M+H) ⁺ observada	382,1
Tiempo de retención	1,69 min
Condición CL	
Disolvente A	5 % de ACN: 95 % de agua: Acetato de amonio 10 mM
Disolvente B	95 % de ACN: 5 % de agua: Acetato de amonio 10 mM
Inicio % de B	40
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	ACN: Agua: Acetato de amonio
Columna	Phenomenex LUNA C18, 30x2, 3 u

El compuesto 1003 se preparó mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 1001, usando 3-(2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6-nitrobenzofuran-5-il)benzoato de metilo como material de partida.

5

 1003	
MS (M+H) ⁺ calculada	443,1
MS (M+H) ⁺ observada	443,0
Tiempo de retención	1,90 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	30
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

El compuesto 1004 se preparó mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 1001, usando 3-(2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6-nitrobenzofuran-5-il)benzoato de *tert*-butilo como material de partida.

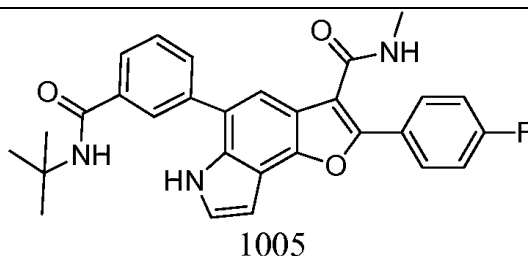
 1004	
MS (M+H) ⁺ calculada	485,2
MS (M+H) ⁺ observada	485,2
Tiempo de retención	1,89 min

Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

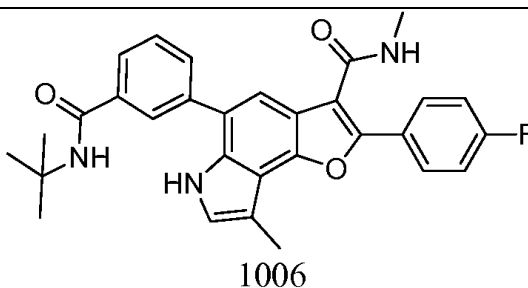
Los compuestos 1005, 1006, 1007 y 1008 se prepararon mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 1001, usando 5-(3-(*tert*-butilcarbamoil)fenil)-2-(4-fluorofenil)-N-metil-6-nitrobenzofuran-3-carboxamida como uno de los materiales de partida. Los otros materiales de partida fueron los agentes Grinard correspondientes.

5

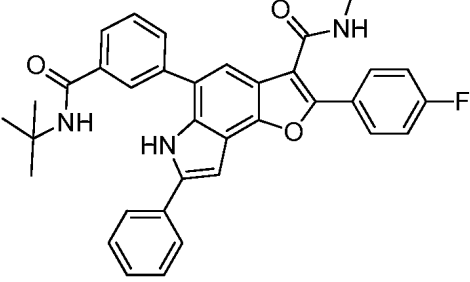
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

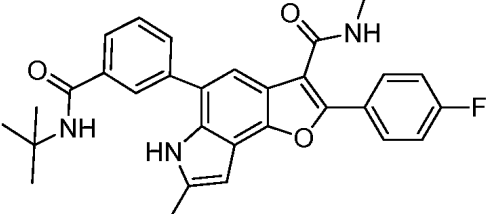


MS (M+H) ⁺ calculada	484,2
MS (M+H) ⁺ observada	484,1
Tiempo de retención	1,72 min

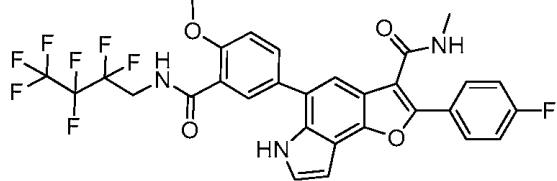


MS (M+H) ⁺ calculada	498,2
MS (M+H) ⁺ observada	498,1
Tiempo de retención	1,80 min

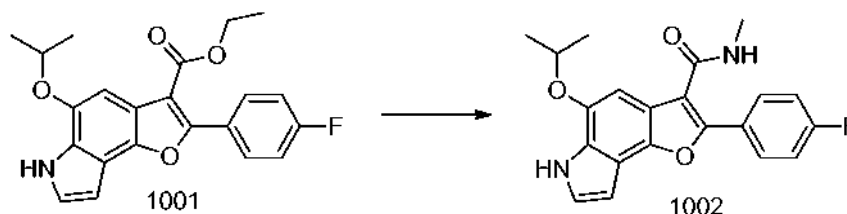
	
1007	
MS (M+H) ⁺ calculada	560,2
MS (M+H) ⁺ observada	560,2
Tiempo de retención	2,16 min

	
1008	
MS (M+H) ⁺ calculada	498,2
MS (M+H) ⁺ observada	498,1
Tiempo de retención	1,84 min

- 5 El compuesto 1009 se preparó mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 1001, usando 2-(4-fluorofenil)-5-(3-((2,2,3,3,4,4,4-heptafluorobutil)carbamoil)-4-metoxifenil)-N-metil-6-nitrobenzofuran-3-carboxamida como uno de los materiales de partida.

	
1009	
MS (M-H) ⁺ calculada	638,1
MS (M-H) ⁺ observada	638,4
Tiempo de retención	1,96 min
Condición CL	
Disolvente A	5 % de ACN: 95 % de agua: Acetato de amonio 10 mM
Disolvente B	95 % de ACN: 5 % de agua: Acetato de amonio 10 mM
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	ACN: Agua: Acetato de amonio
Columna	Phenomenex LUNA C18, 30x2, 3 u

Preparación del compuesto 1002:

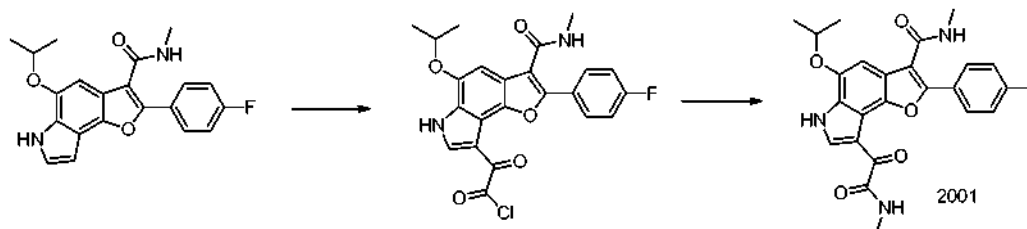


A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-6H-furo[2,3-e]indolo-3-carboxilato de etilo (30 mg) en etanol (1,5 ml) se añadió metanamina (3 ml, 40 % en agua). La mezcla se calentó a 80 °C durante 16 horas. Todos los disolventes se eliminaron al vacío para dar un residuo que se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

5

1002	
MS (M+H) ⁺ calculada	367,1
MS (M+H) ⁺ observada	367,1
Tiempo de retención	1,27 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación del compuesto 2001:



10

Etapa 1: A una suspensión de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (60 mg) en éter (5 ml) se añadió dicloruro de oxalilo (0,246 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Todos los disolventes se eliminaron al vacío. El residuo se usó como estaba.

15

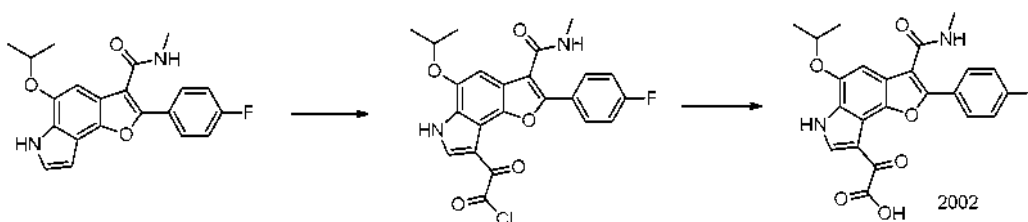
Etapa 2: A una solución de cloruro de 2-(2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-3-(metilcarbamoil)-6H-furo[2,3-e]indol-8-il)-2-oxoacetilo (20 mg) en THF (2 ml) se añadió hidrocloreuro de metanamina (59,1 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Todos los disolventes se eliminaron al vacío para dar un residuo que se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

20

2001	
MS (M+H) ⁺ calculada	452,2
MS (M+H) ⁺ observada	452,2
Tiempo de retención	1,64 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA

Inicio % de B	30
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación del compuesto 2002:



5

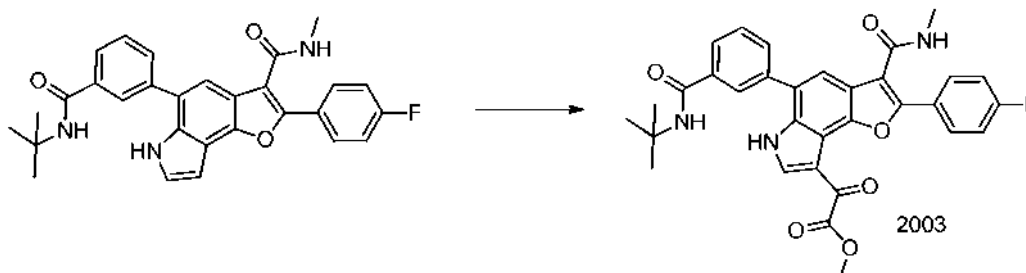
Etapa 1: A una suspensión de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (60 mg) en éter (5 ml) se añadió dicloruro de oxalilo (0,246 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Todos los disolventes se eliminaron al vacío. El residuo se usó como estaba.

- 10 Etapa 2: A una solución de cloruro de 2-(2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-3-(metilcarbamoil)-6H-furo[2,3-e]indol-8-il)-2-oxoacetilo (20 mg) en THF (2 ml) se añadió agua (15,77 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Todos los disolventes se eliminaron al vacío para dar un residuo que se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

2002	
MS (M+H) ⁺ calculada	439,1
MS (M+H) ⁺ observada	439,1
Tiempo de retención	1,44 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	30
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

15

Preparación del compuesto 2003:

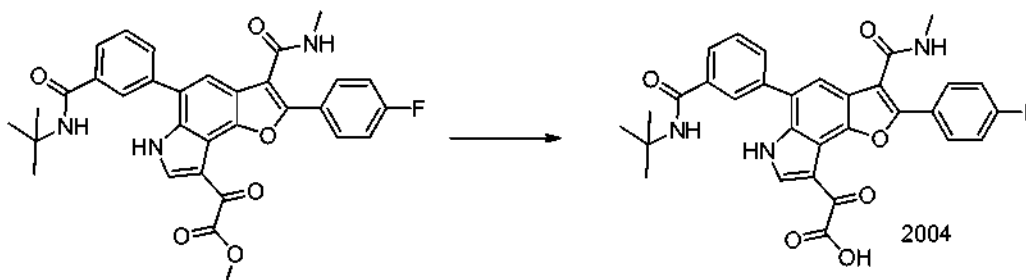


A una suspensión de 5-(3-(*tert*-butilcarbamoil)fenil)-2-(4-fluorofenil)-N-metil-6H-furo[2,3-*e*]indol-3-carboxamida (70 mg) en CH₂Cl₂ (20 ml) se añadió 2-cloro-2-oxoacetato de metilo (70,9 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. La reacción se interrumpió con solución acuosa saturada de NH₄Ac y se extrajo con CH₂Cl₂. La capa orgánica se lavó con H₂O y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar un residuo que se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

5

2003	
MS (M+H) ⁺ calculada	570,2
MS (M+H) ⁺ observada	570,2
Tiempo de retención	2,12 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	10
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación del compuesto 2004:



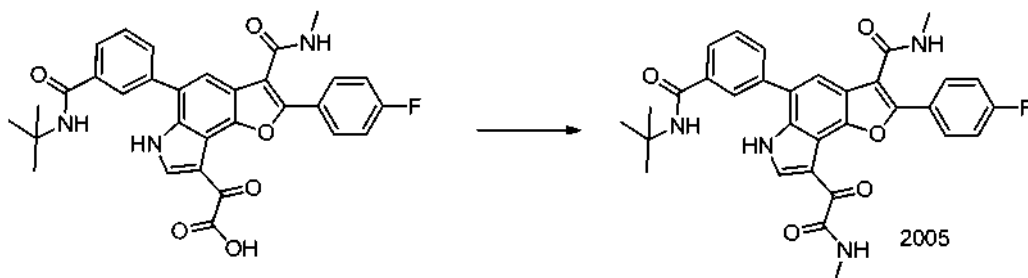
10

A una suspensión de 2-(5-(3-(*tert*-butilcarbamoil)fenil)-2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6H-furo[2,3-*e*]indol-8-il)-2-oxoacetato de metilo (70 mg) en THF (6 ml) y agua (2 ml) se añadió NaOH (0,49 ml, 1M). La mezcla se calentó a 80 °C durante 6 horas. La mezcla se acidificó a pH ~ 5 y se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera y se concentró para dar el compuesto 2004.

15

2004	
MS (M+H) ⁺ calculada	556,2
MS (M+H) ⁺ observada	556,3
Tiempo de retención	1,26 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación de los compuestos 2005, 2006 y 2007:



- 5 A una solución de ácido 2-(5-(3-(*terc*-butilcarbamoyl)fenil)-2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoyl)-6H-furo[2,3-e]indol-8-il)-2-oxoacético (35 mg), hidrocloreuro de metanamina (17,01 mg) y HCTU (31,3 mg) en DMF (1,5 ml) se añadió DIPEA (0,066 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. El producto 2005 se aisló mediante un sistema de HPLC preparativa.

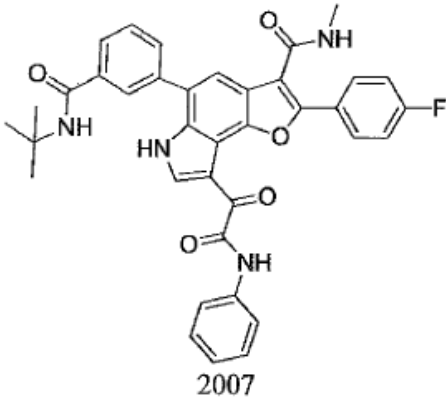
2005	
MS (M+H) ⁺ calculada	569,2
MS (M+H) ⁺ observada	569,3
Tiempo de retención	1,36 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

- 10 El compuesto 2006 se preparó mediante el mismo procedimiento para con 2005, usando hidrocloreuro de dimetilamina como material de partida.

MS (M+H) ⁺ calculada	583,2
MS (M+H) ⁺ observada	583,2
Tiempo de retención	1,25 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min

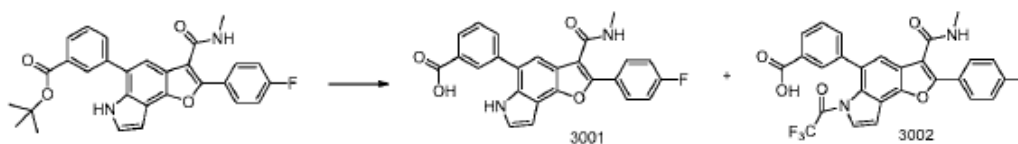
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

El compuesto 2007 se preparó mediante el mismo procedimiento para con 2005, usando anilina como material de partida.

 2007	
MS (M+H) ⁺ calculada	631,2
MS (M+H) ⁺ observada	631,3
Tiempo de retención	1,90 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

5

Preparación de los compuestos 3001 y 3002:

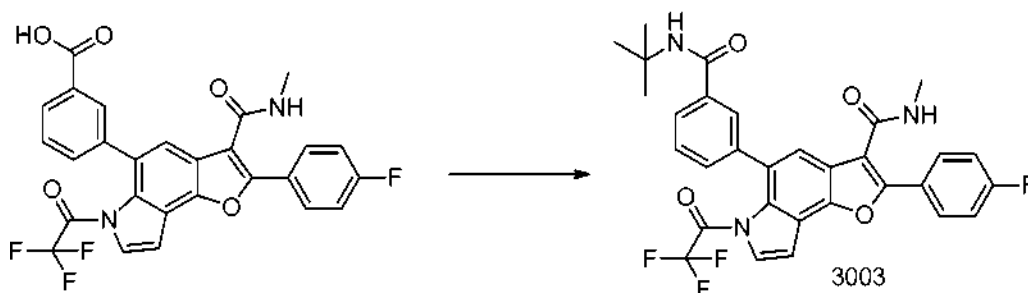


- 10 Se añadió TFA (1 ml) a una solución de 3-(2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoyl)-6H-furo[2,3-e]indol-5-il)benzoato de *terc*-butilo en CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Los disolventes se eliminaron al vacío y el residuo se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa para dar el compuesto 3001 y el compuesto 3002.

3001	
MS (M+H) ⁺ calculada	429,1
MS (M+H) ⁺ observada	428,9
Tiempo de retención	2,09 min
3002	

MS (M+H) ⁺ calculada	525,1
MS (M+H) ⁺ observada	524,9
Tiempo de retención	2,31 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación del compuesto 3003:



5

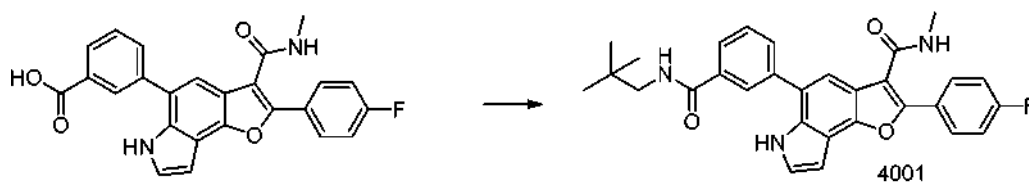
A una solución de ácido 3-(2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6-(2,2,2-trifluoroacetil)-6H-furo[2,3-e]indol-5-il)benzoico (6 mg) y 2-metilpropan-2-amina (8,37 mg) en DMF (2 ml) se añadió HATU (6,53 mg) y DIPEA (0,016 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

3003	
MS (M+H) ⁺ calculada	580,2
MS (M+H) ⁺ observada	580,1
Tiempo de retención	2,16 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	30
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

10

Preparación de los compuestos 4001-4022:

El procedimiento típico de la preparación del compuesto 4001:

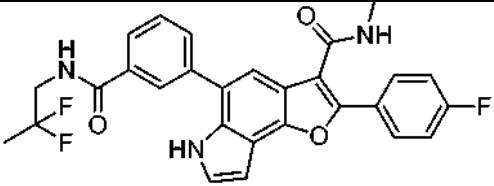
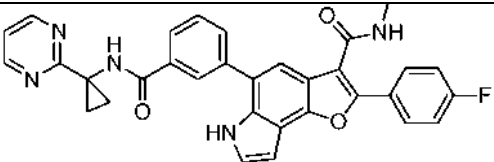


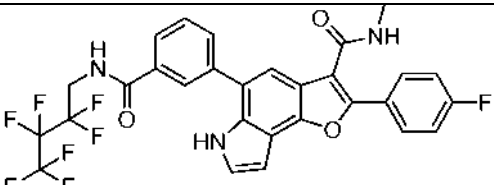
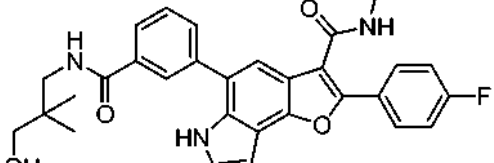
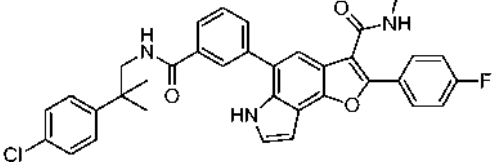
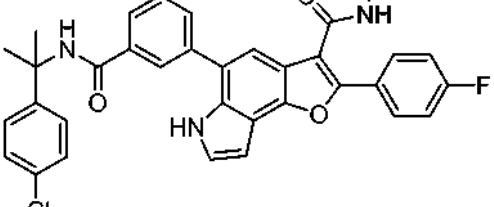
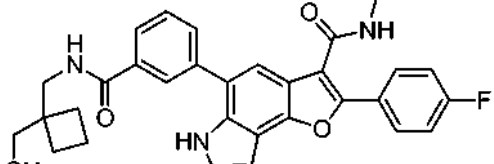
5 iPr₂NEt (0,25 ml) y HCTU (58 mg) se añadieron a la solución de ácido 3-(2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6H-furo[2,3-e]indol-5-il)benzoico (30 mg) y 2,2-dimetilpropan-1-amina (12,2 mg) en DMF (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, y el producto se aisló usando un sistema de HPLC preparativa.

4001	
MS (M+H) ⁺ calculada	498,2
MS (M+H) ⁺ observada	498,0
Tiempo de retención	2,34 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

10 Los compuestos 4002-4022 se prepararon mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 4001, usando las aminas correspondientes como materiales de partida. La condición de CL para el compuesto 4002-4022 fue la misma para el compuesto 4001.

N. ° de compuesto	Estructura	MS (M+H) ⁺ calculada	MS (M+H) ⁺ observada	Tiempo de retención (min)
4002		494,2	494,0	2,30
4003		514,2	514,0	2,20
4004		528,2	528,0	2,22

4005		506,2	505,9	2,20
4006		546,2	546,0	2,18

N. ° de compuesto	Estructura	MS (M+H)+ calculada	MS (M+H)+ observada	Tiempo de retención (min)
4007		610,1	610,0	2,33
4008		514,2	514,0	2,12
4009		594,2	594,0	2,39
4010		580,2	580,0	2,38
4011		526,2	526,0	2,13

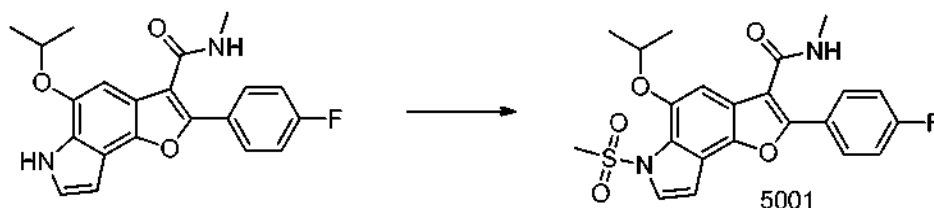
4012		540,2	540,0	2,13
4013		494,2	494,0	2,14

N. ° de compuesto	Estructura	MS (M+H)+ calculada	MS (M+H)+ observada	Tiempo de retención (min)
4014		493,3	493,1	2,23
4015		570,2	570,1	2,28
4016		560,2	560,1	2,40
4017		534,2	534,0	2,49
4018		522,2	522,0	2,19
4019		508,2	508,0	2,25

4020		569,2	569,0	2,17
------	--	-------	-------	------

N. ° de compuesto	Estructura	MS (M+H)+ calculada	MS (M+H)+ observada	Tiempo de retención (min)
4021		480,2	480,0	2,15
4022		495,2	495,1	2,16

Preparación de los compuestos 5001, 5003-5006:



5

A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (20 mg) y NaH (4,37 mg) en THF (2 ml) se añadió cloruro de metanosulfonilo (12,51 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se interrumpió con una solución acuosa de NaHCO₃ y se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavó con salmuera y se concentró. El residuo se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

10

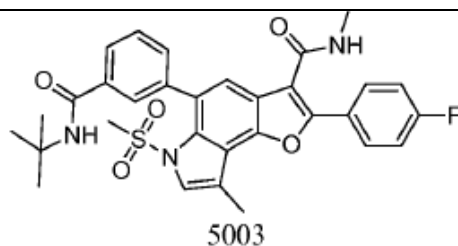
5001	
MS (M+H)+ calculada	445,1
MS (M+H)+ observada	445,1
Tiempo de retención	1,48 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	50
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Los compuestos 5003-5005 se prepararon mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 5001, usando los correspondientes furo[2,3-e]indoles como materiales de partida.

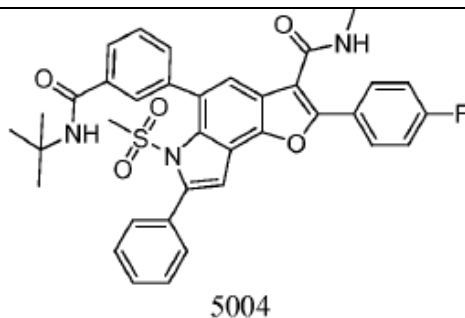
15

Condición CL	
Disolvente A	5 % de ACN: 95 % de agua: Acetato de amonio 10 mM

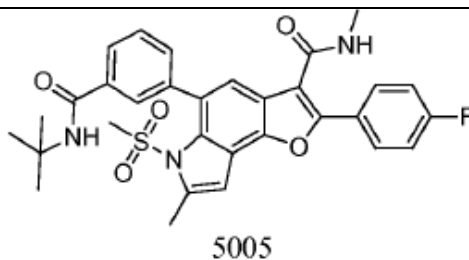
Disolvente B	95 % de ACN: 5 % de agua: Acetato de amonio 10 mM
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	ACN: Agua: Acetato de amonio
Columna	Phenomenex LUNA C18, 30x2, 3 u



MS (M+H) ⁺ calculada	576,2
MS (M+H) ⁺ observada	576,4
Tiempo de retención	1,86 min

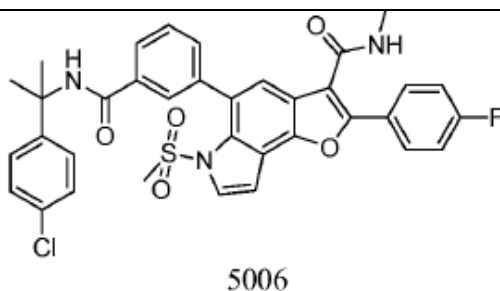


MS (M+H) ⁺ calculada	638,2
MS (M+H) ⁺ observada	638,4
Tiempo de retención	1,77 min



MS (M+H) ⁺ calculada	576,2
MS (M+H) ⁺ observada	576,4
Tiempo de retención	1,65 min

- 5 El compuesto 5006 se preparó mediante el mismo procedimiento para con el compuesto 5001, usando los furo[2,3-e]indoles correspondientes como materiales de partida.



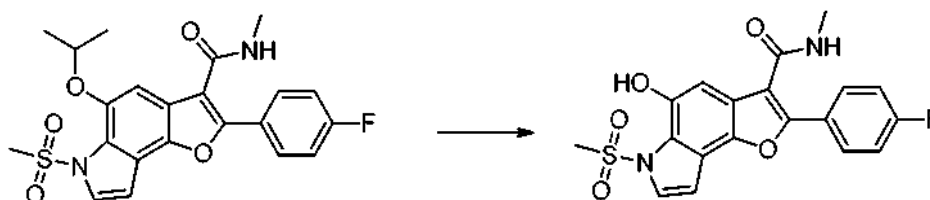
MS (M+H) ⁺ calculada	658,2
---------------------------------	-------

MS (M+H) ⁺ observada	658,2
Tiempo de retención	2,36 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Preparación del compuesto 5002:

Etapas 1:

5

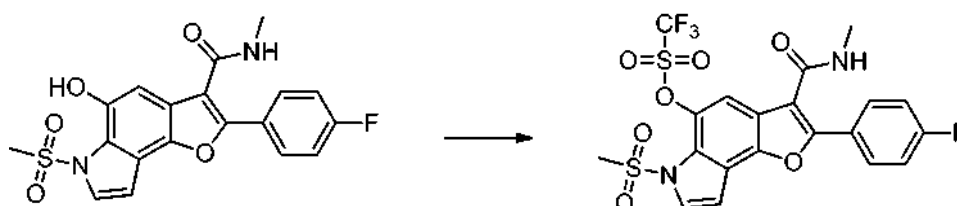


10

A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6-(metilsulfonil)-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (18 mg) en CH₂Cl₂ (5 ml) se añadió tricloroborano (0,12 ml) a -78 °C. La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla se diluyó con 20 ml de CH₂Cl₂ y se lavó con una solución acuosa de NaHCO₃ al 5 % y salmuera, se secó sobre MgSO₃ y se concentró para dar 2-(4-fluorofenil)-5-hidroxi-N-metil-6-(metilsulfonil)-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida.

MS (M+H) ⁺ calculada	403,1
MS (M+H) ⁺ observada	403,0
Tiempo de retención	1,87 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	10
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

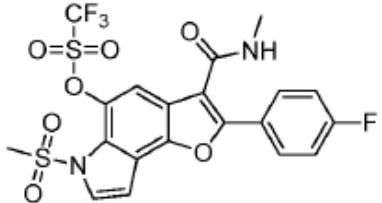
15 Etapas 2:



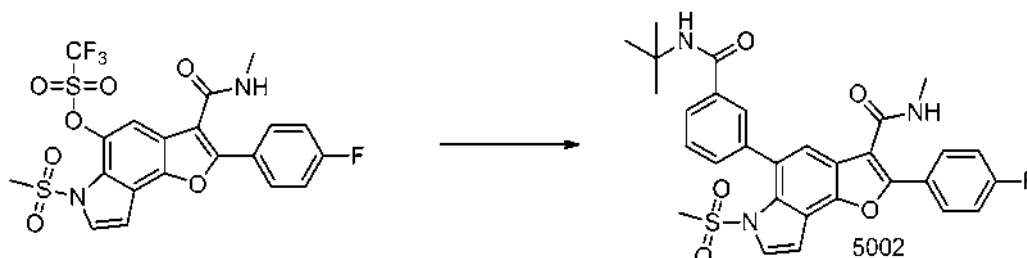
A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-hidroxi-N-metil-6-(metilsulfonil)-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (12 mg) y

NEt₃ (0,025 ml) en CH₂Cl₂ (5 ml) se añadió una solución de 1,1,1-trifluoro-N-fenil-N-((trifluorometil)sulfonyl)metanosulfonamida (53,3 mg) en 1 ml de CH₂Cl₂ gota a gota a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora y luego a temperatura ambiente durante 2 días. La reacción se interrumpió con una solución acuosa de NaHCO₃ al 5 % y se extrajo con CH₂Cl₂ (10 ml). La capa orgánica se lavó con agua y salmuera (5 ml), se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

5

	
MS (M+H) ⁺ calculada	535,0
MS (M+H) ⁺ observada	535,0
Tiempo de retención	2,02 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	10
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

Etapas 3:



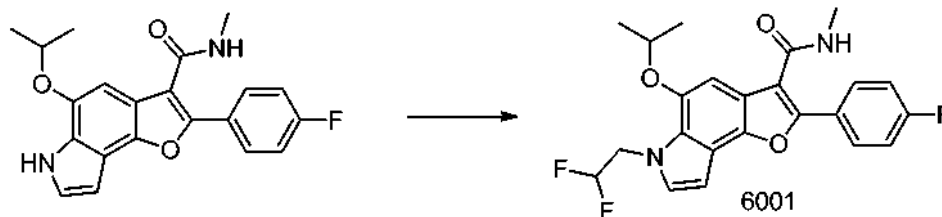
10

A una mezcla de 2-(4-fluorofenil)-3-(metilcarbamoil)-6-(metilsulfonyl)-6H-furo[2,3-e]indol-5-il trifluorometanosulfonato (4,2 mg), ácido (3-(*tert*-butilcarbamoil)fenil)borónico (2,61 mg) y Cs₂CO₃ (7,68 mg) en dioxano (2 ml) y agua (0,40 ml) se añadió Pd(PPh₃)₄ (1,36 mg). La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno y después se calentó a 90 °C durante 16 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (2x10 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

15

5002	
MS (M+H) ⁺ calculada	562,2
MS (M+H) ⁺ observada	562,2
Tiempo de retención	2,13 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	10
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

20 Preparación del compuesto 6001:

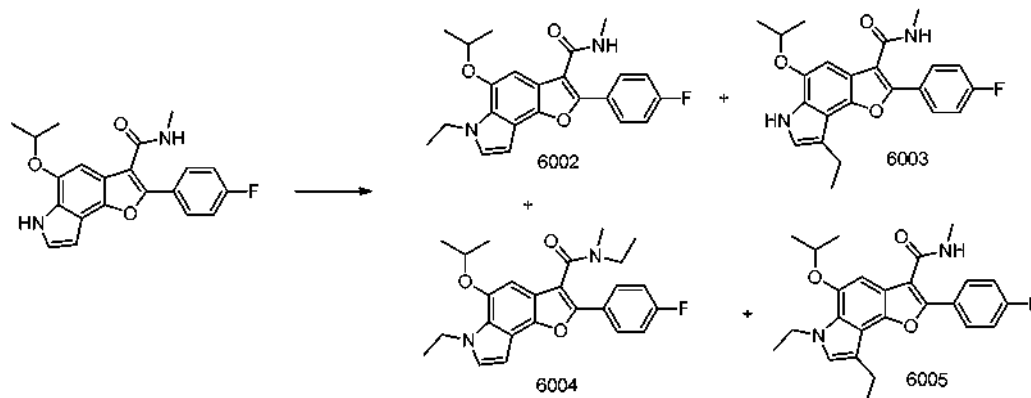


- 5 A una solución de 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (20 mg) y NaH (4,37 mg) en THF (2 ml) se añadió 2-bromo-1,1-difluoroetano (15,82 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La reacción se interrumpió con una solución acuosa de NaHCO₃ y se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavó con salmuera y se concentró. El residuo se purificó mediante un sistema de HPLC preparativa.

6001	
MS (M+H) ⁺ calculada	431,2
MS (M+H) ⁺ observada	431,1
Tiempo de retención	2,28 min
Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA
Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um

10

Preparación de los compuestos 6002-6005:

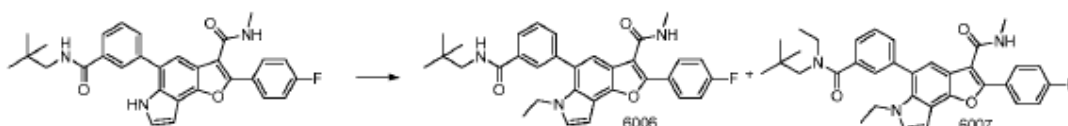


- 15 Se añadió NaH (92 mg, 60 %) a una solución de EtI (358 mg) and 2-(4-fluorofenil)-5-isopropoxi-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida (560 mg) en THF (10 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, antes de interrumpirse con MeOH. A continuación, los productos se aislaron mediante un sistema de HPLC preparativa.

Condición CL	
Disolvente A	90 % de agua -10 % de metanol-0,1 % de TFA
Disolvente B	10 % de agua -90 % de metanol-0,1 % de TFA
Inicio % de B	0
Final % de B	100
Tiempo del gradiente	2 min
Caudal	1 ml/min
Longitud de onda	220
Par de disolventes	Agua-metanol-TFA

Columna	PHENOMENEX-LUNA 2,0 x 30 mm 3 um
6002	
MS (M+H) ⁺ calculada	395,2
MS (M+H) ⁺ observada	395,1
Tiempo de retención	2,27 min
6003	
MS (M+H) ⁺ calculada	395,2
MS (M+H) ⁺ observada	395,1
Tiempo de retención	2,31 min
6004	
MS (M+H) ⁺ calculada	423,2
MS (M+H) ⁺ observada	423,2
Tiempo de retención	2,46 min
6005	
MS (M+H) ⁺ calculada	423,2
MS (M+H) ⁺ observada	423,2
Tiempo de retención	2,60 min

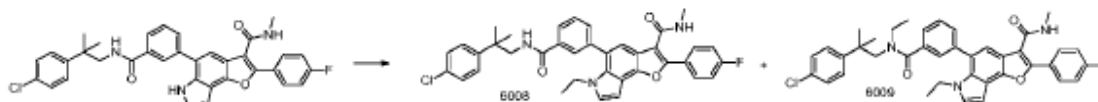
5 Preparación de los compuestos 6006 y 6007:



- 10 Los compuestos 6006 y 6007 se prepararon mediante el mismo procedimiento para con los compuestos 6002-6005, usando 2-(4-fluorofenil)-N-metil-5-(3-(neopentilcarbamoil)fenil)-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida como materiales de partida. La condición de LC para 6006/6007 fue la misma que para la de 6002-6005.

6006	
MS (M+H) ⁺ calculada	526,2
MS (M+H) ⁺ observada	526,2
Tiempo de retención	2,48 min
6007	
MS (M+H) ⁺ calculada	554,3
MS (M+H) ⁺ observada	554,2
Tiempo de retención	2,56 min

15 Preparación de los compuestos 6008 y 6009:



- 20 Los compuestos 6008 y 6009 se prepararon mediante el mismo procedimiento para con los compuestos 6002-6005, usando 5-(3-((2-(4-clorofenil)-2-metilpropil)carbamoil)fenil)-2-(4-fluorofenil)-N-metil-6H-furo[2,3-e]indol-3-carboxamida como materiales de partida. La condición de LC para 6008/6009 fue la misma que para la de 6002-6005.

6008	
MS (M+H) ⁺ calculada	622,2
MS (M+H) ⁺ observada	622,2
Tiempo de retención	2,58 min
6009	
MS (M+H) ⁺ calculada	650,3

MS (M+H) ⁺ observada	650,3
Tiempo de retención	2,65 min

Métodos biológicos

El compuesto demostró actividad contra NS5B de VHC como se determina en los siguientes ensayos RdRp del VHC.

Clonación, expresión y purificación de RdRp NS5B del VHC. El ADNc que codifica las proteínas NS5B del genotipo 1b del VHC (Con1), una variante del genotipo 1b con el aminoácido 316 mutado de cisteína a asparagina, y el genotipo 2a (JFH-1), se clonaron en el vector de expresión pET21a. Cada proteína no etiquetada se expresó con un truncamiento C-terminal de 18 aminoácidos para potenciar la solubilidad. La línea celular competente de E. coli BL21 (DE3) se usó para la expresión de la proteína. Los cultivos se desarrollaron a 37 °C durante ~4 horas hasta que los cultivos alcanzaron una densidad óptica de 2,0 a 600 nm. Los cultivos se enfriaron a 20 °C y se indujeron con IPTG 1 mM. Se añadió ampicilina fresca a una concentración final de 50 µg/ml y las células se cultivaron durante una noche a 20 °C.

Los sedimentos celulares (3 l) se lisaron para la purificación para producir 15-24 mg de NS5B purificada. El tampón de lisis consistió en Tris-HCl 20 mM, pH 7,4, NaCl 500 mM, triton X-100 al 0,5 %, DTT 1 mM, EDTA 1 mM, glicerol al 20 %, 0,5 mg/ml de lisozima, MgCl₂ 10 mM, 15 µg/ml de desoxirribonucleasa I, y comprimidos de inhibidor de proteasa Complete™ (Roche). Después de la adición del tampón de lisis, los sedimentos celulares congelados se resuspendieron usando un homogeneizador de tejidos. Para reducir la viscosidad de la muestra, se sometió a ultrasonidos alicuotas del lisado en hielo usando una micropunta unida a un baño de ultrasonidos Branson. El lisado sometido a ultrasonidos se centrifugó a 100.000 xg durante 30 minutos a 4 °C y se filtró a través de una unidad de filtro de 0,2 µm (Corning).

La proteína se purificó usando dos etapas de cromatografía secuencial: Heparin Sepharose CL-6B y PolyU Sepharose 4B. Los tampones de cromatografía fueron idénticos al tampón de lisis pero no contenían lisozima, desoxirribonucleasa I, MgCl₂ o inhibidor de proteasa y la concentración de NaCl del tampón se ajustó de acuerdo con los requisitos para cargar la proteína en la columna. Cada columna se eluyó con un gradiente de NaCl que varió en longitud de 5-50 volúmenes de columna dependiendo del tipo de columna. Después de la etapa final de cromatografía, la pureza resultante de la enzima es > 90 % basada en el análisis SDS-PAGE. La enzima se dividió en alícuotas y se almacenó a -80 °C.

Ensayo enzimático RdRp NS5B del VHC. Se usó un ensayo homogéneo en fase sólida en perlas en un formato de 384 pocillos para evaluar los inhibidores de NS5B (Wang Y-K, Rigat K, Roberts S y Gao M (2006) Anal Biochem, 359: 106-111). El cebador oligo biotinilado dT₁₂ fue capturado sobre perlas de formación de imágenes acopladas a estreptavidina (GE, RPNQ0261) mezclando el cebador y las perlas en tampón 1X e incubando a temperatura ambiente durante tres horas. El cebador no unido se eliminó después de la centrifugación. Las perlas unidas al cebador se resuspendieron en una mezcla de reacción 3X (tampón Hepes 20 mM, pH 7,5, perlas acopladas al cebador dT, molde poli A, ³H-UTP, e inhibidor de ARNasa (Promega N2515)). Los compuestos se diluyeron en serie 1: 3 en DMSO y se dividieron en alícuotas en placas de ensayo. Volúmenes iguales (5 µl) de agua, mezcla de reacción 3X, y la enzima en tampón de ensayo 3X (tampón Hepes 60 mM, pH 7,5, MgCl₂ 7,5 mM, KCl 7,5 mM, DTT 3 mM, 0,03 mM de ASB, glicerol al 6 %) se añadieron al compuesto diluido en la placa de ensayo. Concentración final de los componentes en el ensayo de 384 pocillos: molde 0,36 nM, cebador 15 nM, ³H-UTP 0,29 µM (0,3 µCi), 1,6 U/µl de inhibidor de ARNasa, enzima NS5B 7 nM, 0,01 mg/ml de ASB, DTT 1 mM y 0,33 µg/µl de perlas, tampón Hepes 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 2,5 mM, KCl 2,5 mM y DMSO al 0,1 %.

Las reacciones se dejaron transcurrir durante 24 horas a 30 °C y se terminaron mediante la adición de EDTA 50 mM (5 µl). Después de incubar durante al menos 15 minutos, se leyeron las placas en un sistema de formación de imágenes multimodales LEADseeker de Amersham.

Los valores CI₅₀ para los compuestos se determinaron usando diez diferentes [I]. Los valores CI₅₀ se calcularon a partir de la inhibición usando la fórmula logística de cuatro parámetros $y = A + ((B-A)/(1+((C/x)^D)))$, en la que A y B indican el % de inhibición mínima y máxima, respectivamente, C es la CI₅₀, D es la pendiente y x representa la concentración del compuesto.

Líneas celulares. Las líneas celulares usadas para evaluar compuestos consisten en una línea celular humana procedente de hepatocitos (Huh-7) que expresa constitutivamente un replicón de VHC de genotipo 1b (Con-1) o un replicón de VHC de genotipo 1b (Con-1) con una asparagina reemplazando a la cisteína en el aminoácido 316, o un replicón de genotipo 2a (JFH-1), que contiene un gen indicador de luciferasa de Renilla. Estas células se mantuvieron en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contenía SFB al 10 %, 100 U/ml de penicilina/estreptomycin y 1,0 mg/ml de G418.

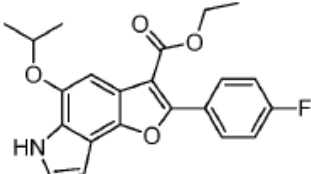
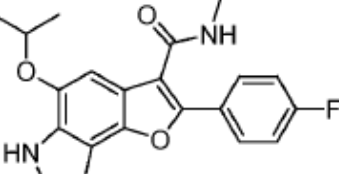
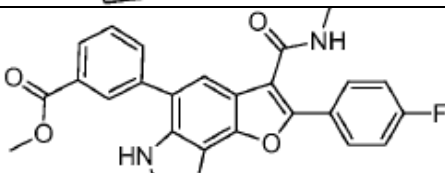
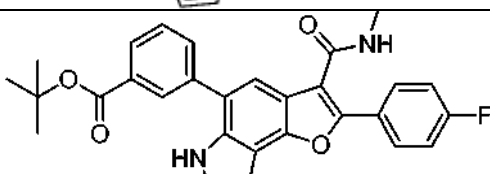
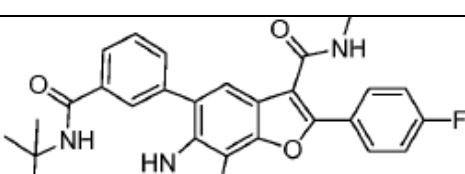
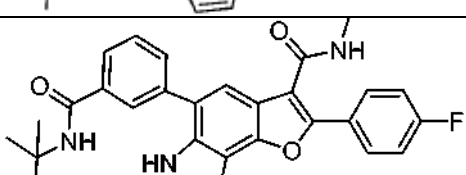
Ensayo de luciferasa de replicón de VHC. Para evaluar la eficacia del compuesto, los compuestos titulados se transfirieron a cultivos de tejidos estériles de 384 pocillos, y las placas se sembraron con células de replicón de VHC

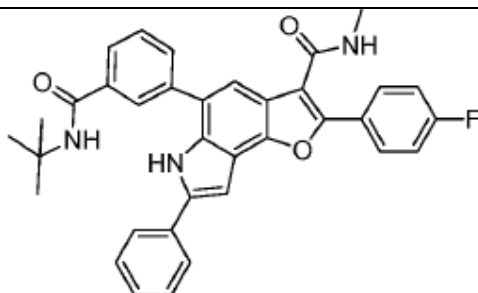
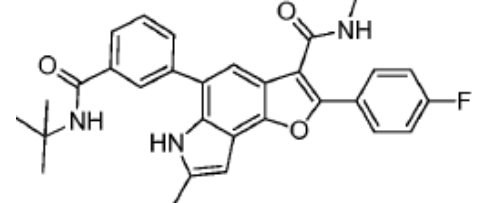
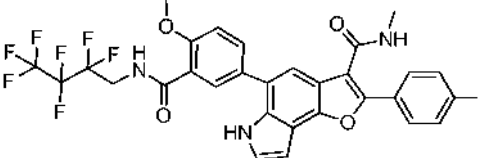
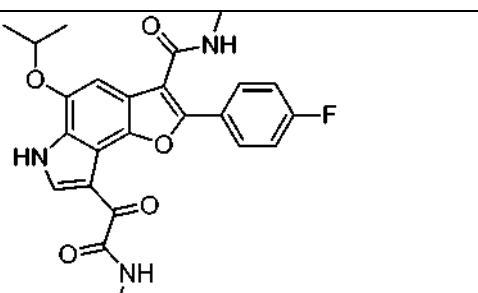
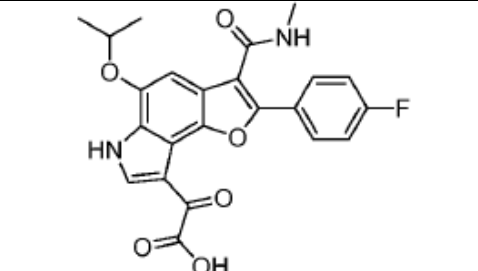
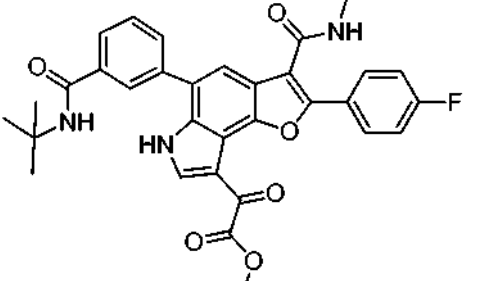
(50 μ l a una densidad de $2,4 \times 10^3$ células/pocillo que contiene SFB al 4 % (concentración final de DMSO al 0,5 %). Después de 3 días de incubación a 37 °C, las células se analizaron para la actividad de Renilla Luciferase usando el sustrato EnduRen (Promega cat n.º E6485) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Brevemente, el sustrato EnduRen se diluyó en DMEM y luego se añadió a las placas hasta una concentración final de 7,5 μ M. Las placas se incubaron durante al menos 1 h a 37 °C y luego se leyeron en una cámara Viewlux (PerkinElmer) usando un programa de luminiscencia. La concentración efectiva del 50 % (CE₅₀) se calculó usando la fórmula logística de cuatro parámetros indicada anteriormente.

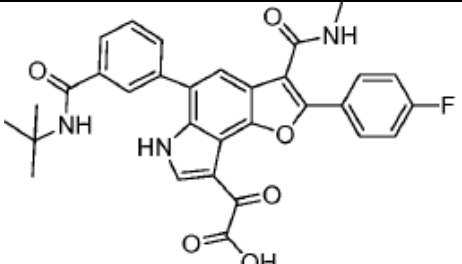
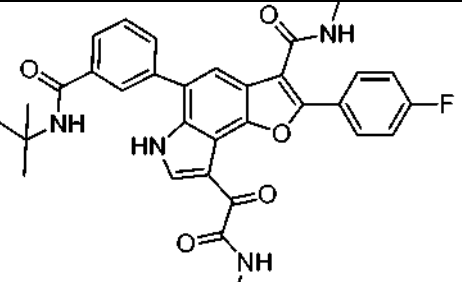
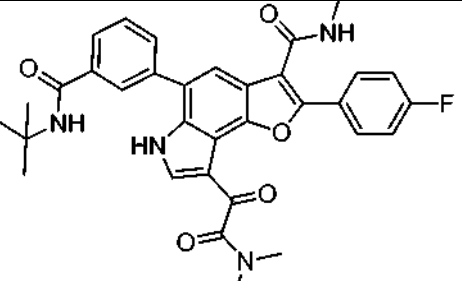
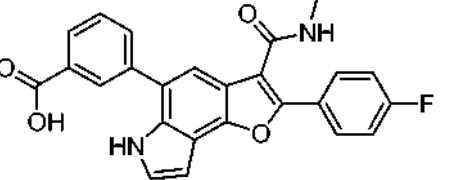
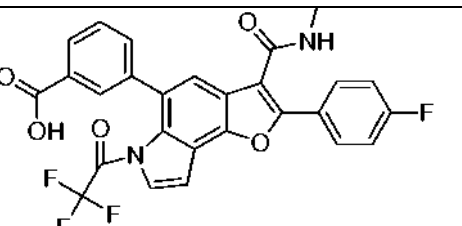
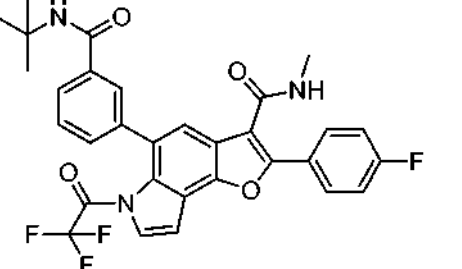
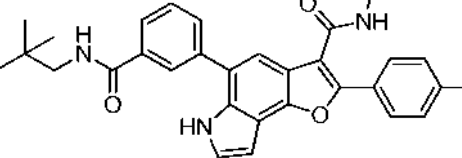
Para evaluar la citotoxicidad de los compuestos, se añadió Cell Titer-Blue (Promega) a las placas que contenían EnduRen y se incubaron durante al menos 4 horas a 37 °C. La señal de fluorescencia de cada pocillo se leyó usando una cámara Viewlux. Todos los valores CC₅₀ se calcularon usando la fórmula logística de cuatro parámetros.

Los datos de CE₅₀ de los compuestos se expresan como A: < 100 nM; B = 100-1000 nM; C > 1000 nM). Los datos representativos para los compuestos se indican en la Tabla 2.

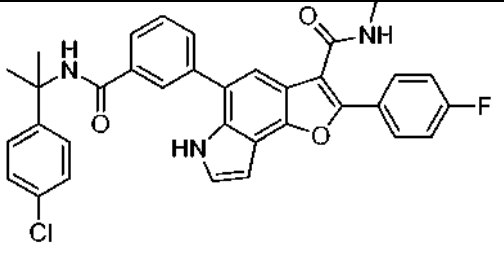
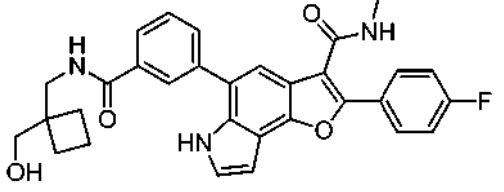
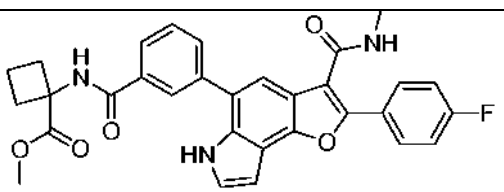
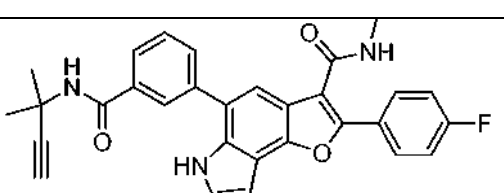
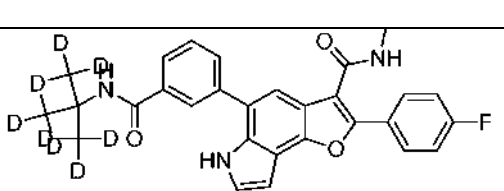
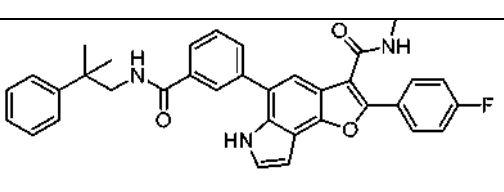
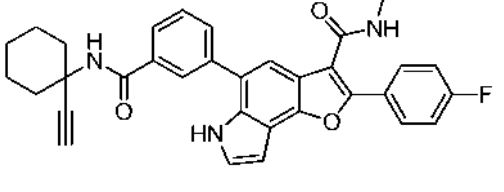
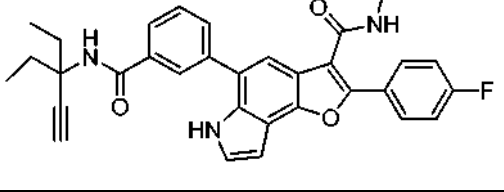
Tabla 2

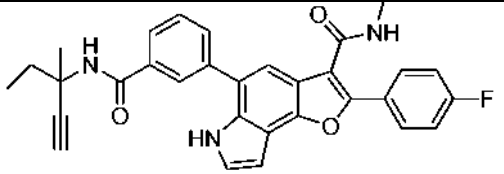
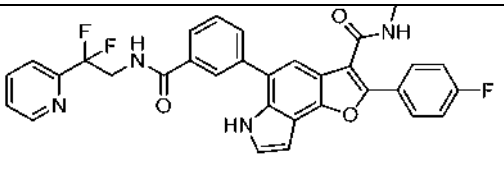
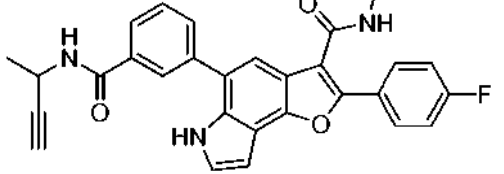
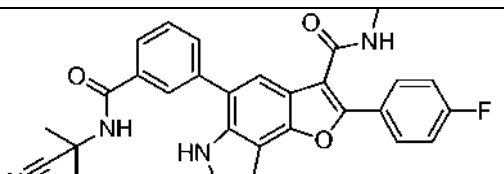
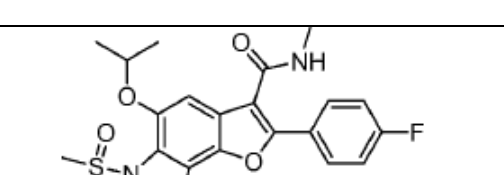
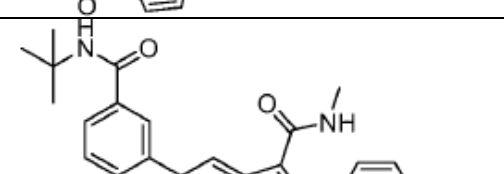
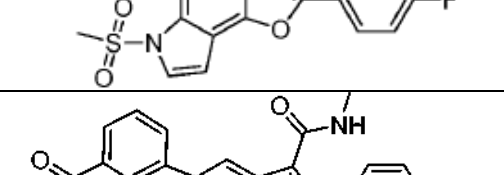
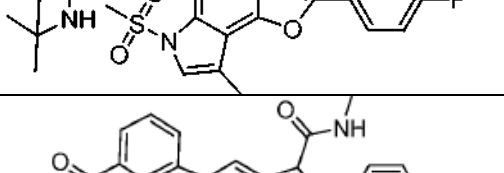
N.º de compuesto	Estructura	CE ₅₀ (μ M) 1b
1001		C
1002		C
1003		1,46 C
1004		B
1005		0,050 A
1006		0,51 B

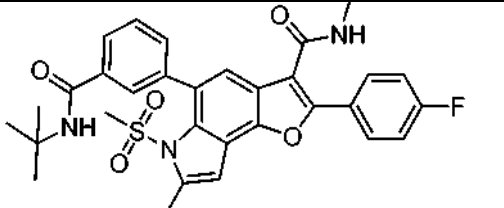
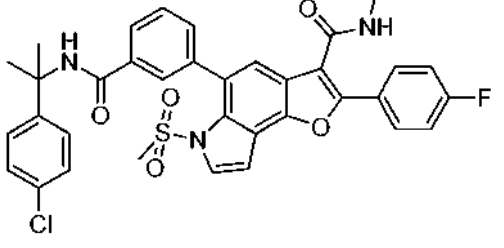
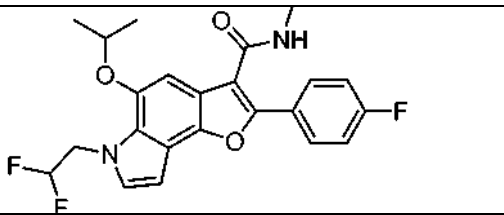
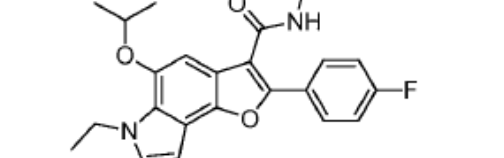
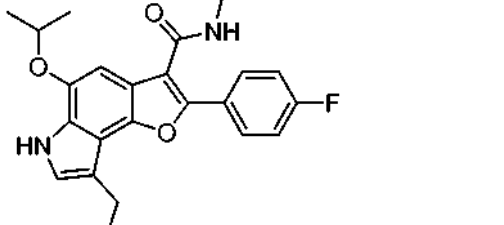
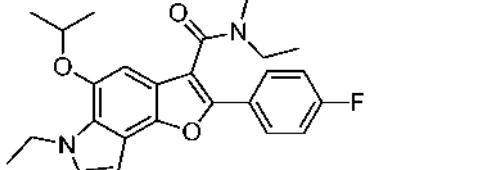
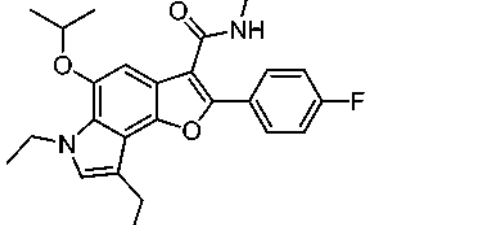
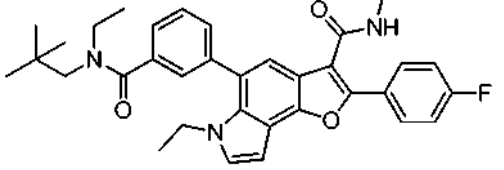
1007		B
1008		B
1009		A
2001		C
2002		C
2003		0,44 B

2004		C
2005		5,16 C
2006		C
3001		C
3002		C
3003		0,20 B
4001		0,083 A

4002		A
4003		A
4004		A
4005		0,15 B
4006		A
4007		0,049 A
4008		0,13 B
4009		B

4010		0,027 A
4011		B
4012		B
4013		A
4014		A
4016		B
4017		B
4018		A

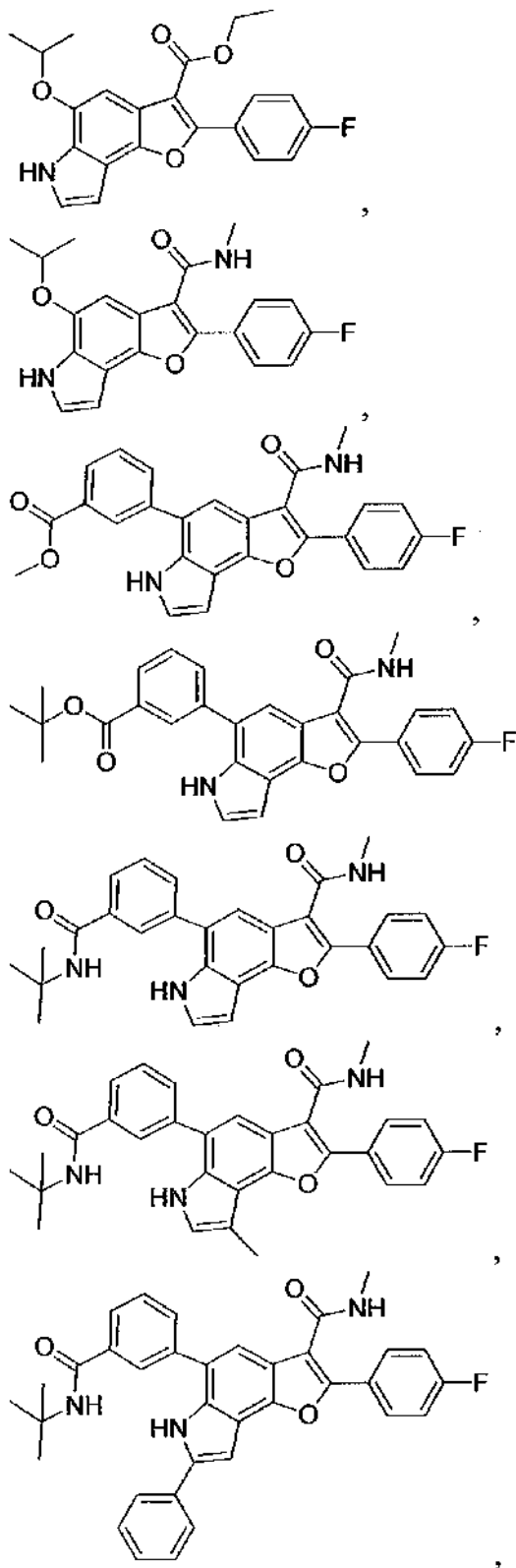
4019		B
4020		B
4021		B
4022		0,015 A
5001		C
5002		A
5003		C
5004		B

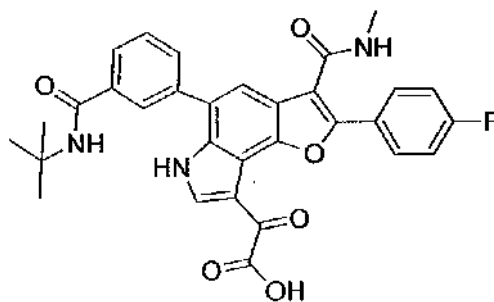
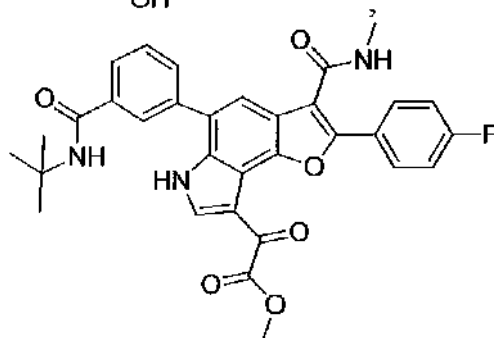
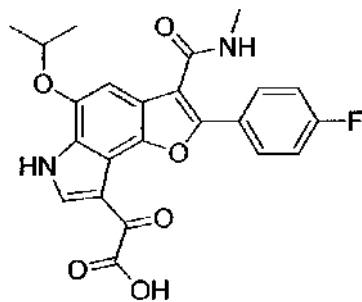
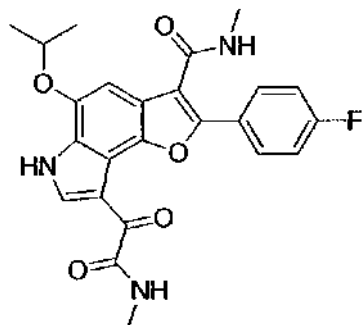
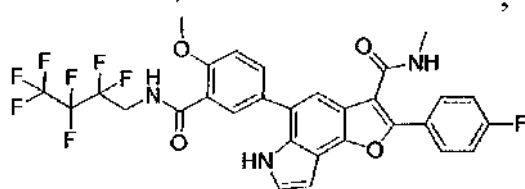
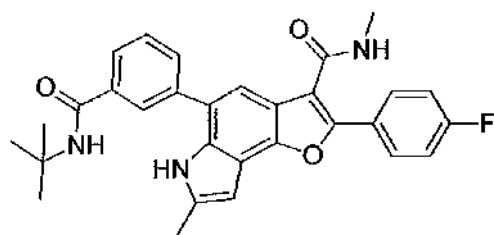
5005		C
5006		A
6001		C
6002		C
6003		C
6004		C
6005		C
6007		B

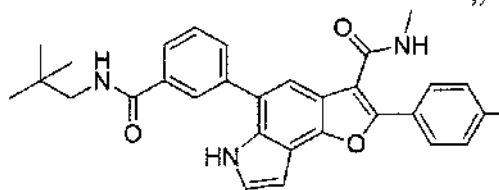
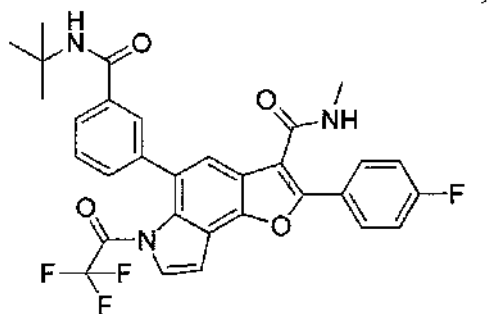
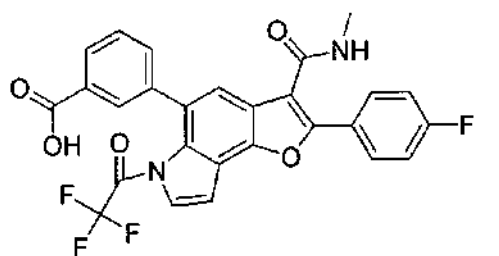
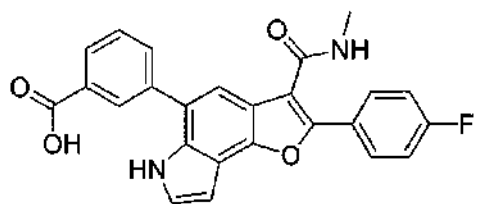
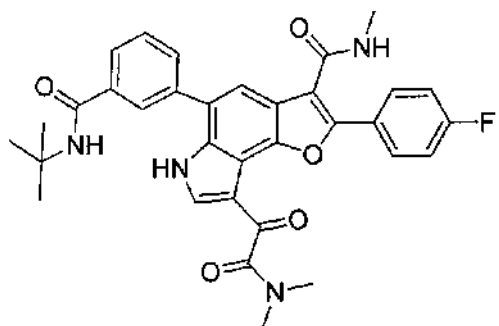
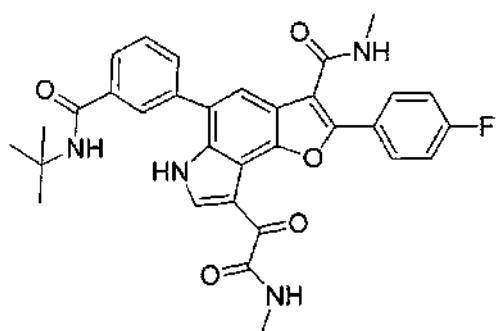
REIVINDICACIONES

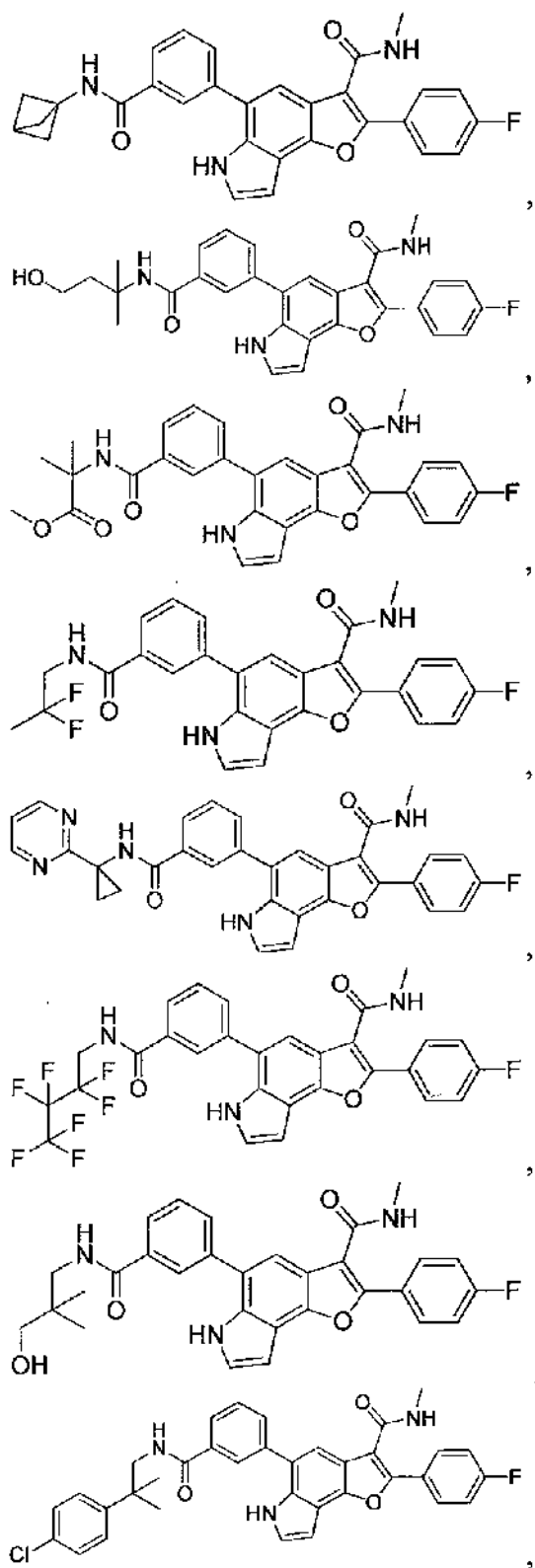
1. Un compuesto, que incluye sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que se selecciona de entre el grupo de:

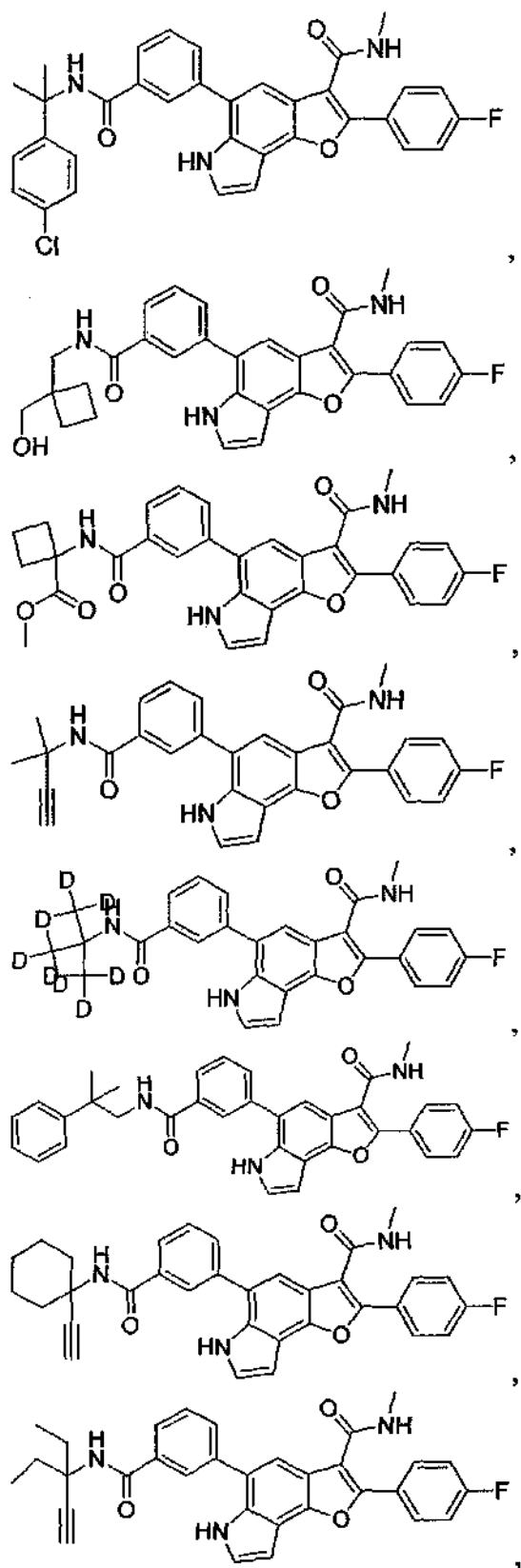
5

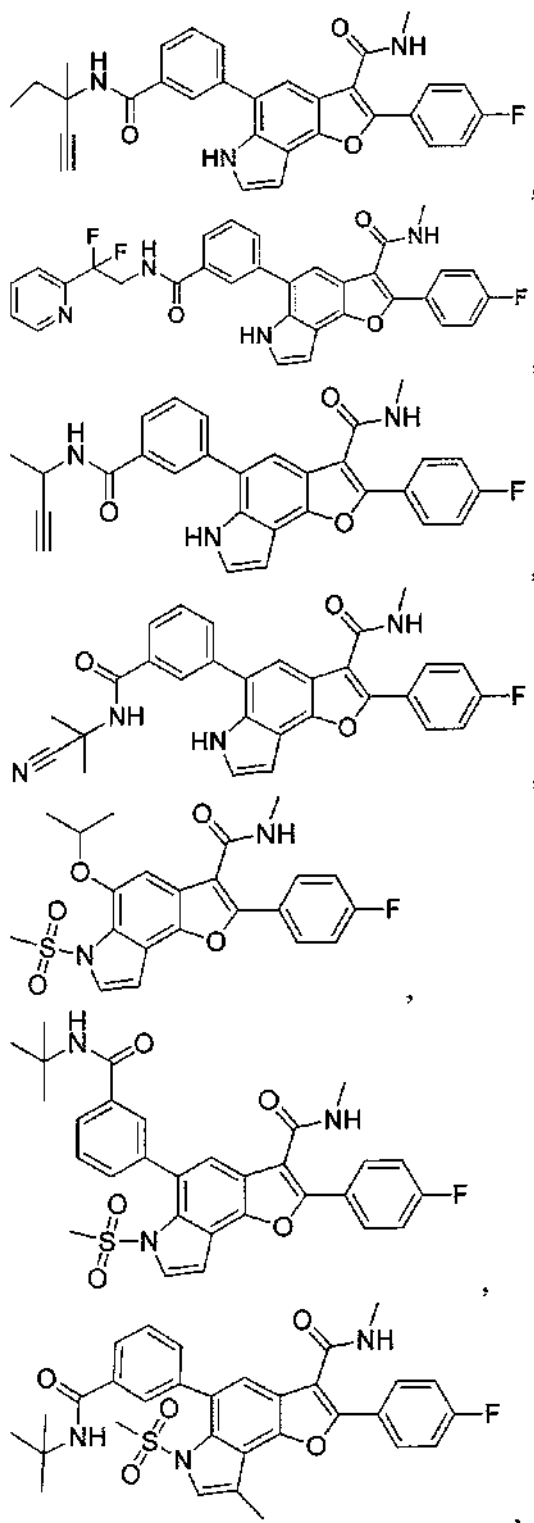


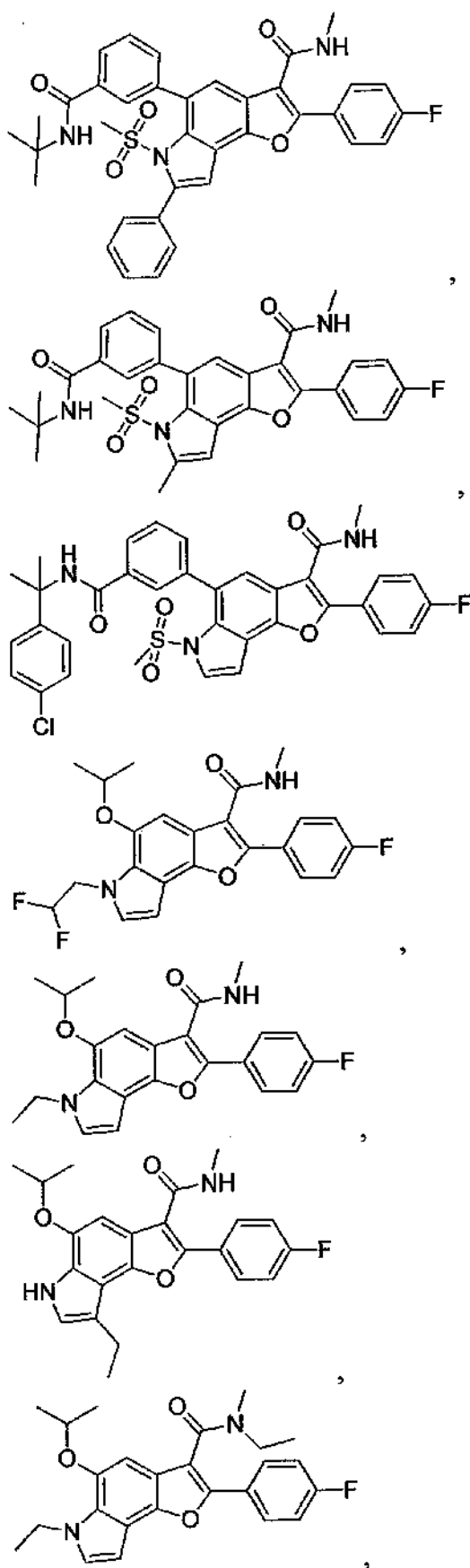


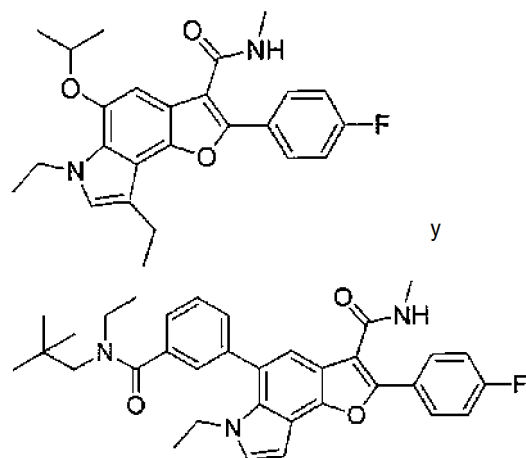






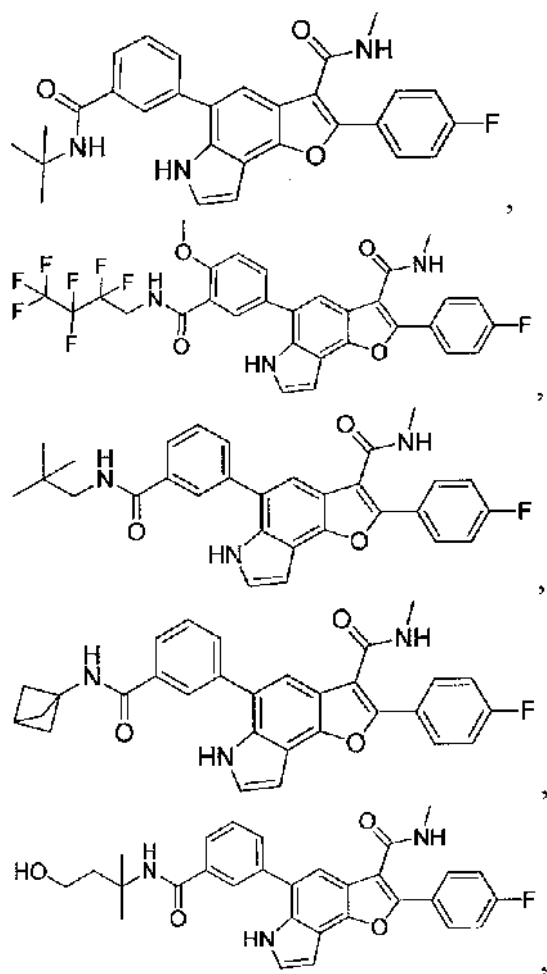


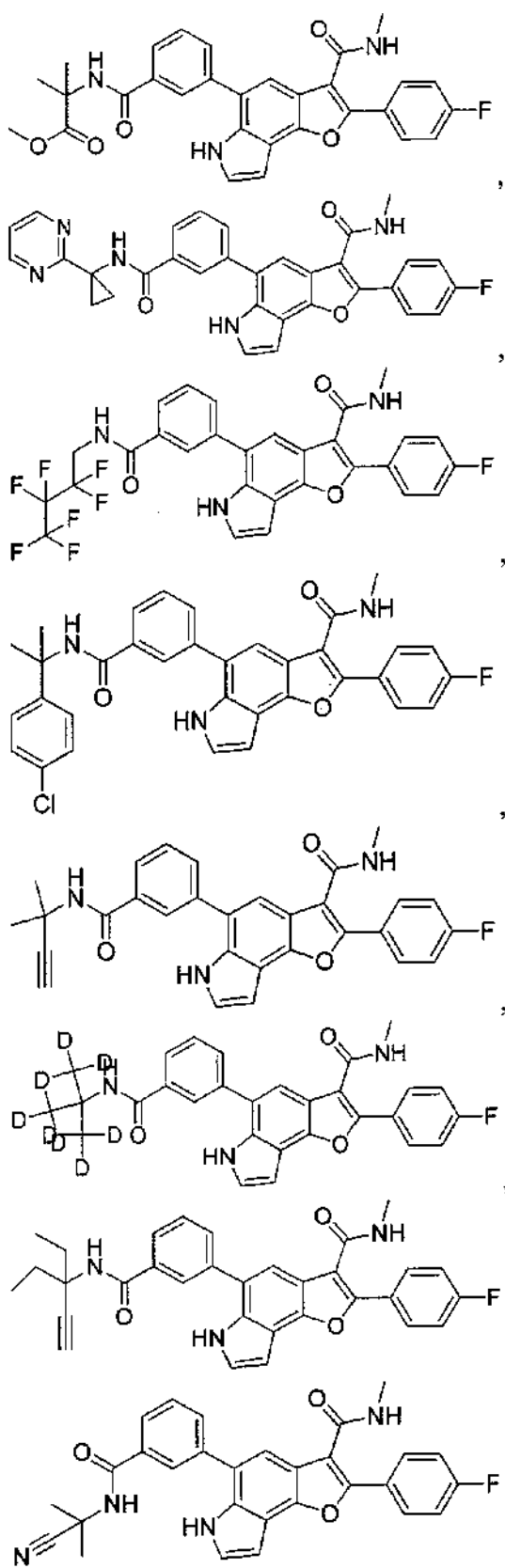


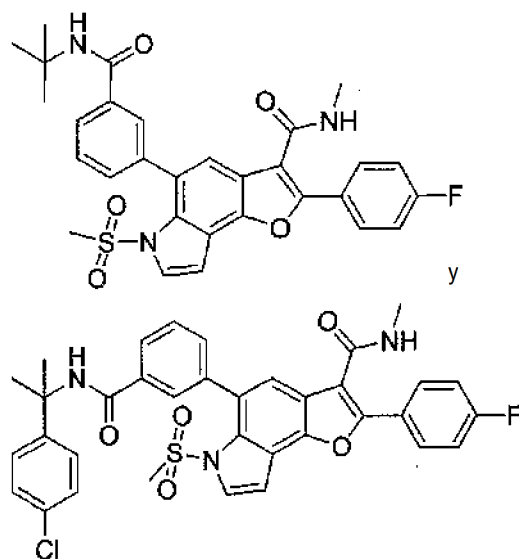


2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que incluye sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que se selecciona de entre el grupo de:

5







3. Una composición que comprende un compuesto de las reivindicaciones 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo, un excipiente y/o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

5

4. Un compuesto de las reivindicaciones 1 o 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la infección por hepatitis C.