JOSE LLOREDA CAMACHO & CO.
ABOGADOS
Calle 72 No. 5-83 Piso 5, Bogotá, D.C. Tel: 6069700 Fax 6069701

Señor
SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y C
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
E. S.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-033082- -00006-0000
Fecha: 2011-02-17 16:23:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 325

Re: PI.-**IDENIX PHARMACEUTICALS, INC.**-Solicitud de Patente de Invención en Fase Nacional PCT para **"FOSFOINDOLES ENANTIOMERICAMENTE PUROS COMO INHIBIDORES DE VIH".**- Clase **C07F 9/572**.-Expediente número **09-033.082.**-

1. Me refiero a mi memorial del 28 de Mayo de 2009.

2. De conformidad con lo dispuesto en el Artículo 5.2.12 de la Circular Externa No. 03 de 28 de Abril de 2003, y estando dentro del plazo de seis meses contados desde la fecha de la publicación de la solicitud en la Gaceta de la Propiedad Industrial número **619** de 19 de Agosto de 2010, solicito a ese Despacho proceder a realizar el examen de patentabilidad de la presente invención.

3. Por otro lado, debidamente autorizado por mi representado, me permito manifestar que es deseo del solicitante presentar, en forma voluntaria, una nueva descripción y un nuevo capítulo reivindicatorio que reemplazan a los originalmente presentados, y en los que se han realizado las siguientes modificaciones:

A. MODIFICACIONES DEL CAPÍTULO DESCRIPTIVO.

Con el fin de corregir errores de carácter involuntario cometidos durante el proceso de preparación del texto de la solicitud internacional PCT/US2007/020900, se ha modificado el texto de la descripción de manera que se haga referencia correcta a la estereoquímica de los compuestos allí referenciados.

De esta forma, en algunos compuestos revelados por la presente solicitud se asignó de manera incorrecta la configuración estereoquímica (R)/(S) del átomo de fósforo quiral.

Este error sería evidente para la persona versada en la materia si a la luz de las estructuras químicas de los compuestos, que se encuentran consignadas dentro del texto de la descripción originalmente presentado, se toman en consideración las indicaciones del Sistema de Nomenclatura de Estereoquímica R/S de Cahn-Ingold-Prelog reveladas en el documento Cahn R. S., Ingold C. and Prelog V., "***Specification of Molecular Chirality***", Angewandte Chemie International Edition, 1966, Vol 5: pp. 385-415; junto con las reglas de prioridad para grupos funcionales de fósforo enseñadas en el documento Quin L. D., "***A Guide to Organophosphorus Chemistry***", Wiley Interscience, New York, 2000, p. 274. En este último documento se revela cómo el par electrónico solitario es el grupo de prioridad mas baja, y que el grupo P=O es de menor prioridad que el grupo P-O-C.

Consecuentemente, para dicha persona versada en la materia sería claro que la configuración absoluta del átomo de fósforo fue asignada de manera errónea en algunos párrafos de la descripción y por lo tanto, las modificaciones que se presentan a continuación subsanan errores materiales y son necesarias para dar mayor claridad a la solicitud de patente en trámite.

A continuación se resumen las modificaciones realizadas:

(i) En los párrafos [0083] y [0084] se reemplazó la referencia a la configuración absoluta del átomo de fósforo a su correcta asignación: ***(R)***.

Congruentemente, se modificó el nombre de los compuestos I y III de estos mismo párrafos especificando que la configuración absoluta del átomo de fósforo es ***(R)***. De esta forma, el nombre del compuesto I ahora se lee: metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-***(R)***-fosfínico, y el nombre del compuesto III ahora es: metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-***(R)***-fosfínico.

Esta nueva asignación, es también evidente a partir de las estructuras químicas presentadas para los compuestos I y III.

(ii) En concordancia con lo anterior, en el párrafo [0085] se modificaron los nombres de los compuestos presentados, señalando que la configuración absoluta del átomo de fósforo en los compuestos corresponde a ***(R)***.

(iii) Por otro lado, en los párrafos [0093] y [0094] para los compuestos II y IV, se cambió la configuración absoluta del átomo de fósforo a ***(S)***, en congruencia con las estructuras químicas presentadas para estos compuestos II y IV.

(iv) Así mismo, en el párrafo [0095] se corrigieron los nombres de los compuestos presentados para hacer referencia a que la configuración absoluta del átomo de fósforo es ***(S)***.

(v) Congruentemente, en el párrafo [00108] se reasignó la configuración absoluta del átomo de fósforo del 3-fosfoindol de cada uno de los compuestos allí referenciados así: compuesto I: ***(R)***, compuesto II: ***(S)***, compuesto III: ***(R)***, compuesto IV: ***(S)***.

(vi) En los esquemas 1, 2 y 3 mostrados en los párrafos [00188], [00190] y [00192] respectivamente, se asignó correctamente la estereoquímica de los compuestos 6 y 7 presentados, especificando que la configuración absoluta de átomo de fósforo en ambos compuestos es ***(R)*** y que el enantiómero reciclado es el enantiómero ***(S)***.

(vii) De forma similar, en los esquemas 8, 9 y 11 de los párrafos [00208], [00209] y [00212] respectivamente, se reasignó la configuración absoluta del átomo de fósforo en los compuestos 4' y 4". Para el átomo de fósforo del compuesto 4' esta configuración se cambió a ***(R)*** y para el compuesto 4" se cambió a ***(S)***.

Por otro lado, en el esquema 9 se ha adicionado la referencia al empleo de fosfinas quirales dentro de los grupos de inductores de quiralidad, como se describe en los párrafos [00209] a [00210] de la descripción.

Con respecto a la modificación del esquema 11, me permito señalar que además de ser evidente la incorrecta asignación a partir de las estructuras allí reveladas para los compuestos 4' y 4", si se toman en consideración las enseñanzas del párrafo [00308] y el esquema 20 que en él se presenta, es claro que la reacción de acoplamiento cruzado procede con *retención de la configuración*, por lo que el compuesto 4' debe tener la misma configuración que el compuesto 3' y el compuesto 4" debe tener la misma configuración que el compuesto que está en equilibrio con el compuesto 3', tal como ahora lo muestra el esquema 11 modificado.

De esta forma, una persona versada en la materia reconocería que como se presenta en el esquema 11 modificado, un indol con un grupo protector en su átomo de nitrógeno (N) en contacto con una sal de H-fosfinato de arilo, en presencia de un catalizador de paladio, una base y un solvente apropiado, daría lugar a una reacción de acoplamiento cruzado con retención de la configuración absoluta del átomo de fósforo en el fosfoindol que se obtiene como producto.

(viii) En el esquema 10 presentado en el párrafo [00211] se asignó correctamente la estereoquímica del fósforo en el 3-fosfoindol precursor y en el 3-fosfoindol producto,

asignando el 3-fosfoindol **precursor** como ***(S)*** y el 3-fosfoindol **producto** de la reacción como ***(R)***.

(ix) Por otro lado, en el párrafo [00215] se han asignado nuevamente las configuraciones los compuestos 5a y 5b así: *"El **5b** (quiralidad **R** sobre fósforo) se involucra entonces en una reacción de disociación, para remover la fracción quiral en la posición 2 y proporcionar el enantiómero-(**R**) puro **6**. El **5a** se podría reciclar mediante su transformación en un ácido fosfínico mediante disociación (por ejemplo, con TMSBr), y entonces se vuelve a esterificar para proporcionar una mezcla de **5a** y **5b**, y entonces se pueden volver a separar los diaestereoisómeros."* (Resaltado fuera de texto).

El sustento para estas modificaciones se encuentra en las estructuras químicas presentadas para los compuestos 5a y 5b en el esquema 13 del párrafo [00215], de las cuales es claro que configuración absoluta del átomo de fósforo presentada en la estructura química del compuesto 5a es ***(S)*** y la del compuesto 5b es ***(R)***.

(x) En congruencia con lo anterior, se nombraron correctamente los compuestos 5c y 5d en los párrafos [00264] y [00265], de acuerdo con las estructuras originalmente presentadas, de la siguiente manera:

En el párrafo [00264] el compuesto 5c se nombró como: ***(R)***-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil-carbamoil)-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo.

En el párrafo [00265] el compuesto 5d se nombró: ***(S)***-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil-carbamoil)-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo.

(xi) En el párrafo [00266] se modificó el encabezado para hacer referencia al compuesto ***(R)***-66a, y se nombró correctamente el compuesto 5c como ***(R)***-5c, modificando así el nombre del compuesto 66a como sigue: ***(R)***-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo.

(xii) En el párrafo [00312] se ha corregido la estereoquímica absoluta para el átomo de fósforo de los compuestos presentados en los esquemas 24 y 25.

En relación con estos esquemas me permito resaltar que, sumado a las estructuras de los compuestos allí enseñados, la incorrecta asignación de la estereoquímica sería evidente para la persona versada en la materia a partir de las

2

enseñanzas del párrafo [00308] y el esquema 20 de la descripción, en donde se muestra que la reacción de ruptura del mentil fosfinato usando sales de trialquiloxonio, seguida por un tratamiento acido, proceden con *inversión de la configuración*, y por lo tanto la configuración absoluta del átomo de fósforo del 3-fosfoindol **producto** debe ser una configuración absoluta ***(R)*** y la configuración absoluta del átomo de fósforo de su precursor debe ser ***(S)***.

(xiii) En los párrafos [00345] y [00346] se corrigió el nombre del compuesto I señalando que la configuración absoluta del átomo de fósforo es ***(R)***.

(xiv) En los párrafos [00358] y [00359] se corrigió el nombre del compuesto III en congruencia con lo expuesto anteriormente, corrigiendo la configuración absoluta del átomo de fósforo a ***(R)***.

Adicionalmente, en estos mismos párrafos, se corrigió el nombre del compuesto III, eliminando el fragmento que enunciaba la presencia de un átomo de flúor unido al indol en la posición 4. Así, el nombre del compuesto III se lee ahora: metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico.

En conexión con esta modificación me permito señalar que el soporte para la eliminación del átomo de flúor del nombre del compuesto III se encuentra por ejemplo en el párrafo [00359], en donde los datos revelados de la caracterización del compuesto, como son análisis elemental, espectrometría de masas y de RMN, refutan la existencia de un átomo de flúor en el compuesto III.

(xv) Se modificó el encabezado del ejemplo 9 aclarando que el enantiómero del compuesto I reciclado es el enantiómero ***(S)*** como lo muestran las estructuras químicas de la figura del ejemplo.

De la misma forma, la figura mostrada en el ejemplo 9 fue modificada asignando correctamente la estereoquímica del átomo de fósforo del enantiómero del compuesto I a reciclar como el enantiómero ***2(S)*** y el producto final obtenido como enantiómero ***2(R)***.

(xvi) En concordancia con lo anterior, en el párrafo [00360] se menciona que el enantiómero de partida es el enantiómero ***2(S)***.

Adicionalmente, también se corrigió la asignación de los porcentajes de la mezcla de enantiómeros (R) y (S) obtenidos por HPLC, ahora se indica una mezcla de ***2(R)*** (51.7 por ciento), y ***2(S)*** (47.5 por ciento).

(xvii) Así mismo, se modificó la asignación de porcentajes de enantiómeros en el párrafo [00361], siendo una mezcla de enantiómero ***2(R)*** (91.4 por ciento), y enantiómero ***2(S)*** (8.6 por ciento).

(xviii) Se ha corregido el encabezado del esquema de reciclaje de un enantiómero del compuesto III, aclarando que el enantiómero reciclado es el enantiómero ***(S)***.

De la misma forma, en dicho esquema el compuesto de partida se ha asignado correctamente como el enantiómero ***1(S)*** y el producto como el enantiómero ***1(R)***.

(xix) En concordancia con lo anterior, en el párrafo [00362] ahora se muestra que el enantiómero de partida es el ***(S)***, corrigiendo igualmente la referencia a los porcentajes de enantiómeros en la mezcla determinados por HPLC.

(xx) En el encabezado del párrafo [00387] se corrigió el nombre del compuesto III como se mostró en el literal (i).

De igual forma en este mismo párrafo se asignó correctamente la configuración de los centros quirales en P1A y P1B, los cuales están ambos en la configuración ***(R)***.

(xxi) El encabezado del párrafo [00388] fue corregido para nombrar correctamente la estereoquímica del átomo de fósforo de los compuestos I y III como se mencionó en el numeral (i).

(xxii) En el párrafo [00455] se ha cambiado a ***(R)*** la estereoquímica de los compuestos I y III mencionados.

(xxiii) En el párrafo [00461] se corrigió el fragmento del texto que hacía referencia al compuesto III, de manera que se refiera al compuesto **II** como sigue: *"Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C y K103N,* ***el compuesto II*** *tuvo EC_{50}s desde 62 hasta más de 1,000 nM."*

Esta modificación fue realizada con el fin de corregir un error tipográfico involuntario cometido al momento de la redacción del texto de la publicación

3

internacional WO 2008/042240, dando así concordancia a dicho párrafo con su encabezado, el cual enuncia que los datos proporcionados corresponden a los compuestos *I, **II*** y sus racematos.

En conexión con lo anterior me permito resaltar que un sustento adicional para esta modificación se encuentra en la tabla presentada en este mismo párrafo, donde se muestra que los resultados presentados corresponden a los compuestos I, **II** y sus racematos.

B. <u>MODIFICACIONES DEL CAPÍTULO REIVINDICATORIO.</u>

Por otro lado, con el propósito de definir en forma más clara el alcance de la invención, me permito señalar es deseo del solicitante presentar, en forma voluntaria, un capítulo reivindicatorio modificado, que reemplaza al originalmente presentado, el cual consta de **44** reivindicaciones, las cuales tienen como base la descripción de la solicitud y las reivindicaciones como fueron originalmente presentadas.

Dicho capítulo reivindicatorio modificado está constituido como sigue:

(i) **Reivindicaciones 1 a 6**: Estas reivindicaciones no han sido modificadas y corresponden a las originalmente presentadas.

(ii) **Reivindicaciones 7 y 8**: Se ha modificado el encabezado de estas reivindicaciones para que se lea: *<u>Un compuesto puro de la siguiente formula, o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo:</u>*

Adicionalmente se han remplazado los nombres de los compuestos I y III por sus estructuras químicas según se revelan en los párrafos [0083] y [0084] de la descripción de la solicitud.

(iii) **Reivindicaciones 9 a 16**: Estas reivindicaciones fueron **<u>eliminadas</u>** del capítulo reivindicatorio.

(iv) **Reivindicaciones 17 a 21 (Nuevas Reivindicaciones 9 a 13)**: Estas reivindicaciones no han sido modificadas y corresponden a las anteriormente presentadas, ajustando sus dependencias acorde con la nueva numeración.

Adicionalmente, con el fin de dar mayor claridad a la materia reclamada se ha incluido al final de la nueva reivindicación 13 la expresión: *"en donde dicha*

composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto", en congruencia con las reivindicaciones anteriores.

(v) **Reivindicaciones 22 a 24**: Estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capitulo reivindicatorio.

(vi) **Reivindicación 25 (Nueva reivindicación 14)**: Se ha ajustado la dependencia de esta reivindicación acorde con la nueva numeración, adicionalmente se ha incluido la expresión: "*en donde dicha composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto*", en concordancia con las reivindicaciones anteriores.

(vii) **Reivindicación 26 (Nueva reivindicación 15)**: Se ha modificado el preámbulo de esta reivindicación para que se lea "*La composición farmacéutica de la reivindicación 14 en donde el segundo agente anti-VIH es un inhibidor de proteasa o un inhibidor de integrasa.*" y se ha eliminado la referencia particular a cada uno de los compuestos allí referenciados.

(viii) **Reivindicación 27 (Nueva reivindicación 16)**: Se ha modificado el preámbulo de esta reivindicación y se ha ajustado su dependencia acorde con la nueva numeración.

(ix) **Reivindicaciones 28 a 30**: Estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capitulo reivindicatorio.

(x) **Reivindicación 31 (Nueva reivindicación 17)**: Se ha modificado el preámbulo de esta reivindicación y se ha hecho su dependencia congruente con la nueva numeración.

(xi) **Reivindicación 32 (Nueva reivindicación 18)**: Se ha modificado el preámbulo de esta reivindicación y se han definido los compuestos allí referenciados por su categoría farmacológica.

(xii) **Reivindicación 33**: Esta reivindicación ha sido **eliminada** del capítulo reivindicatorio.

(xiii) **Reivindicación 34 (Nueva reivindicación 19)**: Se han modificado el preámbulo y la dependencia de esta reivindicación acorde con las reivindicaciones anteriores.

4

(xiv) **Reivindicaciones 35 a 38**: Estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capitulo reivindicatorio.

(xv) **Reivindicaciones 39 y 40 (Nuevas Reivindicaciones 20 y 21)**: Se ha modificado el preámbulo y la dependencia de estas reivindicaciones en concordancia con las reivindicaciones anteriores.

(xvi) **Reivindicaciones 41 a 43**: Estas reivindicaciones han sido **eliminadas** del capitulo reivindicatorio.

(xvii) **Reivindicaciones 44 y 45 (Nuevas Reivindicaciones 22 y 23)**: Se ha ajustado la dependencia de estas reivindicaciones de acuerdo con la nueva numeración.

(xviii) **Nueva reivindicación 24**: Esta reivindicación se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención, tal como lo señalan por ejemplo los párrafos [00132]-[00143] de la descripción de la solicitud y la reivindicación 26 originalmente presentada.

(xix) **Nueva reivindicaciones 25 y 26**: Estas reivindicaciones consideran a características particulares del segundo agente anti-VIH y el agente anti-HBV respectivamente.

Estas nuevas reivindicaciones encuentran su sustento por ejemplo en los párrafos [00132] a [00143] de la descripción y las reivindicaciones 32, 33 y 36 originalmente presentadas para la reivindicación 25. Y la nueva reivindicacion 26 encuentra su sustento en los párrafos [00130] a [00131] de la descripción y las reivindicaciones 34 y 35 originalmente presentadas.

(xx) **Nuevas reivindicaciones 27 a 35**: Estas reivindicaciones reclaman características particulares de los compuestos de la invención y de las composiciones farmacéuticas que los contienen, como se revela en los párrafos [0043]-[0047], [0084], [00132]-[00143] y [00180]-[00183] de la descripción.

(xxi) **Nuevas reivindicaciones 36 a 43**: Estas reivindicaciones se relacionan con características particulares de los compuestos de la invención de acuerdo con lo enseñado en los párrafos [0084], [00113] a [00114], [00130] a [00144] y [00180] a [00183] de la descripción de la solicitud.

(xxii) **Nueva reivindicación 44**: Hace referencia a composiciones farmacéutica que comprenden una cierta cantidad de los compuestos de la invención de acuerdo a las revelaciones de los párrafos [0044] a [0047] y [0084] de la descripción de la solicitud.

Finalmente, en relación con las modificaciones expuestas en el presente memorial, atentamente me permito manifestar a ese Despacho estas **no amplían** de manera alguna el alcance de la presente invención, tal como fue originalmente presentada, toda vez que tienen como único propósito definir en forma más clara el objeto de la presente invención, subsanando errores materiales que son evidentes para la persona versada en la materia y que restaban claridad al texto.

4. Anexo me permito presentar:

(a) Formulario único de correcciones y modificaciones;

(b) Recibo número 11-001928, expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de las modificaciones mencionadas;

(c) Recibo número 11-001918, expedido por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acredita el pago de la tasa que causa el examen de patentabilidad;

(d) Recibos números 11-001919 y 11-008570, expedidos por la Superintendencia de Industria y Comercio, que acreditan el pago de la **tasa correspondiente a las reivindicaciones adicionales 27 a 44 del nuevo capítulo reivindicatorio**;

(e) Copia de las nuevas páginas **1** a **273** del capítulo descriptivo, que reemplazan el capítulo descriptivo actualmente presentado, en el cual se han realizado las modificaciones expuestas anteriormente;

(f) Copia de las nuevas páginas **274** a **281** que corresponden al nuevo capítulo reivindicatorio que consta de **44** reivindicaciones;

(g) Copia del documento Cahn R. S., Ingold C. and Prelog V., "***Specification of Molecular Chirality***", Angewandte Chemie International Edition, 1966, Vol. 5: pp. 385-415; y

(h) Copia del documento Quin L. D., "***A Guide to Organophosphorus Chemistry***", Wiley Interscience, New York, 2000, p. 274.

5

5. En vista de todo lo anterior, ruego a usted tomar atenta nota y proceder a estudiar de conformidad.

Señor Superintendente,

ALICIA LLOREDA RICAURTE

T.P. 53.215

NOTARIA 41 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.
DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA
REPÚBLICA DE COLOMBIA

El Notario 41 del círculo de Bogotá, da fe de que compareció personalmente: Alicia Lloreda Ricaurte
identificada (o) con: 39690713 y tarjeta profesional de abogado No. 53215 del Consejo Superior de la Judicatura, quien autentica la firma puesta por ella (el) mismo en este escrito.
(Art. 84 C. P. C. Decreto. 2282/89 mod. 36)

Bogotá D.C. 17 FEB. 2011

ALICIA LLOREDA RICAURTE
C.C. No. 39'690.713 de Usaquén

Jenny Nataly Morales Beltrán
C.C. 1.013.193.013
VoBo.

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Espacio reservado para el adhesivo de radicación

FORMULARIO ÚNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES.
2000-10

① **SOLICITUD DE:**

☐ Corrección de Error Material. ☒ Modificación a una Solicitud.

② **SOLICITANTE**	Nombre: **IDENIX PHARMACEUTICALS, INC.**, sociedad existente y organizada de conformidad con las leyes del Estado de Delaware, Estados Unidos de América. Dirección: One Kendall Square, Building 1400 Cambridge, Massachusetts 02139, Estados Unidos de América. Teléfono: 3 264270 Fax: 6 069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com Domicilio: Cambridge, Estado de Massachusetts, Estados Unidos de América.	**IDENTIFICACION** C.C. ☐ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número _____
③ **REPRESENTANTE O APODERADO**	Nombre: **ALICIA LLOREDA RICAURTE** Dirección: Calle 72 No. 5-83 5° Piso Teléfono: 3 264270 Fax: 6 069701 E-mail: jllcco@lloredacamacho.com	**IDENTIFICACION** C.C. ☒ NIT ☐ C.E. ☐ Otro ☐ Número 39.690.713 TP 53.215

④ **Número de expediente:**
09-033.082

⑤ **Descripción de la corrección o modificación solicitada** modificaciones voluntarias al Capítulo Descriptivo y Reivindicatorio.

⑥ **Comprobante de pago No.** 11-001928 **Fecha** 12 de Enero de 2011

⑦ **Anexos:**

☒ Comprobante de pago de la tasa.
☐ Poderes, si fuere el caso.
☐ Certificado de existencia y representación legal de las partes, cuando sean personas jurídicas.

⑧

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE **FIRMA**
C.C. 39.690.713 T.P. 53.215

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 001928

Bogotá D.C., 12 de 2011 - 07:38:42

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	142967230	11/01/2011	31.003.700.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-03	CAMBIO DE MODALIDAD Y MODIFICACIONES N.CREACION CORRECCION A SOLICITUD EN TRAMITE / MODOFICA	118.000.00	118.000.00
				$118.000.00

SON: **CIENTO DIECIOCHO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-033082- -00006-0000
Fecha: 2011-02-17 16:23:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 325

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 001918

Bogotá D.C., 12 de 2011 - 07:38:42

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	142967230	11/01/2011	31.003.700.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	114 PTC CAP-II EXAMEN DE PATENTIBILIDAD DE INVENSION	485.000.00	485.000.00
				$485.000.00

SON: **CUATROCIENTOS OCHENTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-*********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-033082- -00006-0000
Fecha: 2011-02-17 16:23:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 325

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 001919

Bogotá D.C., 12 de 2011 - 07:38:42

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	142967230	11/01/2011	31.003.700.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	114 PTC CAP-II EXAMEN DE PATENTIBILIDAD DE INVENSION	485.000.00	485.000.00
				$485.000.00

SON: **CUATROCIENTOS OCHENTA Y CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE*

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 09-033082- -00006-0000
Fecha: 2011-02-17 16:23:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 325

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 11 - 008570

Bogotá D.C., Febrero 01 de 2011 - 07:51:13

RECIBIDO DE : LLOREDA & CIA. S.A. NI 830.022.145

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	142967904	31/01/2011	22.058.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	1.000.00	1.000.00
				$1.000.00

SON: **MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

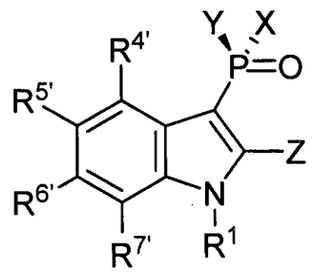
No. 09-033082- -00006-0000

Fecha: 2011-02-17 16:23:04 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 538 PETICION Folios: 325

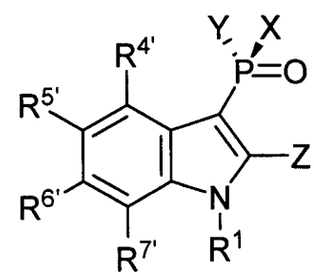
FOSFOINDOLES ENANTIOMÉRICAMENTE PUROS COMO INHIBIDORES DE VIH

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCIÓN

Se proporcionan compuestos de 3-fosfoindol sustancialmente en la forma de un solo enantiómero útil para el tratamiento de infecciones por virus *Flaviviridae*, y particularmente para infecciones por VIH. También se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de 3-fosfoindol solos o en combinación con uno o más agentes antivirales diferentes, procesos para su preparación, y métodos para la fabricación de un medicamento que incorpora estos compuestos. Los compuestos de 3-fosfoindol son de la fórmula (A) o (B):



(A)



(B)

y las sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, o ésteres de los mismos. En las fórmulas, X es hidrógeno, arilo o heterociclilo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; Y es hidrógeno, -R, -O-R, -NH-R, o -NRR; Z es -OR, -NHR, -NRR, carboxamido, amido, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido; R^1 es hidrógeno, acilo, -$S(O)_n$-R, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido; cada $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$, y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclilo, halógeno, -CN, -CF_3, -OR, -NHR, -NRR, o-NO_2; n es 0, 1, ó 2; y cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos

de carbono, arilo, o heterociclilo.

Estructura Esquemática de RT de VIH-1 K103N/Y181C con el Compuesto I

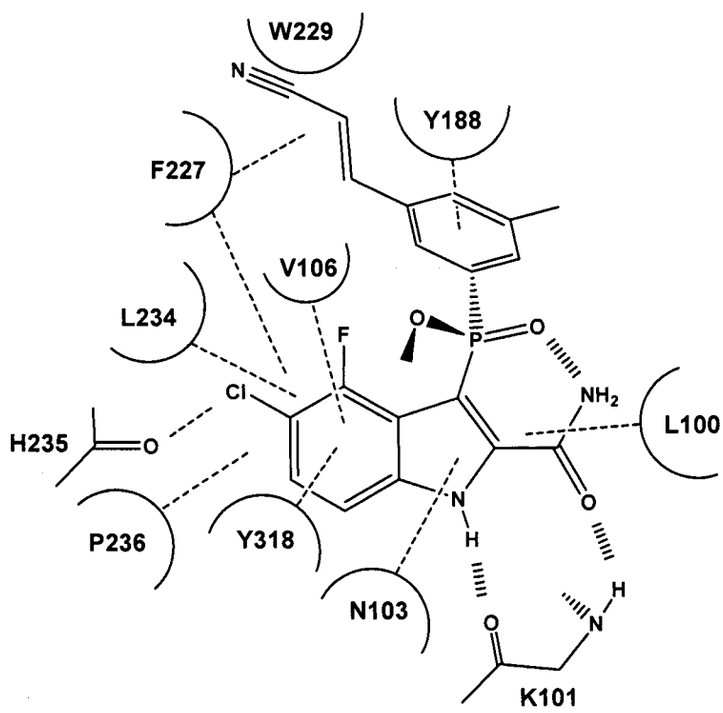


FIG. 1B

* * * * *

FOSFOINDOLES ENANTIOMÉRICAMENTE PUROS COMO INHIBIDORES DE VIH

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] En la presente se proporcionan compuestos de fosfoindol enantioméricamente puros útiles para inhibir la réplica viral. En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos de S-fosfoindol puros útiles para inhibir la réplica viral. En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos de R-fosfoindol puros útiles para inhibir la réplica viral. Además se proporcionan sales farmacéuticamente aceptables, derivados y análogos de los compuestos, composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, métodos para utilizar los compuestos, por ejemplo, en el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH, y procesos para la preparación de los compuestos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

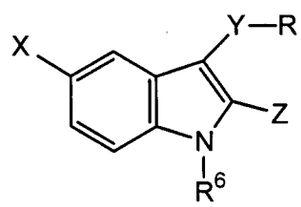
[0002] Los indoles, nucleósidos y sus análogos se conocen en la técnica, por tener utilidad en el tratamiento de infecciones virales en mamíferos, incluyendo seres humanos. Los virus que infectan a los mamíferos y son tratables mediante la administración de composiciones farmacéuticas que comprenden indoles, nucleósidos o sus análogos o derivados incluyen, pero no se limitan a, hepacivirus incluyendo virus de hepatitis C, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), pestivirus tales como virus de diarrea viral bovina (BVDV), virus de fiebre porcina clásica (CSFV, también conocido como virus de cólera de cerdo), y virus de enfermedad limítrofe de ovejas (BDV), y flavivirus como virus de fiebre hemorrágica de dengue (DHF o DENV), virus de fiebre amarilla (YFV), virus del Nilo Occidental (WNV), virus de síndrome de choque y encefalitis japonesa (Moennig y colaboradores, Adv.

Vir. Res. 1992, 41: 53-98; Meyers, G. y Thiel, H-J., Adv. En Viral Res., 1996, 47:53-118; Moennig y colaboradores, Adv. Vir. Res. 1992, 41: 53-98; S.B. Halstead, Rev. Infect. Dis., **1984**, 6: 251-64; S.B. Halstead, Science, **1988**, 239: 476-81; T.P. Monath, New Engl. J. Med., **1988**, 319: 641-3).

Indoles

[0003] Ciertos análogos y derivados del indol se han utilizado para tratar infección con virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

[0004] Por ejemplo, Williams y colaboradores, enseñan los indoles sustituidos para el tratamiento de infección por VIH en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,527,819 a Merck. Los compuestos que se dan a conocer en la patente '819 comprenden una gran clase representada genéricamente por la siguiente fórmula estructural amplia (III):



(III)

en donde las variables X, Y, Z, R y R^6 se definen ampliamente para abarcar aproximadamente cien compuestos. En la mayoría de los ejemplos mostrados, Y es SO_2, Z es $-C(O)NH_2$, y R es un fenilo opcionalmente sustituido.

[0005] La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,124,327 a Greenlee y colaboradores, y cedida a Merck & Co., da a conocer una clase de compuestos de sulfonil-fenil-indol opcionalmente sustituidos. Estos compuestos son alegadamente activos como inhibidores de transcriptasa inversa y, por consiguiente, son útiles en el tratamiento de infección por VIH y SIDA.

[0006] La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,710,068 a Idenix Pharmaceuticals, Ltd., da a conocer una clase de fenil-indoles que están sustituidos con cuando menos dos fracciones diferentes de hidrógeno ya sea sobre el anillo de fenilo o bien sobre el anillo de bencilo de la función del indol, o sobre ambos anillos. Los sustituyentes están contenidos en general en las posiciones 3" y 5" si se localizan sobre el anillo de fenilo, y en las posiciones 4' y 5'; 5' y 6', o en las posiciones 5' y 7', si se localizan sobre el anillo de bencilo de la fracción del indol. Véase también la Publicación del TCP Número WO 02/083126.

[0007] La Publicación del TCP Número WO 2004/014364 a Idenix Pharmaceuticals da a conocer todavía otra clase de fenil-indoles que exhiben una mejor actividad contra el VIH. Como sus predecesores, estos compuestos están sustituidos con cuando menos dos fracciones diferentes de hidrógeno ya sea sobre el anillo de fenilo o bien sobre el anillo benzo de la funcionalidad del indol, o sobre ambos anillos. En adición, estos compuestos incorporan un número de sustituyentes que tienen una funcionalidad de carboxamida en la posición 2 sobre el grupo indol del compuesto, la posición mostrada en la fórmula (III) anterior como "Z".

[0008] Idenix Pharmaceuticals dio a conocer todavía otra clase de compuestos de fenil-indol, siendo éstos los fosfo-fenil-indoles, que son útiles en el tratamiento de VIH y/o SIDA (Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número US 2006/0074054 y Publicación Internacional Número WO 06/054182).

[0009] Bristol Myers Squibb es la cesionaria de numerosas patentes, solicitudes de patente publicadas, y publicaciones del TCP que dan a conocer diversos indoles opcionalmente sustituidos, azaindoles, piperazinas, y pirrolidinas, para el

tratamiento de VIH y/o SIDA. Véanse Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2004/0006090 a Kadow y colaboradores; Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2004/0063746 a Regueiro-Ren y colaboradores; Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2003/0096825 a Wang y colaboradores; Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2003/0236277 a Kadow y colaboradores; y Publicación Internacional Número WO 03/068221 a Kadow y colaboradores.

[0010] La Publicación Internacional Número WO 01/02388 a SmithKline Beecham S.P.A da a conocer fenil-indoles opcionalmente sustituidos con un sustituyente de carbamilo que tienen utilidad en el tratamiento de VIH, SIDA, osteoporosis, cánceres, y enfermedad de Alzheimer.

[0011] Warner-Lambert Company da a conocer diferentes indol-tiazepinonas, oxazepinonas, diazepinonas, benzo-tiofenos, benzo-furanos, e indol-2-carboxamidas, para el tratamiento de VIH. (Véanse las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números U.S. 5,424,329 a Boschelli y colaboradores; U.S. 5,565,446 a Boschelli y colaboradores; U.S. 5,703,069 a Connor y colaboradores; y Publicación Internacional Número WO 96/29077 a Warner-Lambert Company).

[0012] Shinogi & Co. dan a conocer derivados del indol opcionalmente sustituidos que son inhibidores de la integrasa viral útiles como fármacos contra el VIH (Publicación de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2002/0019434 a Fujishita y colaboradores; Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,716,605 a Fujishita y colaboradores; y Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,506,787 a Fujishita y colaboradores).

[0013] La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica

Número 5,945,440 a Kleinschroth y colaboradores, da a conocer una clase del indolocarbazol-amidas para el tratamiento de una variedad de enfermedades, incluyendo cáncer, enfermedades virales (incluyendo VIH), enfermedades cardíacas y vasculares, enfermedades broncopulmonares, trastornos inflamatorios, enfermedades degenerativas del sistema nervioso central, y otras enfermedades.

[0014] Gunasekera y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,866,084, enseña ciertos compuestos de bisindol-alcaloide que tienen una actividad antiviral y antitumoral, incluyendo HSV (virus de herpes símplex). La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,935,982 a Dykstra y colaboradores, reporta una clase diferente de bisindoles que tienen una utilidad específica contra las infecciones retrovirales y en especial de VIH.

[0015] Matsunaga y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,852,011 (Diciembre 22, 1998), da a conocer una clase de derivados del indol sustituidos por una función de heteroarilo y una función de amida. Se dice que los compuestos poseen en general propiedades antitumorales, antivirales, y antimicrobianas.

[0016] Dykstra y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,935,982, dan a conocer una clase de bis-indoles, y proponen específicamente su uso para el tratamiento de infecciones retrovirales, y en especial infección por VIH.

[0017] Domagala y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,929,114 (Julio 27, 1999), dan a conocer una clase de compuestos de tioarilo y bitiobisaril-amida, incluyendo derivados del indol, que, como se reporta, tienen una actividad antibacteriana y antiviral.

[0018] Pevear y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,830,894 (Noviembre 3, 1998), dan a conocer una clase de derivados de triazinoindol que, como se reporta, tienen una actividad anti-pestivirus, más notoriamente una actividad BVDV.

[0019] Los indoles se han utilizado en el tratamiento de enfermedades diferentes de VIH. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,981,525 a Farina y colaboradores, da a conocer un arreglo complejo del indoles para utilizarse en el tratamiento de osteoporosis, basándose en su capacidad para inhibir la H^+-ATPasa de los osteoclastos y, por consiguiente, para reducir la resorción ósea. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,025,390, también a Farina y colaboradores, enseña otro grupo de derivados del indol, denominados como derivados de ácido pentadienoico heteroaromáticos que también son útiles en el tratamiento de osteoporosis. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,489,685 a Houpis y colaboradores, da a conocer una serie de los compuestos que son ésteres de ácido furo-(2,3-b)-piridin-carboxílico, cuya utilidad está en el tratamiento de VIH.

[0020] A la luz del hecho de que las infecciones por VIH han alcanzado niveles epidémicos en todo el mundo, y tienen efectos trágicos sobre el hospedero infectado, sigue existiendo una fuerte necesidad de proporcionar agentes farmacéuticos nuevos y efectivos para el tratamiento de estas infecciones virales con una baja toxicidad para el hospedero.

[0021] Es un objeto de la invención proporcionar compuestos, métodos de uso, y composiciones para el tratamiento de un hospedero infectado con VIH, o para el tratamiento de los síntomas relacionados con el SIDA.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

[0022] De conformidad con lo anterior, en la presente se proporcionan compuestos enantioméricamente puros útiles para el tratamiento o la prevención de una infección viral, por ejemplo, una infección por VIH en un hospedero que lo necesite. Además, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, métodos para utilizar los compuestos para el tratamiento o la profilaxis, y métodos para la preparación de los compuestos.

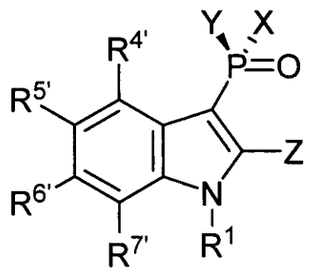
[0023] Como se demuestra en los Ejemplos más adelante, mucha de la actividad de los compuestos de fosfoindol quirales reside en un enantiómero o estereoisómero. Además, ciertos compuestos proporcionados en la presente son inhibidores potentes y selectivos del VIH resistente al inhibidor de transcriptasa inversa de tipo silvestre y que no es nucleósido (NNRTI) *in vitro*. Ciertos compuestos proporcionados en la presente pueden proporcionar una barrera genética más alta para el desarrollo de resistencia al VIH, comparándose con las terapias actuales, tales como efavirenz.

[0024] En un aspecto, en la presente se proporcionan compuestos de S-fosfoindol puros y métodos para su uso para el tratamiento o la prevención de una infección viral, tal como una infección por VIH, en un hospedero que lo necesite.

[0025] En un aspecto, en la presente se proporcionan compuestos de R-fosfoindol puros y métodos para su uso para el tratamiento o la prevención de una infección viral, tal como una infección por VIH, en un hospedero que lo necesite.

[0026] En un aspecto, en la presente se proporcionan compuestos de fosfoindol puros de acuerdo con la fórmula (A), o sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, ésteres o

pro-fármacos de los mismos:



(A)

en donde, por ejemplo:

X es hidrógeno; arilo o heterociclo, el cual puede estar sustituido o insustituido, y el cual puede comprender una estructura bicíclica, tricíclica, o espiro; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo;

Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR;

Z es OR, NHR, NRR, carboxamido, amido, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

R^1 es hidrógeno, acilo, $S(O)_n$-R, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

cada uno de $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$ y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclo, halógeno, CN, CF_3, OR, NHR, NRR, o NO_2;

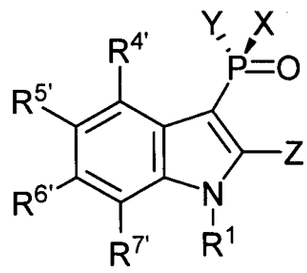
n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, o heterociclo.

[0027] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (A), X es arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; e Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR.

[0028] En otro aspecto, en la presente se proporcionan compuestos de fosfoindol puros de acuerdo con la fórmula (B), o

sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, ésteres o pro-fármacos de los mismos:



(B)

en donde, por ejemplo:

X es hidrógeno; arilo o heterociclo, el cual puede estar sustituido o insustituido, y el cual puede comprender una estructura bicíclica, tricíclica, o espiro; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo;

Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR;

Z es OR, NHR, NRR, carboxamido, amido, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

R^1 es hidrógeno, acilo, $S(O)_n$-R, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

cada uno de $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$ y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclo, halógeno, CN, CF_3, OR, NHR, NRR, o NO_2;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, o heterociclo.

[0029] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (B), X es arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; e Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR.

[0030] En otro aspecto, en la presente se proporcionan sales

farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, ésteres y profármacos de los compuestos.

[0031] En otro aspecto, se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto proporcionado en la presente, y uno o más vehículos, excipientes o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

[0032] En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para el tratamiento o la prevención de una infección por VIH en un hospedero que lo necesite, mediante la administración de un compuesto o composición farmacéutica descritos en la presente.

[0033] En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para la administración oral de un compuesto de la fórmula (A) o de la fórmula (B), para terapia o para tratamiento. Como se muestra en los Ejemplos más adelante, ciertos compuestos de la fórmula (A) están oralmente biodisponibles con una farmacocinética favorable.

[0034] En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para inhibir un citocromo P450. Como se muestra en los Ejemplos más adelante, ciertos compuestos descritos en la presente son efectivos para inhibir uno o más citocromos P450, incluyendo el citocromo P450 3A4, el citocromo P450 2C8, y el citocromo P450 2C9. De conformidad con lo anterior, en la presente se proporcionan métodos para utilizar los compuestos proporcionados en la presente para inhibir un citocromo P450. Los métodos comprenden el paso de poner en contacto un citocromo P450 con una cantidad de un compuesto dado a conocer en la presente, tal como un compuesto de la fórmula (A), efectiva para inhibir el citocromo P450.

[0035] En otro aspecto, en la presente se proporcionan métodos para modular la farmacocinética de un fármaco que es

metabolizado por un citocromo P450. Los métodos comprenden el paso de administrar el fármaco en combinación o alternado con un compuesto descrito en la presente. El fármaco puede ser cualquier molécula farmacéuticamente aceptable conocida por los expertos en la materia por ser metabolizada por un citocromo P450. En ciertas realizaciones el citocromo P450 es el citocromo P450 3A4, el citocromo P450 2C8 o el citocromo P450 2C9.

[0036] Los compuestos proporcionados en la presente, se pueden administrar solos o en combinación o alternados con uno o más agentes anti-virales diferentes. Los compuestos o sus composiciones también se pueden utilizar profilácticamente para prevenir o retardar el progreso de la enfermedad clínica en los individuos que sean portadores de un anticuerpo anti-VIH, que sean positivos para el antígeno de VIH, o que se hayan expuesto a un virus de VIH.

[0037] En otro aspecto, se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento de un hospedero co-infectado con VIH y hepatitis B, los cuales comprenden administrar un compuesto puro dado a conocer en la presente, en combinación con uno o más agentes efectivos para el tratamiento de infección por hepatitis B. En otro aspecto, se proporcionan composiciones y métodos para el tratamiento de un hospedero co-infectado con VIH y hepatitis C, los cuales comprenden administrar un compuesto puro dado a conocer en la presente, en combinación con uno o más agentes efectivos para el tratamiento de infección por hepatitis C.

[0038] En otro aspecto, se proporcionan procesos para la preparación de los compuestos descritos en la presente, incluyendo compuestos de fosfoindol enantioméricamente puros, compuestos de S-fosfoindol puros, compuestos de R-fosfoindol puros, compuestos puros de acuerdo con la fórmula (A), y

compuestos puros de acuerdo con la fórmula (B).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0039] La **Figura 1A** muestra una estructura de cristal de la Transcriptasa Inversa de VIH K103N/Y181C con el compuesto de 3-fosfoindol de la fórmula I.

[0040] La **Figura 1B** muestra un esquema de la estructura de cristal de la Transcriptasa Inversa de VIH K103N/Y181C con el compuesto de 3-fosfoindol de la fórmula I.

[0041] La **Figura 2A** muestra una estructura de cristal de una molécula del compuesto III.

[0042] La **Figura 2B** muestra una estructura de cristal de una molécula del compuesto III.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0043] Se proporcionan composiciones de materia, métodos de uso, y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de infecciones por virus, en particular infecciones por VIH, en mamíferos. En particular, se proporcionan compuestos de 3-fosfoindol puros, composiciones que comprenden estos compuestos, y métodos de uso de los compuestos y composiciones para el tratamiento o la profilaxis de una infección, incluyendo una infección por VIH en un hospedero. En adición, en la presente se proporcionan procesos para la preparación de los 3-fosfoindoles puros.

Definiciones

[0044] Como se utiliza en la presente el término “puro” cuando se aplica a un compuesto quiral, se refiere a un enantiómero del compuesto quiral sustancialmente libre de su enantiómero opuesto (es decir, en un exceso enantiomérico). Por ejemplo, la forma "R" pura de un compuesto está sustancialmente libre de la forma “S” del compuesto y, por consiguiente, está en un exceso enantiomérico de la forma "S". El término

"enantioméricamente puro" o "enantiómero puro" denota que el compuesto comprende un exceso de un enantiómero, por ejemplo, más del 75 por ciento en peso, más del 80 por ciento en peso, más del 85 por ciento en peso, más del 90 por ciento en peso, más del 91 por ciento en peso, más del 92 por ciento en peso, más del 93 por ciento en peso, más del 94 por ciento en peso, más del 95 por ciento en peso, más del 96 por ciento en peso, más del 97 por ciento en peso, más del 98 por ciento en peso, más del 98.5 por ciento en peso, más del 99 por ciento en peso, más del 99.2 por ciento en peso, más del 99.5 por ciento en peso, más del 99.6 por ciento en peso, más del 99.7 por ciento en peso, más del 99.8 por ciento en peso, o más del 99.9 por ciento en peso, del enantiómero. En ciertas realizaciones, los pesos se basan en el peso total del compuesto, es decir, todos los enantiómeros del compuesto. En ciertas realizaciones, un enantiómero puede estar en exceso por el 30 al 80 por ciento, o por el 30 al 70 por ciento, por el 30 al 60 por ciento, por el 30 por ciento, por el 35 por ciento, por el 40 por ciento, por el 45 por ciento, por el 50 por ciento, por el 55 por ciento, o por el 60 por ciento, o por cualquier porcentaje entre los mismos.

[0045] Como se utiliza en la presente, y a menos que se indique de otra manera, el término "(S)-fosfoindol enantioméricamente puro" o "(S)-fosfoindol" se refiere, por ejemplo, a cuando menos aproximadamente el 80 por ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 20 por ciento en peso de (R)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 90 por ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 10 por ciento en peso de (R)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 95 por ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 5 por ciento en peso de (R)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 99 por

ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 1 por ciento en peso de (R)-fosfoindol, o cuando menos aproximadamente el 99.9 por ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 0.1 por ciento en peso de (R)-fosfoindol. En ciertas realizaciones, los pesos se basan en el peso total del compuesto, es decir, ambos o todos los enantiómeros del compuesto.

[0046] Como se utiliza en la presente, y a menos que se indique de otra manera, el término "(R)-fosfoindol enantioméricamente puro" se refiere, por ejemplo, a cuando menos aproximadamente el 80 por ciento en peso de (R)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 20 por ciento en peso de (S)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 90 por ciento en peso de (R)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 10 por ciento en peso de (S)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 95 por ciento en peso de (R)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 5 por ciento en peso de (S)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 99 por ciento en peso de (R)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 1 por ciento en peso de (S)-fosfoindol, cuando menos aproximadamente el 99.9 por ciento en peso de (R)-fosfoindol, o cuando mucho aproximadamente el 0.1 por ciento en peso de (S)-fosfoindol. En ciertas realizaciones, los pesos se basan en el peso total de fosfoindol, es decir, ambos o todos los enantiómeros del fosfoindol.

[0047] En las composiciones proporcionadas en la presente, el fosfoindol enantioméricamente puro o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o profármaco del mismo, puede estar presente con otros ingredientes activos o inactivos. Por ejemplo, una composición farmacéutica, la cual comprende (S)-fosfoindol enantioméricamente puro, puede

comprender, por ejemplo, aproximadamente el 90 por ciento de excipiente y aproximadamente el 10 por ciento de (S)-fosfoindol enantioméricamente puro. En ciertas realizaciones, el (S)-fosfoindol enantioméricamente puro en estas composiciones puede comprender, por ejemplo, cuando menos aproximadamente el 99.9 por ciento en peso de (S)-fosfoindol y cuando mucho aproximadamente el 0.1 por ciento en peso de (R)-fosfoindol. En ciertas realizaciones, el ingrediente activo se puede formular con poco o ningún vehículo, excipiente, o diluyente.

[0048] Siempre que sea referido un intervalo en la presente, incluye independientemente y por separado, cada miembro del intervalo. Como un ejemplo no limitante, el término "alquilo de 1 a 10 átomos de carbono" se considera que incluye, independientemente, a cada miembro del grupo, de tal manera que, por ejemplo, alquilo de 1 a 10 átomos de carbono incluye las funcionalidades de alquilo de 1 átomo de carbono, de 2 átomos de carbono, de 3 átomos de carbono, de 4 átomos de carbono, de 5 átomos de carbono, de 6 átomos de carbono, de 7 átomos de carbono, de 8 átomos de carbono, de 9 átomos de carbono, y de 10 átomos de carbono, rectas, ramificadas, y cuando sea apropiado, cíclicas. De una manera similar, como otro ejemplo no limitante, del 1 al 10 por ciento incluye independientemente, el 1 por ciento, el 2 por ciento, el 3 por ciento, el 4 por ciento, el 5 por ciento, el 6 por ciento, el 7 por ciento, el 8 por ciento, el 9 por ciento, y el 10 por ciento, así como los intervalos entre los mismos, tales como del 1 al 2 por ciento, del 2 al 3 por ciento, etc.

[0049] El término "quiral", como se utiliza en la presente, incluye un compuesto que tiene la propiedad de que no se puede sobreponer sobre su imagen de espejo.

[0050] El término "aislado" incluye una composición que incluye cuando menos el 85 o el 90 por ciento en peso, el 95 por

ciento, el 98 por ciento, el 99 por ciento, o el 100 por ciento en peso, del compuesto.

[0051] El término "alquilo", como se utiliza en la presente, a menos que se especifique de otra manera, incluye un hidrocarburo saturado primario, secundario o terciario, recto, ramificado o cíclico de típicamente 1 a 10 átomos de carbono, y específicamente incluye, pero no se limita a, metilo, CF_3, CCl_3, $CFCl_2$, CF_2Cl, etilo, CH_2CF_3, CF_2CF_3, propilo, isopropilo, ciclopropilo, butilo, isobutilo, butilo secundario, terbutilo, pentilo, ciclopentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, isohexilo, ciclohexilo, ciclohexil-metilo, 3-metil-pentilo, 2,2-dimetil-butilo, y 2,3-dimetil-butilo. El término incluye los grupos alquilo tanto sustituidos como insustituidos, y en particular incluye los grupos alquilo halogenados, e incluso de una manera más particular, los grupos alquilo fluorados. Los ejemplos no limitantes de las fracciones con las que puede estar sustituido el grupo alquilo se seleccionan a partir del grupo que consiste en halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo), hidroxilo, amino, alquil-amino, aril-amino, alcoxilo, ariloxilo, nitro, ciano, ácido sulfónico, sulfato, ácido fosfónico, fosfato, o fosfonato, ya sea no protegidos o bien protegidos, como sea necesario, como es conocido por los expertos en este campo, por ejemplo, como es enseñado por Greene y colaboradores, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, 2ª Edición, 1991.

[0052] El término "alquilo inferior", como se utiliza en la presente, y a menos que se especifique de otra manera, se refiere a un grupo alquilo saturado recto, ramificado, o si es apropiado, cíclico (por ejemplo, ciclopropilo) de 1 a 6 átomos de carbono, incluyendo las fracciones tanto sustituidas como insustituidas.

[0053] Los términos "alquil-amino" o "aril-amino" se refieren a un grupo amino que tiene uno o dos sustituyentes de alquilo o

arilo, respectivamente. A menos que se mencione de una manera específica de otra manera en esta solicitud, cuando alquilo es una fracción adecuada, entonces es un alquilo inferior, ya sea sustituido o insustituido.

[0054] Como se utiliza en la presente, el término "nitro" significa $-NO_2$; el término "sulfhidrilo" significa –SH; y el término "sulfonilo" significa $-SO_2$.

[0055] Los términos "alquenilo" y "alquinilo" incluyen las fracciones de alquilo, incluyendo las formas tanto sustituidas como insustituidas, en donde cuando menos un enlace C-C saturado es reemplazado por un doble o triple enlace. Por consiguiente, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono puede ser vinilo, alilo, 1-propenilo, 2-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, 3-butenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-pentenilo, 4-pentenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 4-hexenilo, o 5-hexenilo. De una manera similar, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono puede ser etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 3-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-pentinilo, 4-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 4-hexinilo, o 5-hexinilo.

[0056] El término "alquileno" incluye un radical de alquilo saturado divalente de cadena recta de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde "n" puede ser cualquier entero de 1 a 10.

[0057] "Alquilo", "alcoxilo", "alquenilo", "alquinilo", etc., incluyen los grupos tanto de cadena recta como ramificada. Sin embargo, la referencia a un radical individual, tal como "propilo" abarca solamente ese radical de cadena recta, mientras que un isómero de cadena ramificada, tal como "isopropilo" se denomina específicamente como tal.

[0058] El término "protegido", como se utiliza en la presente, y a menos que se defina de otra manera, se refiere a un grupo que, se agrega a un átomo de oxígeno, nitrógeno, azufre o fósforo

para prevenir su reacción adicional o para otros propósitos. Una amplia variedad de grupos protectores de oxígeno, nitrógeno, azufre o fósforo son conocidos para los expertos en la técnica de la síntesis orgánica.

[0059] El término "arilo", como se utiliza en la presente, y a menos que se especifique de otra manera, se refiere a cualquier anillo de carbono monocíclico, bicíclico, o tricíclico estable de hasta 8 miembros en cada anillo, en donde cuando menos un anillo es aromático como es definido por la regla de Huckel 4n+2, y en especial fenilo, bifenilo, o naftilo. El término incluye las fracciones tanto sustituidas como insustituidas. El grupo arilo puede estar sustituido con cualquier fracción descrita, incluyendo, pero no limitándose a, una o más fracciones seleccionadas a partir del grupo que consiste en halógeno (flúor, cloro, bromo o yodo), hidroxilo, amino, azido, alquil-amino, aril-amino, alcoxilo, ariloxilo, nitro, ciano, ácido sulfónico, sulfato, ácido fosfónico, fosfato, o fosfonato, ya sea protegidas o no protegidas, como sea necesario, como es conocido por los expertos en este campo, por ejemplo, como se enseña en Greene y colaboradores, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, 3ª Edición, 1999.

[0060] El término "alcarilo" o "alquil-arilo" se refiere a un grupo alquilo con un sustituyente de arilo o un grupo alquilo enlazado a la molécula a través de un grupo arilo como se define en la presente. El término "aralquilo" o "aril-alquilo" se refiere a un grupo arilo sustituido con un sustituyente de alquilo o enlazado a la molécula a través de un grupo alquilo como se define anteriormente.

[0061] El término "cicloalquilo" incluye un anillo de 3 a 8 átomos de carbono, incluyendo, pero no limitándose a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y

ciclo-octilo.

[0062] El término "alcoxilo" significa un grupo alquilo de cadena recta o ramificada que tiene un radical de oxígeno unido, teniendo el grupo alquilo el número de átomos de carbono especificado, o cualquier número dentro de este intervalo. Por ejemplo, un "-O-alquilo", alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, metoxilo, etc.

[0063] El término "halógeno", como se utiliza en la presente, se refiere a cualquier miembro de la familia de halógeno. Se incluyen específicamente flúor, cloro, bromo y yodo.

[0064] El término "acilo" o "éster O-enlazado" incluye un grupo de la fórmula C(O)R', en donde R' es un alquilo recto, ramificado, o cíclico (incluyendo alquilo inferior), un residuo de carboxilato de un aminoácido, arilo incluyendo fenilo, heteroarilo, alcarilo, aralquilo incluyendo bencilo, alcoxi-alquilo incluyendo metoxi-metilo, ariloxi-alquilo tal como fenoxi-metilo; o alquilo sustituido (incluyendo alquilo inferior), arilo incluyendo fenilo opcionalmente sustituido con cloro, bromo, flúor, iodo, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o alcoxilo de 1 a 4 átomos de carbono, ésteres de sulfonato tales como alquil- o aralquil-sulfonilo, incluyendo metan-sulfonilo, el mono-, di-, o tri-éster de fosfato, tritilo o monometoxi-tritilo, bencilo sustituido, alcarilo, aralquilo incluyendo bencilo, alcoxi-alquilo incluyendo metoxi-metilo, ariloxi-alquilo tal como fenoxi-metilo. Los grupos arilo en los ésteres óptimamente comprenden un grupo fenilo. En las realizaciones no limitantes, los grupos acilo incluyen acetilo, trifluoro-acetilo, metil-acetilo, ciclopropil-acetilo, ciclopropil-carboxilo, propionilo, butirilo, isobutirilo, hexanoílo, heptanoil-octanoílo, neo-heptanoílo, fenil-acetilo, 2-acetoxi-2-fenil-acetilo, difenil-acetilo, α-metoxi-α-trifluoro-metil-fenil-acetilo, bromo-acetilo, 2-nitro-bencen-acetilo, 4-cloro-bencen-acetilo, 2-cloro-2,2-

difenil-acetilo, 2-cloro-2-fenil-acetilo, trimetil-acetilo, cloro-difluoro-acetilo, perfluoro-acetilo, fluoro-acetilo, bromo-difluoro-acetilo, metoxi-acetilo, 2-tiofen-acetilo, cloro-sulfonil-acetilo, 3-metoxi-fenil-acetilo, fenoxi-acetilo, terbutil-acetilo, tricloro-acetilo, monocloro-acetilo, dicloro-acetilo, 7H-dodecafluoro-heptanoílo, perfluoro-heptanoílo, 7H-dodeca-fluoro-heptanoílo, 7-cloro-dodecafluoro-heptanoílo, 7-cloro-dodecafluoro-heptanoílo, 7H-dodecafluoro-heptanoílo, 7H-dodeca-fluoro-heptanoílo, nona-fluoro-3,6-dioxa-heptanoílo, nonafluoro-3,6-dioxa-heptanoílo, perfluoro-heptanoílo, metoxi-benzoílo, metil-3-amino-5-fenil-tiofen-2-carboxilo, 3,6-dicloro-2-metoxi-benzoílo, 4-(1,1,2,2-tetrafluoro-etoxi)-benzoílo, 2-bromo-propionilo, omega-amino-caprilo, decanoílo, n-pentadecanoílo, estearilo, 3-ciclopentil-propionilo, 1-bencen-carboxilo, O-acetil-mandelilo, pivaloílo acetilo, 1-adamantan-carboxilo, ciclohexan-carboxilo, 2,6-piridin-dicarboxilo, ciclopropan-carboxilo, ciclobutan-carboxilo, perfluoro-ciclohexil-carboxilo, 4-metil-benzoílo, cloro-metil-isoxazolil-carbonilo, perfluoro-ciclohexil-carboxilo, crotonilo, 1-metil-1H-indazol-3-carbonilo, 2-propenilo, isovalerilo, 1-pirrolidin-carbonilo, 4-fenil-benzoílo.

[0065] El término "acil-amino" incluye un grupo que tiene una estructura de "-N(R')-C(=O)-R' ", en donde cada R' es independientemente como se define en lo anterior.

[0066] El término "carbonilo" incluye un grupo de la estructura "-C(=O)-X-R' " o "X-C(=O)-R' ", en donde X es O, S, o un enlace, y cada R es independientemente como se define en lo anterior.

[0067] El término "heteroátomo" incluye un átomo diferente de carbono o hidrógeno en la estructura de un compuesto heterocíclico, cuyos ejemplos no limitantes son nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo o boro.

[0068] El término "heterociclo" o "heterocíclico", como se utiliza en la presente excepto en donde se mencione, incluye un anillo heterocíclico monocíclico estable de 5 a 7 miembros o bicíclico estable de 8 a 11 miembros, el cual está saturado o insaturado, incluyendo heteroarilo, y el cual consiste en átomos de carbono, y de uno a cuatro heteroátomos, incluyendo, pero no limitándose a, O, S, N, y P; y en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y/o el heteroátomo de nitrógeno puede estar cuaternizado, e incluyendo cualquier grupo bicíclico en donde cualquiera de los anillos heterocíclicos anteriormente identificados esté fusionado con un anillo de benceno. El anillo heterocíclico se puede unir en cualquier heteroátomo o átomo de carbono, lo cual da como resultado la creación de una estructura estable. El anillo heteroaromático puede estar parcial o totalmente hidrogenado, como se desee. Por ejemplo, se puede utilizar dihidropiridina en lugar de piridina. Los grupos funcionales de oxígeno y nitrógeno sobre un heteroarilo pueden protegerse como sea necesario o deseado. Los grupos protectores adecuados para oxígeno o nitrógeno incluyen trimetil-sililo, dimetil-hexil-sililo, terbutil-dimetil-sililo, terbutil-difenil-sililo, tritilo, tritilo sustituido, alquilo, metan-sulfonilo, p-toluen-sulfonilo, o grupos acilo tales como acetilo y propionilo.

[0069] Los ejemplos no limitantes de los grupos heteroarilo y heterocíclicos incluyen furilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, piperidinilo, piperazinilo, tienilo, pirrolilo, pirrolinilo, pirrolidinilo, imidazolilo, tetrazolilo, triazolilo, triazinilo, tiazinilo, oxazolilo, purinilo, carbazolilo, quinolinilo, pirazolilo, morfolinilo, bencimidazolilo, y similares. Cualquiera de las fracciones heteroaromáticas y heterocíclicas puede estar opcionalmente sustituida como se describe anteriormente para arilo, incluyendo

sustituciones con uno o más de hidroxilo, amino, alquil-amino, aril-amino, alcoxilo, ariloxilo, alquilo, heterociclilo, halógeno, carboxilo, acilo, aciloxilo, amido, nitro, ciano, ácido sulfónico, sulfato, ácido fosfónico, fosfato, o fosfonato, ya sea protegidos o no protegidos, como sea necesario, como es conocido por los expertos en este campo, y como se enseña, por ejemplo, en Greene y colaboradores, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley and Sons, Tercera Edición, **1999**.

[0070] El término "amino", como se utiliza en la presente, a menos que se especifique de otra manera, incluye una fracción representada por la estructura "-NR_2", e incluye las aminas primarias, secundarias y terciarias opcionalmente sustituidas por grupos alquilo, arilo, heterociclilo, y/o sulfonilo. Por consiguiente, R_2 puede representar dos átomos de hidrógeno, dos fracciones de alquilo, o una fracción de hidrógeno y una fracción de alquilo.

[0071] El término "aminoácido" o "residuo de aminoácido" incluye los aminoácidos α, ß, γ, ó δ que se presentan naturalmente y sintéticos, e incluye, pero no se limita a, los aminoácidos encontrados en las proteínas, es decir, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, lisina, arginina, e histidina. En una realización, el aminoácido está en la configuración-L, pero también se puede utilizar en la configuración-D. De una manera alternativa, el aminoácido puede ser un derivado de alanilo, valinilo, leucinilo, isoleuccinilo, prolinilo, fenilalaninilo, triptofanilo, metioninilo, glicinilo, serinilo, treoninilo, cisteinilo, tirosinilo, asparaginilo, glutaminilo, aspartoílo, glutaroílo, lisinilo, argininilo, histidinilo, ß-alanilo, ß-valinilo, ß-leucinilo, ß-isoleuccinilo, ß-prolinilo, ß-fenilalaninilo, ß-triptofanilo, ß-metioninilo, ß-glicinilo, ß-serinilo, ß-treoninilo, ß-cisteinilo, ß-tirosinilo, ß-asparaginilo, ß-

glutaminilo, ß-aspartoílo, ß-glutaroílo, ß-lisinilo, ß-argininilo o ß-histidinilo. Cuando se utiliza el término aminoácido, se considera que es una divulgación específica e independiente de cada uno de los ésteres de α, ß, γ, ó δ - glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, triptófano, prolina, serina, treonina, cisteína, tirosina, asparagina, glutamina, aspartato, glutamato, lisina, arginina, e histidina en las configuraciones D y L.

[0072] El término "amido", como se utiliza en la presente, incluye un carbonilo sustituido por amino, mientras que el término "amidino" significa un grupo que tiene la estructura "-C(=NH)-NH_2".

[0073] Ciertos términos que contenían azufre o fósforo tienen los siguientes significados estructurales: "sulfonato" incluye un grupo de la estructura "-S(=O)-(=O)-OR' "; "sulfato" incluye un grupo de la estructura "O-S(=O)-(=O)-OR' "; "sulfonamida" incluye un grupo de la estructura "N(R')-S(=O)-(=O)-R' "; "sulfamoílo" incluye un grupo de la estructura "-S(=O)-(=O)-N(R')-(R')"; "fosforilo" incluye un grupo de la estructura "-P(=O)-OR' "; y "fosforoamidato" incluye un grupo de la estructura "Q-P(NR_1R_2)-(=O)-OR' ", en donde cada R' es independientemente como se define en lo anterior.

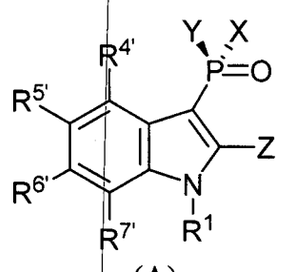
[0074] El término "hospedero", como se utiliza en la presente, se refiere a un organismo unicelular o multicelular, en donde puede replicarse el virus, incluyendo líneas celulares y animales, y en ciertos casos, un ser humano. De una manera alternativa, el hospedero puede ser portador de una parte del genoma viral de VIH, cuya réplica o función puede ser alterada mediante los compuestos de la presente invención. El término hospedero específicamente se refiere a células infectadas, células transfectadas con todo o parte del genoma del VIH y animales, en

particular, primates (incluyendo chimpancés), y seres humanos. En la mayoría de las aplicaciones en animales de la presente invención, el hospedero es un paciente humano. Sin embargo, las aplicaciones veterinarias, en ciertas indicaciones, claramente están abarcadas por las realizaciones de la presente invención (tales como en chimpancés).

[0075] El término "sustituido" incluye múltiples grados de sustitución por uno o más sustituyentes mencionados, tales como, por ejemplo, halógeno, hidroxilo, tio, alquilo, alquenilo, alquinilo, nitro, ciano, azido, amino, carboxamido, etc. En donde existan posibilidades de múltiples sustituyentes, el compuesto puede estar sustituido por uno o más de los grupos sustituyentes dados a conocer o reivindicados, independientemente unos de otros, y tomados de una manera individual o pluralmente.

Compuestos

[0076] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos puros de acuerdo con la fórmula (A), o sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, ésteres o pro-fármacos de los mismos:



(A)

en donde, por ejemplo:

X es hidrógeno; arilo o heterociclo, el cual puede estar sustituido o insustituido, y el cual puede comprender una estructura bicíclica, tricíclica, o espiro; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo;

Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR;

Z es OR, NHR, NRR, carboxamido, amido, carboxilo,

carbonilo, o un residuo de aminoácido;

R^1 es hidrógeno, acilo, $S(O)_n$-R, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

cada uno de $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$ y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclo, halógeno, CN, CF_3, OR, NHR, NRR, o NO_2;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, o heterociclo.

[0077] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (A), X es arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; e Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR.

[0078] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (A), $R^{4'}$ y $R^{5'}$ son independientemente hidrógeno o halógeno, y X, Y, Z, R^1, $R^{6'}$, $R^{7'}$, y R son como se definen anteriormente.

[0079] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (A):

cada uno de $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

Y es hidrógeno, R, u O-R;

X es arilo opcionalmente sustituido;

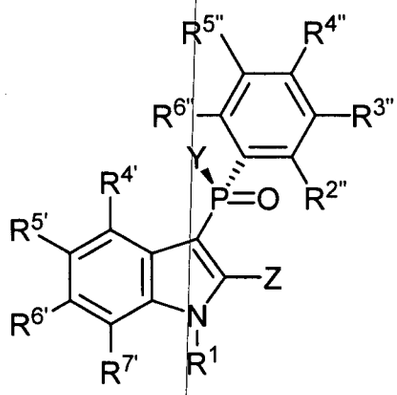
Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0080] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos puros de acuerdo con la fórmula (C), o

una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco de los mismos:



(C)

en donde $R^{2"}$, $R^{3"}$, $R^{4"}$, $R^{5"}$ y $R^{6"}$ son independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo, o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono;

$R^{4'}$ y $R^{5'}$ son independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

Y es hidrógeno, R, u O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0081] En ciertas realizaciones de la fórmula (C):

$R^{3"}$ y $R^{5"}$ son independientemente alquilo o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido independientemente con CN o halógeno;

$R^{2"}$, $R^{4"}$ y $R^{6"}$ son hidrógeno;

cada uno de $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

Y es hidrógeno, R, u O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0082] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (C):

$R^{3"}$ y $R^{5"}$ son independientemente alquilo o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, cada uno de los cuales independientemente puede estar opcionalmente sustituido con CN o halógeno;

$R^{2"}$, $R^{4"}$ y $R^{6"}$ son hidrógeno;

cada uno de $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

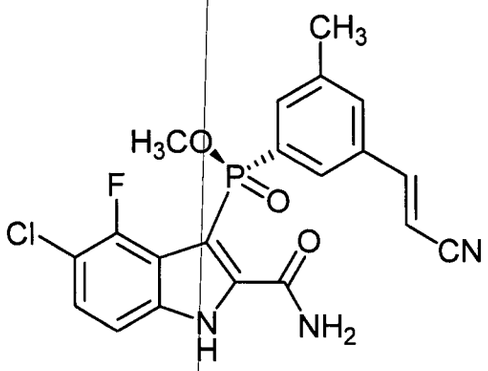
R^1 es hidrógeno;

Y es O-R;

Z es amido, carboxilo, o carbonilo; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

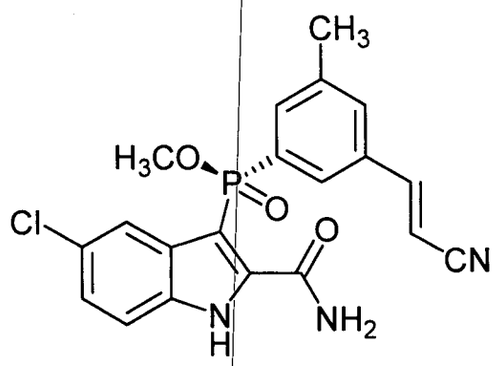
[0083] En una realización, se proporciona un compuesto puro, o sales farmacéuticamente aceptables, solvatos, hidratos, ésteres o pro-fármacos del mismo:



(I)

en donde la configuración absoluta en el átomo de fósforo es R. El nombre químico del compuesto I es metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico, y la fórmula empírica es $C_{20}H_{16}ClFN_3O_3P$ con un peso molecular de 431.39.

[0084] En una realización, se proporciona un compuesto puro, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco del mismo:



(III)

en donde la configuración absoluta en el átomo de fósforo es R. El nombre químico del compuesto III es metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico, y la fórmula empírica es $C_{20}H_{17}ClN_3O_3P$ con un peso molecular de 413.79.

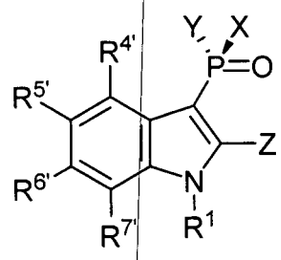
[0085] En una realización, se proporciona un compuesto puro seleccionado a partir del grupo que consiste de:

metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico; y

metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco de los mismos.

[0086] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos puros de acuerdo con la fórmula (B), o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco de los mismos:



(B)

en donde, por ejemplo:

X es hidrógeno; arilo o heterociclo, el cual puede estar sustituido o insustituido, y el cual puede comprender una estructura bicíclica, tricíclica, o espiro; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo;

Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR;

Z es OR, NHR, NRR, carboxamido, amido, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

R^1 es hidrógeno, acilo, $S(O)_n$-R, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

cada uno de $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$ y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclo, halógeno, CN, CF_3, OR, NHR, NRR, o NO_2;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, o heterociclo.

[0087] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (B), X es hidrógeno; arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; e Y es hidrógeno, R, O-R, NH-R, o NRR.

[0088] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula (B), $R^{4'}$ y $R^{5'}$ son independientemente hidrógeno o halógeno, y X, Y, Z, R^1, $R^{6'}$, $R^{7'}$, y R son como se definen anteriormente.

[0089] En ciertas realizaciones, de acuerdo con la fórmula

(B),

$R^{4'}$ y $R^{5'}$ son cada uno independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

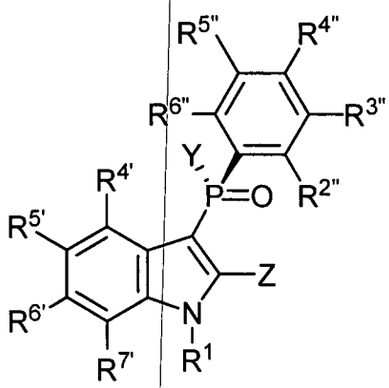
Y es hidrógeno, R, u O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0090] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan compuestos puros de acuerdo con la fórmula (D), o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco de los mismos:



(D)

en donde $R^{2"}$, $R^{3"}$, $R^{4"}$, $R^{5"}$ y $R^{6"}$ son independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo, o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono;

$R^{4'}$ y $R^{5'}$ son independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

Y es hidrógeno, R, u O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0091] En ciertas realizaciones de la fórmula (D):

$R^{3"}$ y $R^{5"}$ son independientemente alquilo o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, el cual puede estar opcionalmente sustituido con CN o halógeno;

$R^{2"}$, $R^{4"}$ y $R^{6"}$ son hidrógeno;

cada uno de $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $S(O)_n$-R;

Y es hidrógeno, R, u O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 0, 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

[0092] En ciertas realizaciones de la fórmula (D):

$R^{3"}$ y $R^{5"}$ son independientemente alquilo o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, el cual puede estar opcionalmente sustituido con CN o halógeno;

$R^{2"}$, $R^{4"}$ y $R^{6"}$ son hidrógeno;

cada uno de $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

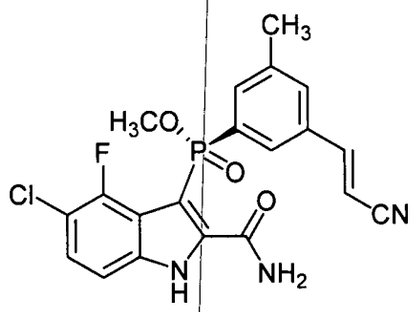
R^1 es hidrógeno;

Y es O-R;

Z es amido, carboxilo, o carbonilo; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

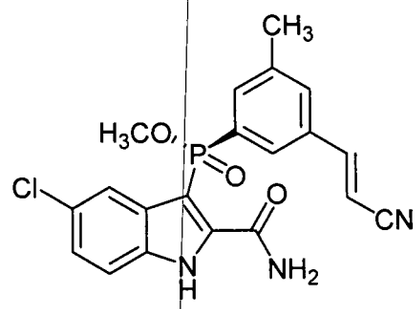
[0093] En una realización, se proporciona un compuesto puro, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco del mismo:



(II)

en donde la configuración absoluta en el átomo de fósforo es S.

[0094] En una realización, se proporciona un compuesto puro, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco del mismo:



(IV)

en donde la configuración absoluta en el átomo de fósforo es S.

[0095] En una realización, se proporciona un compuesto puro seleccionado a partir del grupo que consiste de:

metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(S)-fosfínico; y

metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(S)-fosfínico,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o pro-fármaco de los mismos.

[0096] En ciertas realizaciones, el compuesto de acuerdo con (A)-(D) o (I)-(IV) es el compuesto enantioméricamente puro o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, éster o

pro-fármaco del mismo. En ciertas realizaciones, el compuesto de acuerdo con (A)-(D) o (I)-(IV) es el compuesto enantioméricamente puro o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En ciertas realizaciones, el compuesto enantioméricamente puro comprende cuando menos aproximadamente el 80 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 20 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, cuando menos aproximadamente el 90 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 10 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, cuando menos aproximadamente el 95 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 5 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, cuando menos aproximadamente el 96.6 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 3.4 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, cuando menos aproximadamente el 97 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 3 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, cuando menos aproximadamente el 99 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 1 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros, o cuando menos aproximadamente el 99.9 por ciento en peso del enantiómero designado y cuando mucho aproximadamente el 0.1 por ciento en peso del otro enantiómero o de los otros estereoisómeros. En ciertas realizaciones, los pesos se basan en el peso total del compuesto.

[0097] También se proporcionan compuestos que se pueden dar como una sal, éster o pro-fármaco que, después de su administración al receptor, proporcionan directamente o

indirectamente un compuesto proporcionado en la presente o que exhibe la actividad deseada misma.

Sales Farmacéuticamente Aceptables, Pro-Fármacos, Estereoisómeros y Tautómeros

[0098] Un compuesto proporcionado en la presente se puede administrar como cualquier sal o pro-fármaco que, después de su administración al receptor, es capaz de proporcionar directa o indirectamente el compuesto progenitor, o que exhibe actividad por sí mismo. Los ejemplos no limitantes son las sales farmacéuticamente o fisiológicamente aceptables. La frase "sal o pro-fármaco farmacéuticamente o fisiológicamente aceptable" se utiliza a través de toda la memoria descriptiva para describir cualquier forma farmacéuticamente aceptable (tal como un éster, amida, sal de un éster, sal de una amida o un grupo relacionado) de un compuesto que, después de su administración a un paciente, proporciona un compuesto activo de la invención. Las modificaciones como éstas pueden afectar a la actividad biológica del compuesto, en algunos casos aumentando la actividad sobre el compuesto progenitor.

[0099] El término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere al estado de un compuesto en donde el compuesto lleva un contra-ion que es farmacéuticamente aceptable, y en donde la sal retiene la actividad biológica deseada de los compuestos identificados en la presente, mientras que exhibe efectos toxicológicos indeseados mínimos. Estas sales son formas no tóxicas terapéuticamente útiles de los compuestos de la presente invención. En la presente se pretende incluir cualquier sal que retenga la actividad biológica deseada de los compuestos contenidos en la presente, y que exhiba efectos indeseados o toxicológicos mínimos o inexistentes. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquéllas derivadas a partir

de ácidos y bases orgánicos o inorgánicos farmacéuticamente aceptables. Los ácidos y bases no farmacéuticamente aceptables también encuentran uso en la presente, como por ejemplo, en la síntesis y/o purificación de los compuestos de interés. Por consiguiente, en la presente se pretende incluir a todas las "sales".

[00100] Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquéllas derivadas a partir de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, e incluyen las sales de tosilato, metan-sulfonato, acetato, citrato, malonato, tartrato, succinato, benzoato, ascorbato, alfa-quetoglutarato, alfa-glicerofosfato, formato, fumarato, propionato, glicolato, lactato, piruvato, oxalato, maleato, salicilato, sulfato, sulfonato, nitrato, bicarbonato, hidrobromato, bromhidrato, yodhidrato, carbonato, y ácido fosfórico. Una realización particular es la sal de mono- o di-clorhidrato. Las sales adecuadas incluyen aquéllas derivadas a partir de los metales alcalinos, tales como potasio y sodio, de los metales alcalinotérreos, tales como calcio y magnesio, entre otros numerosos ácidos bien conocidos en la técnica farmacéutica. Los pro-fármacos farmacéuticamente aceptables se refieren a un compuesto que se metaboliza, por ejemplo, se hidroliza o se oxida, en el hospedero, para formar el compuesto de la presente invención. Los ejemplos típicos de los pro-fármacos incluyen los compuestos que tienen grupos protectores biológicamente lábiles sobre una fracción funcional del compuesto activo, incluyendo, pero no limitándose a, una fracción de éster o acilo. Los pro-fármacos incluyen los compuestos que se pueden oxidar, reducir, aminar, desaminar, hidroxilar, deshidroxilar, hidrolizar, deshidrolizar, alquilar, desalquilar, acilar, desacilar, fosforilar, desfosforilar, para producir el compuesto activo.

[00101] Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden

obtener mediante el empleo de procedimientos convencionales bien conocidos en la materia, por ejemplo, mediante la reacción de un compuesto suficientemente básico, tal como una amina con un ácido adecuado, proporcionando un anión fisiológicamente aceptable. También se pueden hacer sales de metales alcalinos (tales como potasio, sodio o litio) o de metales alcalinotérreos (tales como calcio) de los ácidos carboxílicos.

[00102] Los ejemplos no limitantes de las sales adecuadas incluyen aquéllas derivadas a partir de ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido bicarbónico, ácido carbónico; y las sales formadas con ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, ácido fórmico, ácido acético, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido málico, ácido malónico, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido tánico, ácido pamoico, ácido algínico, poli-ácido glutámico, ácido tósico, ácido metan-sulfónico, ácido naftalen-sulfónico, ácido naftalen-disulfónico, ácido α-quetoglutárico, ácido α-glicerofosfórico, y poli-ácido galacturónico. Las sales adecuadas incluyen aquéllas derivadas a partir de los metales alcalinos, tales como litio, potasio y sodio, a partir de los metales alcalinotérreos, tales como calcio y magnesio, así como a partir de otras bases bien conocidas por las personas expertas en la técnica farmacéutica. Otras sales adecuadas incluyen aquéllas derivadas a partir de los cationes de metales, tales como zinc, bismuto, bario, o aluminio, o con un catión formado a partir de una amina, tal como amoníaco, N,N-dibencil-etilen-diamina, D-glucosamina, tetraetil-amonio, o etilen-diamina. Más aún, las sales adecuadas incluyen aquéllas derivadas a partir de una combinación de ácidos y bases, tales como, por ejemplo, una sal de tanato de zinc.

[00103] Un pro-fármaco farmacéuticamente aceptable se

refiere a un compuesto que se metaboliza (es decir, se hidroliza o se oxida, por ejemplo) en el hospedero, para formar un compuesto de la presente invención. Los ejemplos típicos de los pro-fármacos incluyen los compuestos que tienen grupos protectores biológicamente lábiles sobre una fracción funcional del compuesto activo. Los pro-fármacos incluyen los compuestos que se pueden oxidar, reducir, aminar, desaminar, hidroxilar, deshidroxilar, hidrolizar, deshidrolizar, alquilar, desalquilar, acilar,desacilar, fosforilar, y/o desfosforilar, para producir el compuesto activo.

[00104] En una realización, los compuestos proporcionados en la presente poseen actividad antiviral contra el VIH, o son metabolizados hasta un compuesto que exhibe dicha actividad.

Métodos de Tratamiento

[00105] En una realización, se proporcionan métodos para el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH en un hospedero, los cuales comprenden administrar una cantidad antiviralmente efectiva de un compuesto descrito en la presente, incluyendo un compuesto de las fórmulas A a D o los Compuestos I a IV o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o pro-fármaco de los mismos. Los compuestos se pueden combinar con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[00106] En otra realización principal, se proporciona el uso de un compuesto dado a conocer en la presente, incluyendo un compuesto de las fórmulas A a D o los Compuestos I a IV, o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o pro-fármaco de los mismos, en el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH en un hospedero, opcionalmente en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[00107] También se proporciona el uso de un compuesto descrito en la presente, o una sal farmacéuticamente aceptable,

éster o pro-fármaco del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH en un hospedero, opcionalmente en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

[00108] En una realización, se proporciona un método para el tratamiento o la profilaxis de una infección por VIH en un hospedero, el cual comprende administrar un compuesto de 3-fosfoindol sustancialmente en la forma de un enantiómero, o una sal farmacéuticamente aceptable, éster o pro-fármaco del mismo, opcionalmente en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, a un hospedero que lo necesite. En una realización, el 3-fosfoindol es de la fórmula A. En otra realización, el compuesto es de la fórmula B. En una realización, el 3-fosfoindol es de la fórmula C. En una realización, el 3-fosfoindol es de la fórmula D. En una realización, el 3-fosfoindol es de la fórmula I, en donde la estereoquímica absoluta en el fósforo es R. En otra realización, el 3-fosfoindol es de la fórmula II, con la estereoquímica absoluta S. En una realización adicional, el 3-fosfoindol puede ser de la fórmula III, con la estereoquímica absoluta R. En otra realización, el 3-fosfoindol está representado por la fórmula IV, con la esteoquímica absoluta S.

[00109] En otras realizaciones, el hospedero puede haber sido diagnosticado mediante la medición de una titulación de anticuerpo anti-VIH en la sangre. En otra realización, los compuestos se administran para reducir o prevenir los síntomas del SIDA (síndrome de inmunodeficiencia adquirida) en un hospedero. En todavía otra realización, los compuestos que se dan a conocer en la presente se administran a un hospedero en riesgo de infección con VIH.

[00110] En otra realización, el compuesto activo exhibe actividad contra las formas de VIH resistentes a fármacos, y por

consiguiente, exhibe una resistencia cruzada reducida contra las terapias antivirales actualmente aprobadas. La frase "actividad contra una forma de VIH resistente a fármacos" significa que un compuesto (o su pro-fármaco o sal farmacéuticamente aceptable) es activo contra la cepa mutante con una EC_{50} por ejemplo, con una concentración menor de aproximadamente 50, 25, 10 ó 1 micromolar. En una realización, el inhibidor de transcriptasa inversa que no es nucleósido (NNRTI) exhibe una EC_{50} (en concentración molar) contra una cepa de VIH mutante de menos de aproximadamente 5, 2.5, 1 ó 0.1 micromolar. En una realización no limitante, la cepa de VIH mutante tiene una mutación de transcriptasa inversa en lisina 103 → asparagina y/o tirosina 181 → cisteína.

[00111] Los compuestos proporcionados en la presente se pueden evaluar para determinar su capacidad para inhibir la actividad de transcriptasa inversa *in vitro* de acuerdo con los métodos de rastreo convencionales. El espectro de actividad exhibido por cualquier compuesto particular se determina mediante la evaluación del compuesto en los ensayos descritos en esta memoria descriptiva o con otros ensayos de confirmación conocidos por los expertos en la técnica de los compuestos contra el VIH. Los compuestos pueden exhibir una EC_{50} de menos de 10 a 15 μM.

[00112] En una realización, la eficacia de los 3-fosfoindoles se mide mediante el ensayo inmunosorbente enlazado con enzimas específico de VIH, p24 ELISA. La eficacia del fármaco se expresa como el porcentaje de inhibición del antígeno p24 de VIH en este ensayo rápido y sensible. En una realización relacionada útil para los experimentos específicos, la eficacia del compuesto contra el VIH se determina mediante un "ensayo de reducción de placas", el cual mide la concentración del compuesto necesaria

para reducir el número de placas del virus *in vitro*, de acuerdo con los métodos estipulados más particularmente en la presente, por un 50 por ciento (es decir, la EC_{50} del compuesto). En algunas realizaciones, el compuesto exhibe una EC_{50} de menos de 15, o de menos de 10 micromolar hasta cantidades nanomolares *in vitro*.

Terapia de Combinación o Alternada

[00113] En ciertas realizaciones, el compuesto del indol se administra en combinación y/o alternado con uno o más agentes contra el VIH diferentes. En otra realización, la administración de dos o más agentes contra el VIH da como resultado un efecto sinérgico en la inhibición del VIH. En otra realización, el efecto de administrar dos o más de estos agentes en combinación y/o alternados, produce un efecto aditivo en la inhibición de la réplica del VIH.

[00114] En ciertas realizaciones, el compuesto del indol se administra en combinación y/o alternado con uno o más agentes contra el virus de hepatitis B, o uno o más agentes contra el virus de hepatitis C. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, el compuesto del indol se puede administrar a un hospedero co-infectado con VIH y HBV en combinación con un agente efectivo para el tratamiento de HBV. El agente efectivo para el tratamiento de HBV puede ser cualquier agente conocido por los expertos en este campo. Los agentes de ejemplo se describen en la presente. En ciertas realizaciones, el compuesto del indol se puede administrar a un hospedero co-infectado con VIH y HCV en combinación con un agente efectivo para el tratamiento de HCV. El agente efectivo para el tratamiento del virus de hepatitis C puede ser cualquier agente conocido por los expertos en este campo.

[00115] En ciertas realizaciones, el compuesto del indol se administra en combinación y/o alternado con uno o más agentes

que son metabolizados por la mono-oxigenasa de citocromo P450. El agente puede ser cualquier agente conocido por las personas de experiencia en este campo por ser metabolizado por una mono-oxigenasa de citocromo P450. Los agentes de ejemplo se describen en la presente. En ciertas realizaciones, el citocromo P450 es el citocromo P450 3A4, el citocromo P450 2C8, o el citocromo P450 2C9.

[00116] En la terapia de combinación, se administran dosificaciones efectivas de dos o más agentes juntos, mientras que durante la terapia alternada se administra una dosificación efectiva de cada agente en serie. Las dosificaciones dependerán de las tasas de absorción, inactivación, y excreción de los fármacos, así como de otros factores conocidos por los expertos en la materia. Los valores de dosificación también variarán con la gravedad de la condición que se vaya a aliviar. Para cualquier individuo particular, los regímenes y programas de dosificación específicos se deben ajustar a través del tiempo para satisfacer las necesidades del individuo y el juicio profesional de la persona que administre o supervise la administración de las composiciones.

[00117] La resistencia a fármacos se presenta más típicamente mediante la mutación de un gen que codifique para una enzima utilizada en el ciclo de la réplica viral. Se ha demostrado que la eficacia de un fármaco contra el VIH se puede prolongar, aumentar o restablecer mediante la administración del compuesto en combinación o alternado con un segundo, y tal vez un tercer compuesto antiviral que induzca mutaciones diferentes de aquélla seleccionada por el fármaco principal. Estas combinaciones de fármacos reducen simultáneamente la posibilidad de resistencia a cualquier fármaco individual y cualesquiera efectos tóxicos asociados. De una manera

alternativa, la farmacocinética, biodistribución, u otros parámetros del fármaco se pueden alterar mediante esta terapia de combinación o alternada. Por ejemplo, el uso de una combinación de fármacos puede permitir que un fármaco individual dentro de esa combinación sea dado en una dosificación más baja que la que se requeriría cuando se administre el fármaco como un producto monoterapéutico. De la misma manera, cuando se combinan fármacos que se dirigen a diferentes etapas del ciclo de vida viral, existe la posibilidad de potenciar sus efectos. Más aún, el uso de las combinaciones de fármacos podría reducir o eliminar los efectos secundarios indeseables de un solo fármaco, mientras que todavía produzca la actividad anti-viral. En general, se prefiere típicamente la terapia de combinación sobre la terapia alternada, debido a que aplica múltiples presiones simultáneas sobre el virus.

Agentes de HCV

[00118] Los interferones (IFNs) para el tratamiento de hepatitis crónica han estado disponibles comercialmente durante casi una década, y forman la base de las terapias aprobadas para el HCV actualmente disponibles. Los interferones son glicoproteínas producidas por las células inmunes en respuesta a las infecciones virales. Inhiben la réplica de un número de virus, incluyendo HCV, y cuando se utilizan como el único tratamiento para la infección de hepatitis C, los interferones algunas veces pueden suprimir el ARN de HCV hasta niveles indetectables. También, los interferones pueden normalizar los niveles de aminotransferasa en suero. Desafortunadamente, el efecto de los interferones es temporal, y se presenta una respuesta sostenida en solamente el 8 al 9 por ciento de los pacientes crónicamente infectados con el virus de hepatitis C (Gary L. Davis, *Gastroenterology*, **2000**, *118*: S104-S114). La mayoría de los

pacientes, sin embargo, tienen dificultades para tolerar el tratamiento con interferón, el cual provoca graves síntomas tipo gripe, pérdida de peso, y falta de energía y de estamina.

[00119] Muchas patentes dan a conocer tratamientos para *Flaviviridae*, incluyendo el virus de hepatitis C, que utilizan terapias basadas en interferones. Por ejemplo, La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,980,884 a Blatt y colaboradores, da a conocer métodos para el re-tratamiento de los pacientes afligidos con el virus de hepatitis C, utilizando interferón en consenso. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,942,223 a Bazer y colaboradores, da a conocer una terapia contra el virus de hepatitis C utilizando el interferón-tau ovino o bovino. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,928,636 a Alber y colaboradores, da a conocer la terapia de combinación de interleucina-12 e interferón-alfa, para el tratamiento de enfermedades infecciosas, incluyendo el virus de hepatitis C. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,849,696 a Chretien y colaboradores, da a conocer el uso de timosinas, solas o en combinación con interferón, para el tratamiento del virus de hepatitis C. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,830,455 a Valtuena y colaboradores, enseña una terapia de combinación para el virus de hepatitis C que emplea interferón y un eliminador de radicales libres. La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,738,845 a Imakawa enseña el uso de las proteínas humanas de interferón-tau para el tratamiento del virus de hepatitis C. Otros tratamientos basados en interferones para el virus de hepatitis C se dan en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,676,942 a Testa y colaboradores, y en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,372,808 a Blatt y colaboradores; un número de patentes también dan a conocer las

formas pegiladas de los interferones y su uso, tales como, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 5,747,646; 5,792,834; y 5,834,594 todas a Hoffmann-LaRoche, Inc.; las Publicaciones Internacionales del TCP Números WO 99/32139 y WO 99/32140 a Enzon; la Publicación Internacional Número WO 95/13090 y las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 5,738,846 y 5,711,944 a Schering Corporation; y la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,908,621 a Glue y colaboradores.

[00120] El interferón alfa-2a y el interferón alfa-2b actualmente están aprobados como una monoterapia para el tratamiento del virus de hepatitis C. ROFERON®-A de Roche es la forma recombinante del interferón alfa-2a. PEGASYS® de Roche es la forma pegilada o modificada con polietilenglicol del interferón alfa-2a. INTRON® A de Schering Corporation es la forma recombinante del interferón alfa-2b, y PEG-INTRON® de Schering Corporation es la forma pegilada del interferón alfa-2b.

[00121] Otras formas de interferón alfa así como de interferón beta, gamma, tau y omega, están actualmente en desarrollo para el tratamiento del virus de hepatitis C. Los ejemplos incluidos en la presente son INFERGEN, interferón alfacon-1, por InterMune; OMNIFERON, un interferón natural, por Viragen; ALBUFERON por Human Genome Sciences; REBIF, interferón beta-1a, por Ares-Serono; Interferón Omega por BioMedicine; Interferón Alfa Oral por Amarillo Biosciences; e interferones gamma, tau y gamma 1-b por InterMune.

[00122] La ribavirina (1-ß-D-ribofuranosil-1-1,2,4-triazolil-3-carboxamida) es un análogo de nucleósido antiviral de amplio espectro, sintético, no inductor de interferón, vendido bajo el nombre comercial Virazol (The Merck Index, 11ª Edición, **1989**, Editor: Budavari, S., Merck & Co., Inc., Rahway, NJ; página 1304).

Véase la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 3,798,209 y RE29,835. Estructuralmente, la ribavirina es similar a la guanosina, y tiene actividad *in vitro* contra varios virus de ADN y ARN, incluyendo *Flaviviridae* (Gary L. Davis, **2000**, *Gastroenterology*, *118*: S104-S114).

[00123] La ribavirina reduce los niveles de amino-transferasa en suero hasta los normales en el 40 por ciento de los pacientes, pero no reduce los niveles en suero del ARN de HCV (Gary L. Davis, **2000**, *Gastroenterology*, *118*: S104-S114). Por consiguiente, la ribavirina sola no es efectiva para reducir los niveles del ARN viral. En adición, la ribavirina tiene una toxicidad significativa, y se sabe que induce anemia. No está aprobada para la monoterapia contra el virus de hepatitis C, pero se ha aprobado en combinación con interferón alfa-2a o interferón alfa-2b para el tratamiento del virus de hepatitis C.

[00124] La norma actual de cuidado para la hepatitis C crónica es la terapia de combinación con un interferón alfa y ribavirina. Los estudios han demostrado que más pacientes con el virus de hepatitis C responden a la terapia de combinación con interferón-alfa pegilado/ribavirina que a la terapia de combinación con el interferón alfa no pegilado. Sin embargo, como con la monoterapia, se desarrollan efectos secundarios significativos durante la terapia de combinación, incluyendo hemólisis, síntomas tipo gripe, anemia, y fatiga (Gary L. Davis, **2000**, *Gastroenterology*, *118*: S104-S114).

[00125] La terapia de combinación con cápsulas de PEG-INTRON® (peginterferón alfa-2b) y REBETOL® (Ribivarina, USP) está disponible en Schering Corporation. El REBETOL® de Schering Corporation también ha sido aprobado en combinación con INTRON® A (interferón alfa-2b recombinante de Schering Corporation). PEGASYS® de Roche (interferón alfa-2a pegilado) y

COPEGUS® (ribavirina) también han sido aprobados para el tratamiento de infección por el virus de hepatitis C.

[00126] Las Publicaciones Internacionales del TCP Números WO 99/59621, WO 00/37110, WO 01/81359, WO 02/32414 y WO 03/024461 todas a Schering Corporation, dan a conocer el uso de la terapia de combinación con interferón alfa pegilado y ribavirina para el tratamiento de infección por el virus de hepatitis C. Las Publicaciones Internacionales del TCP Números WO 99/15194, WO 99/64016 y WO 00/24355 todas a Hoffmann-LaRoche, Inc., también dan a conocer el uso combinado del interferón alfa pegilado y ribavirina para el tratamiento de la infección por el virus de hepatitis C.

[00127] Están en desarrollo nuevos agentes antivirales para el tratamiento de infecciones por *Flaviviridae*, en especial para infecciones por hepacivirus HCV. Se están estudiando inhibidores específicos de las enzimas derivadas del virus de hepatitis C, como proteasa, helicasa, y polimerasa. También se están investigando los fármacos que inhiben pasos en la réplica del virus de hepatitis C, e incluyen fármacos que bloquean la producción de los antígenos del virus de hepatitis C del ARN (inhibidores IRES), fármacos que impiden el procesamiento normal de las proteínas del virus de hepatitis C (inhibidores de glicosilación), fármacos que bloquean la entrada del virus de hepatitis C en las células tal como mediante el bloqueo de sus receptores, y agentes citoprotectores no específicos que bloquean la lesión celular causada por la infección viral. Más aún, se están investigando planteamientos moleculares para tratar la infección por el virus de hepatitis C. Por ejemplo, se están conduciendo estudios de ribozimas, enzimas que descomponen las moléculas del ARN viral específicas, y oligonucleótidos anti-sentido, los cuales son pequeños segmentos complementarios del ADN que se

enlazan a, e inhiben, el ARN viral. Se puede encontrar una revisión de los tratamientos del virus de hepatitis C en Bymock y colaboradores, *Antiviral Chemistry & Chemotherapy*, **2000**, *11*: 2, y de Francesco y colaboradores, *Antiviral Res.*, **2003**, *58*: 1-16.

[00128] Otras clases de fármacos que se están desarrollando para tratar infecciones de *Flaviviridae* e infecciones de hepatitis C incluyen en particular:

1) Inhibidores de proteasa:

a. Los inhibidores de proteasa NS3 basados en el sustrato son dados a conocer por Attwood y colaboradores, en la Publicación Internacional Número WO 98/22496 y en la Patente Alemana Número DE 19914474; por Attwood y colaboradores, en *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, **1999**, *10*: 259-273; y por Tung y colaboradores, en la Publicación Internacional Número WO 98/17679, la cual incluye alfa-quetoamidas e hidrazino-ureas;

b. Los inhibidores de sustrato que terminan en un electrófilo como ácido borónico o fosfonato son mostrados por Llinas-Brunet y colaboradores, en la Publicación Internacional Número WO 99/07734;

c. Los inhibidores de proteasa NS3 no basados en sustrato, tales como los derivados de 2,4,6-trihidroxi-3-nitro-benzamida, RD3-4082 y RD3-4078 (el primero sustituido sobre la amida con una cadena de carbono-14, y teniendo el último un grupo *para*-fenoxi-fenilo), mostrados por Sudo y colaboradores, en *Biochemical and Biophysical Res. Comm.*, **1997**, *238*: 643-7, y en *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, **1998**, *9*: 186;

d. Sch 68631, una fenantren-quinona, dada a conocer por Chu y colaboradores, en *Tetrahedron Letters*, **1996**, *37:* 7229-32, y Sch 351633, aislado a partir del hongo *Penicillium griseofulvum*, dado a conocer por Chu y colaboradores, en *Bioorganic and Medicinal Chem. Lett.*, *9*: 1949-52;

e. Eglina c, una macromolécula aislada a partir de sanguijuela, que exhibe una inhibición de potencia nanomolar contra varias proteasas de serina como las proteasas A y B de *S. griseus*, α-quimiotripsina, quimasa, y subtilisina, como es dado a conocer por Qasim y colaboradores, *Biochemistry*, **1997**, *36*: 1598-1607;

f. Los inhibidores de proteasa de cisteína para inhibir la endopeptidasa-2 del virus de hepatitis C, como se da a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,004,933 a Spruce y colaboradores;

g. Los inhibidores sintéticos de proteasa NS3 o del co-factor NS4A del virus de hepatitis C que son subsecuencias de los sustratos utilizados por la proteasa y/o el co-factor, como se muestra en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,990,276 a Zhang y colaboradores;

h. Las enzimas de restricción para tratar el virus de hepatitis C, como se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,538,865 a Reyes y colaboradores;

i. Los péptidos tales como inhibidores de proteasa de serina NS3 del virus de hepatitis C, como se muestra en la Publicación Internacional Número WO 02/008251 a Corvas International, Inc., y en las Publicaciones Internacionales Números WO 02/08187 y WO 02/008256 a Schering Corporation;

j. Los inhibidores de tripéptidos del virus de hepatitis C, como se dan a conocer en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 6,534,523; 6,410,531; y 6,420,380 a Boehringer Ingelheim y en la Publicación Internacional Número WO 02/060926 a Bristol Myers Squibb;

k. Los péptidos de diarilo como los inhibidores de proteasa de serina del virus de hepatitis C, como es enseñado por

Schering Corporation en la Publicación Internacional Número WO 02/48172;

l. Las imidazolidinonas como los inhibidores de proteasa de serina NS3 del virus de hepatitis C, como se dan a conocer en la Publicación Internacional Número WO 02/08198 a Schering Corporation y en la Publicación Internacional Número WO 02/48157 a Bristol Myers Squibb; y

m. Los inhibidores de proteasa del virus de hepatitis C, como son enseñados por Vertex Pharmaceuticals en la Publicación Internacional Número WO 98/17679 y por Bristol Myers Squibb en la Publicación Internacional Número WO 02/48116.

2) Derivados de tiazolidina que muestran una inhibición relevante en un ensayo de HPLC en fase inversa con una proteína de fusión de NS3/4A y el sustrato de NS5A/5B, como es demostrado por Sudo y colaboradores, *Antiviral Res.*, **1996**, *32*: 9-18, en especial los compuestos RD4 6205, RD4 6193, y RD-1-6250 que tienen una fracción de cinamoílo fusionada sustituida por una cadena de alquilo larga;

3) Tiazolidinas y benzanilidas, como son dadas a conocer por Kakiuchi y colaboradores, *J. EBS Letters, 421*: 217-220, y por Takeshita y colaboradores, *Analytical Biochemistry,* **1997**, *247:* 242-46;

4) Inhibidores de helicasa, como son dados a conocer por Diana y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,633,358 y en la Publicación Internacional Número WO 97/36554;

5) Inhibidores de polimerasa de nucleótido y gliotoxina, como son mostrados por R. Ferrari y colaboradores, *J. Virology*, **1999**, *73*: 1649-54;

6) Cerulenina, un producto natural mostrado por V.

Lohmann y colaboradores, *Virology,* **1998,** *249*: 108-118;

7) Oligodesoxinucleótidos de fosforotioato anti-sentido (S-ODN) complementarios para los estiramientos de secuencia en el 5' no codificante (NCR) del virus de *Flaviviridae* como es demostrado por M. Alt y colaboradores, *Hepatology*, **1995**, *22*: 707-717;

8) Los nucleótidos 326-348 que comprenden el extremo 3' del NCR, y los nucleótidos 371-388 localizados en la región codificante del núcleo del ARN de HCV, como es mostrado por M. Alt y colaboradores, *Archives of Virology*, **1997**, *142*: 589-599; Galderisi y colaboradores, *J. of Cellular Physiology,* **1999,** *181*: 251-257;

9) Inhibidores de la traducción dependiente de IRES, como son dados a conocer por Ikeda y colaboradores, Patente Japonesa Número JP-08268890, e Y. Kai y colaboradores, Patente Japonesa Número JP-10101591;

10) Ribozimas, tales como ribozimas resistentes a nucleasa, como son mostradas por D. D. Maccjak y colaboradores, *Hepatology*, **1999**, *30*: Extracto Número 995; Barber y colaboradores, en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,043,077; y Draper y colaboradores, en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números U.S. 5,869,253 y 5,610,054;

11) Análogos de nucleósidos, incluyendo el uso de nucleósidos ramificados en el tratamiento de flavivirus, pestivirus, y hepacivirus, como es mostrado por Idenix Pharmaceuticals en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/92282 y WO 01/90121, en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números U.S. 6,812,219 y U.S. 6,914,054, en donde se da a conocer un método para el tratamiento de infección por hepatitis C, pestivirus y/o flavivirus en seres humanos y otros animales

hospederos, el cual incluye administrar una cantidad efectiva de nucleósidos ß-D o ß-L 1', 2', 3', o 4'-ramificados biológicamente activos, o una sal farmacéuticamente aceptable o un derivado de los mismos, administrados ya sea solos o bien en combinación con otro agente antiviral, opcionalmente en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los análogos de nucleósidos también se encuentran en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/32153 y WO 01/60315 a BioChem Pharma, Inc. (ahora Shire Biochem, Inc.); en las Publicaciones Internacionales Números WO 02/057425 y WO 02/057287 presentadas por Merck & Co., Inc.; en la Publicación Internacional Número WO 02/18404 por Roche; en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/79246, WO 02/32920, y WO 02/48165 de Pharmasset, Ltd.; y en la Publicación Internacional Número WO 99/43691 a Emory University. En la Sesión Oral V, Virus de Hepatitis C, *Flaviviridae*, 16th International Conference on Antiviral Research, Abril 27, 2003, Savannah, GA, Eldrup y colaboradores describieron nucleósidos 2'-modificados para la inhibición del virus de hepatitis C; los análogos de nucleósidos como posibles inhibidores de la réplica del ARN del virus de hepatitis C fueron enseñados por Bhar y colaboradores, (página A75), en donde el autor reportó que los nucleósidos 2'-modificados demuestran una potente actividad inhibidora en los ensayos de replicones basados en células; el efecto de los nucleósidos 2'-modificados sobre la réplica del ARN del virus de hepatitis C fue reportado por Olsen y colaboradores, (página A76).

12) Se están desarrollando compuestos varios para tratar las infecciones por *Flaviviridae* y las infecciones por hepatitis C que incluyen en particular: 1-amino-alquil-ciclohexanos como se describen en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 6,034,134 a Gold y colaboradores; lípidos de alquilo,

vitamina E y otros antioxidantes en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,922,757 a Chojkier y colaboradores; escualeno, amantadina, y ácidos biliares, como se muestran en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,846,964 a Ozeki y colaboradores; N-(fosfono-acetil)-L-ácido aspártico y piperidinas, como se encuentran en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,830,905 a Diana y colaboradores; bencen-dicarboxamidas como se dan a conocer en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,633,388 a Diana y colaboradores; derivados de poli-ácido adenílico, como se describen en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,496,546 a Wang y colaboradores; 2',3'-didesoxi-inosina, como se encuentra en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,026,687 a Yarchaon y colaboradores; bencimidazoles como se demuestran en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,891,874 a Colacino y colaboradores; y extractos de plantas, como se muestran en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,837,257 a Tsai y colaboradores, y la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 5,725,859 a Omer y colaboradores;

13) Los compuestos que se encuentran actualmente en desarrollo pre-clínico o clínico para el tratamiento del virus de hepatitis C incluyen: Interleucina-10 por Schering Plough; IP-501 por Interneuron; Merimebodib (VX-497) por Vertex; AMANTADINE® (Symmetrel) por Endo Labs Solvay; HEPTAZYME® por RPI; IDN-6556 por Idun Pharmaceuticals; XTL-002 por XTL; HCV/MF59 por Chiron; CIVACIR® (Inmunoglobulina de Hepatitis C) por NABI; LEVOVIRIN® por ICN/Ribapharm; VIRAMIDINE® por ICN/Ribapharm (Valeant); ZADAXIN® (timosina alfa-1) por Sci Clone; timosina más interferón pegilado por Sci Clone;

CEPLENE® (diclorhidrato de histamina) por Maxim; VX 950/LY 570310 por Vertex/Eli Lilly; ISIS 14803 por Isis Pharmaceutical/Elan; JTK 003 por AKROS Pharma; BILN-2061 por Boehringer Ingelheim; CellCept (micofenolato-mofetil) por Roche; T67 (inhibidor de ß-tubulina) por Tularik; una vacuna terapéutica dirigida a E2 por Innogenetics; FK788 por Fujisawa Healthcare, Inc.; IdB 1016 (Siliphos, fitosoma oral de silibina-fosfatidil-colina); un inhibidor de la réplica del ARN VP50406 por ViroPharma/Wyeth; vacunas terapéuticas por Intercell and Epimmune/Genencor; un inhibidor de IRES por Anadys; ANA 245 y ANA 246 por Anadys; inmunoterapia "Therapore" por Avant; inhibidores de proteasa por Bristol Myers Squibb/Axys y Corvas/Schering; un inhibidor de helicasa por Vertex; un inhibidor de fusión por Trimeris; terapia de células-T por CellExSys; inhibidor de polimerasa por Biocryst; química de ARN dirigida por PTC Therapeutics; Dication por Immtech, International; inhibidores de proteasa por Agouron y Chiron/Medivir; terapias anti-sentido por AVI BioPharma and Hybridon; un hemopurificador por Aethlon Medical; una vacuna terapéutica por Merix; "Chron-VacC", una vacuna terapéutica, por Tripep; UT 231B por United Therapeutics; inhibidores de proteasa, helicasa y polimerasa por Genelabs Technologies; inhibidores de IRES por Immusol; R803 por Rigel Pharmaceuticals; INFERGEN® (interferón alfacon-1) por InterMune; OMNIFERON® (interferón natural) por Viragen; ALBUFERON® por Human Genome Sciences; REBIF® (interferón beta-1a) por Ares-Serono; Interferón Omega por BioMedicine; Interferón Alfa Oral por Amarillo Biosciences; interferones gamma, tau y gamma-1b por InterMune; interferón en consenso por Valeant; Nexavar por Onyx Pharmaceuticals; PI-88 por Progen Industries; transfármaco de doxorrubicina por BioAlliance Pharma; JBK-122 por Jenken Biosciences; Valopicitabina por Idenix; VGX-

410C por VGX Pharmaceuticals; Celgosivir por Migenix; Suvus por Bioenvision; Multiferon por Viragen; interferón omega por Intarcia; INNO0101 (E1) por Innogenetics; PF-03491390 por Pfizer; interferón medusa por Flamel Technologies; IC41 por Intercell; SCH 503034 por Schering; G126270 por GlaxoSmithKline; GV1001 por Pharmexa; R1626 por Roche; Maxygen/Roche; R7128 por Pharmasset/Roche; Belerofon por Nautilus Biotech; Alinia por Romark; Bavituximab por Peregrine; Interferón alfa Oral por Amarillo Biosciences; NOV-205 por Novelos; CGI 5005 por GlobeImmune; HCV-796 por ViroPharma/Wyeth; HCV/MF59 por Chiron /Norvartis; EMZ702 por Transition Therapeutics; AVI-4065 por Biopharma; ANA975 por ANADYS; MitoQ por Antipodean Pharmaceuticals, Inc; ACH-0137171 por Achillion Pharmaceuticals; R1626 por Roche; XTL-2125 por XTL; XTL-6865 por XTL; BLX-883 por Biolex Therapeutics / OctoPlus; DEBIO-025 por DEBIO; y UT-231B por United Therapeutics; y

14) Pro-fármacos de nucleósidos como se describen anteriormente para el tratamiento de otras formas de hepatitis, incluyendo 2'-desoxi-ß-L-nucleósidos y sus 3'-pro-fármacos para el tratamiento del virus de hepatitis B, como se dan a conocer en las Publicaciones Internacionales Números WO 00/09531 y WO 01/96353 a Idenix Pharmaceuticals; y ésteres terapéuticos de aciclovir, como se muestran en la Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,957,924 a Beauchamp.

[00129] Otros ejemplos de agentes antivirales que se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos que se dan a conocer en la presente incluyen, pero no se limitan a, los agentes tales como VX-950 e interferón. Los interferones que se pueden utilizar incluyen los productos de interferón alfa-2b de Schering-Plough, Intron® A y PEG-Intron^{MR}; y Co-Pegasus y PEGASYS (interferón alfa–2a pegilado) de Hoffman La Roche.

Agentes de Hepatitis B

[00130] El agente de hepatitis B puede ser cualquier agente conocido por las personas de experiencia en este campo como efectivo para el tratamiento de la infección por hepatitis B en un hospedero que lo necesite. En ciertas realizaciones, el agente de hepatitis B es interferón-alfa (Intron A, Schering-Plough), interferón pegilado (Pegasys, Roche), lamivudina (Epivir-HBV, Zeffix, o Heptodina, Glaxo-Smithkline), adefovir-dipivoxil (Hepsera, Gilead), entecavir (Baraclude, Bristol-Myers-Squibb), telbivudina (Tyzeka o Sebivo, Idenix) o inmunoglobulina del virus de hepatitis B (HiperHEP S/D, Talecris; Nabi-HBV, Nabi; Hepa Gam B, Cangene).

[00131] En ciertas realizaciones, el agente de hepatitis B es FTC (Emtricitabina, Gilead), L-FMAU (Clevudina, Pharmasset; Levovir, Bukwang), tenofovir (Viread, Gilead), monoval LdC (Valtorcitabina, Idenix), DAPD (Amdoxovir, RFS Pharm LLC), Ana 380 (LB80380, Anadys), remofovir (Pradefovir, Schering-Plough), racivir (RCV, Pharmasset), BAM-205 (NOV-205, Novelos), XTL-001 (HepeX-B, XTL Biopharm, Cubist), nitoxanida (Alinia, Romark Labs), UT 231-B (United Therapeutics), Bay 41-4109 (Bayer), EHT899 (Enzo Biochem), timosina alfa-1 (Zadaxina, SciClone), Hi-8 HBV (Oxxon), eiRNA (HepX, Nucleonics), HepaVaxx B (Virexx), Vacuna de Antígeno de Núcleo del Virus de Hepatitis B (Emergent Europe), o SpecifEx-HepB (Cromos).

Otros agentes antivirales

[00132] Cualquiera de los tratamientos virales descritos en los Antecedentes de la Invención en cualquier otra parte de la presente, se pueden utilizar en combinación o alternadamente con los compuestos descritos en esta memoria descriptiva. Los ejemplos no limitantes incluyen: a) inhibidores de proteasa; b) derivados de tiazolidina; c) inhibidores de helicasa; d)

benzanilidas; e) fenantren-quinonas; f) inhibidores de polimerasa y gliotoxina; g) oligodesoxinucleótidos de fosforotioato anti-sentido (S-ODN); h) inhibidores de la traducción dependiente de IRES; i) ribozimas; j) análogos de nucleósidos; k) análogos de nucleósidos disustituidos como son dados a conocer por Idenix Pharmaceuticals en las Publicaciones Internacionales Números WO 01/90121, WO 01/92282, WO 04/00300, WO 04/002999, y WO 04/002422; l) análogos de 2'-fluoro-nucleósidos; m) 1-NH_2-alquil-ciclohexanos; n) lípidos de alquilo; o) vitamina E y otros antioxidantes; p) escualeno, amantadina y ácidos biliares; q) N-(fosfonoacetil)-L-ácido aspártico; r) bencen-dicarboxamidas; s) derivados de poli-ácido adenílico; t) bencimidazoles; u) 2',3'-didesoxi-inosina; v) extractos de plantas; w) piperidinas; y x) otros compuestos actualmente en desarrollo pre-clínico o clínico para el tratamiento de pestivirus, flavivirus y/o hepacivirus, incluyendo ribavirina y las familias de los interferones.

[00133] El segundo agente antiviral para el tratamiento de VIH puede ser, por ejemplo, un inhibidor de proteasa, un inhibidor de integrasa de VIH, un inhibidor de quimiocina, o un inhibidor de transcriptasa inversa ("RTI"), el último de los cuales puede ser ya sea un inhibidor de transcriptasa inversa de nucleósido sintético ("NRTI") o bien un inhibidor de transcriptasa inversa que no es de nucleósido ("NNRTI"). En otras realizaciones, un segundo o tercer compuesto puede ser un análogo de pirofosfato o un inhibidor de enlace de fusión. Se encuentra una lista que compila los datos de resistencia recopilados *in vitro* e *in vivo* para ciertos compuestos antivirales en Schinazi y colaboradores, Mutations in retroviral genes associated with drug resistance, *International Antiviral News*, 1997, *5(8).*

[00134] En ciertas realizaciones, el compuesto del indol se administra en combinación y/o alternado con FTC (2',3'-didesoxi-

3'-tia-5-fluoro-citidina); 141W94 (amprenavir, Glaxo Wellcome, Inc.); Viramune (nevirapina); Rescriptor (delavirdina); DMP-266 (efavirenz); DDI (2',3'-didesoxi-inosina); 3TC (3'-tia-2',3'-didesoxi-citidina); DDC (2',3'-didesoxi-citidina), abacavir (1592U89), el cual es (1S,4R)- succinato de 4-[(2-amino-6-ciclopropil-amino)-9H-purin-9-il]-2-ciclopenten-1-metanol, Tenofovir DF (Viread), D4T, o AZT.

[00135] Otros ejemplos de agentes antivirales que se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos que se dan a conocer en la presente incluyen, pero no se limitan a, foscarnet; carbovir; aciclovir; interferón; inhibidores de fusión, tales como enfuvirtida; y nucleósidos de ß-D-dioxolano, tales como ß-D-dioxolanil-guanina (DXG), ß-D-dioxolanil-2,6-diamino-purina (DAPD), y ß-D-dioxolanil-6-cloro-purina (ACP). Los interferones que se pueden utilizar incluyen los productos de interferón alfa-2b de Schering-Plough, Intron® A y PEG-Intron^{MR}; y Co-Pegasus y PEGASYS (interferón alfa–2a pegilado) de Hoffman La Roche. Las combinaciones con las cuales se pueden administrar los 3-fosfoindoles incluyen Epzicom (ABC+3TC), Trizivir (ABC + 3TC + AZT), Truvada (FTC +Viread), y Combivir (AZT+3TC).

[00136] Los ejemplos de los inhibidores de proteasa que se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos que se dan a conocer en la presente incluyen, pero no se limitan a, indinavir ({1(1S,2R),5(S)}-sulfato de 2,3,5-tridesoxi-N-(2,3-dihidro-2-hidroxi-1H-inden-1-il)-5-[2-[[(1,1-dimetil-etil)-amino]-carbonil]-4-(3-piridinil-metil)-1-piperazinil]-2-(fenil-metil)-D-eritro-pentoamida; Merck & Co., Inc.); nelfinavir (Agouron); ritonavir (Abbott Labs), saquinavir (Roche); Amprenavir; Atazanavir; Fosamprenavir; Kaletra; y DMP-450 bismesilato de {[4R-4(r-a,5-a,6-b,7-6)-hexahidro-5,6-bis-(hidroxi)-

1,3-bis-(3-amino)-fenil]metil-4,7-bis-(fenil-metil)-2H-1,3-diazepin-2-ona} (Triangle Pharmaceuticals, Inc.).

[00137] Otros compuestos que se pueden administrar en combinación o alternadamente con el fosfoindol para aumentar sus propiedades antivirales incluyen (1S,4R)- succinato de 4-[2-amino-6-ciclopropil-amino-9H-purin-9-il]-2-ciclopenten-1-metanol (1592U89, un análogo de carbovir, de GlaxoSmithKline); BILA 1906 (N-{1S-[[[3-[2S-{(1,1-dimetil-etil)-amino]-carbonil}-4R-]3-piridinil-metil)-tio]-1-piperidinil]-2R-hidroxi-1S-fenil-metil)-propil]-amino]-carbonil]-2-metil-propil}-2-quinolin-carboxamida) (Bio Mega/Boehringer Ingelheim); BILA 2185 (N-(1,1-dimetil-etil)-1-[2S-[[[2-2,6-dimetil-fenoxi]-1-oxoetil]-amino]-2R-hidroxi-4-fenil-butil]-4R-tiopiridinil-2-piperidin-carboxamida) (Bio Mega/Boehringer Ingelheim); BM+51.0836 (derivado de triazolo-isoindolinona), y BMS 186,318 (inhibidor de proteasa de VIH-1 derivado de aminodiol) (Bristol-Myers Squibb); d4API (9-[2,5-dihidro-5-(fosfono-metoxi)-2-furanil]-adenina) (Gilead); HBY097 (S-4-isopropoxi-carbonil-6-metoxi-3-[tiometil-metil]-3,4-dihidro-quinoxalin-2(1H)-tiona); HEPT (1-[(2-hidroxi-etoxi)-metil]-6-[tiofenil]-timina); KNI-272 (tripéptido que contenía (2S,3S)-ácido 3-amino-2-hidroxi-4-fenil-butírico); L-697,593 (5-etil-6-metil-3-(2-ftalimido-etil)-piridin-2(1H)-ona); L-732,524 (inhibidor de proteasa de VIH-1 de hidroxi-amino-pentan-amida) (Merck & Co.); L-697,661 (3-{[(-4,7-dicloro-1,3-benzoxazol-2-il)-metil]-amino}-5-etil-6-metil-piridin-2(1H)-ona); L-FDDC ((-)-ß-L-5-fluoro-2',3'-didesoxi-citidina); L-FDOC ((-)-ß-L-5-fluoro-dioxolan-citosina); PFA (fosfonoformato; "foscarnet"; Astra); PMEA (9-(2-fosfonil-metoxi-etil)-adenina) (Gilead); PMPA ((R)-9-(2-fosfonil-metoxi-propil)-adenina) (Gilead); Ro 31-8959 (inhibidor de proteasa de VIH-1 derivado de hidroxi-etil-amina) (Roche); RPI-3121 (inhibidor de proteasa de peptidilo, 1-[(3S)-3-(n-alfa-benciloxi-carbonil)-1-

asparginil)-amino-2-hidroxi-4-fenil-butiril]-n-terbutil-1-prolin-amida); 2720 (6-cloro-3,3-dimetil-4-(isopropeniloxi-carbonil)-3,4-dihidro-quinoxalin-2(1H)-tiona); SC-52151 (inhibidor de proteasa de isoéster de hidroxi-etil-urea) (G.D. Searle); SC-55389A (inhibidor de proteasa de isoéster de hidroxi-etil-urea (G.D. Searle); TIBO R82150 ((+)-(5S)-4,5,6,7-tetrahidro-5-metil-6-(3-metil-2-butenil)-imidazo-[4,5,1-jk]-[1,4]-benzo-diazepin-2(1H)-tiona) (Janssen Pharmaceuticals); TIBO 82913 ((+)-(5S)-4,5,6,7-tetrahidro-9-cloro-5-metil-6-(3-metil-2-butenil)-imidazo-[4,5,1-jk]–[1,4]-benzo-diazepin-2(1H)-tiona (Janssen Pharmaceuticals); TSAO-m3T ([2',5'-bis-O-(terbutil-dimetil-silil)-3'-espiro-5'-(4'-amino-1',2'-oxatiol-2',2'-dióxido)]-ß-D-pentofuranosil-N3-metil-timina); U90152 (1-[3-[(1-metil-etil-amino]-2-piridinil]-4-[[5-[(metil-sulfonil)-amino]-1H-indol-2-il]-carbonil]-piperazina); UC (derivados de tio-carboxanilida) (Uniroyal); UC-781 (N-[4-cloro-3-(3-metil-2-buteniloxi)-fenil]-2-metil-3-furan-carbotioamida); UC-82 (N-[4-cloro-3-(3-metil-2-buteniloxi)-fenil]-2-metil-3-tiofen-carbotioamida); VB 11,328 (inhibidor de proteasa de hidroxi-etil-sulfonamida) (Vertex/Glaxo Wellcome); XM 323 (inhibidor de proteasa de urea cíclica) (Dupont Merck); y penciclovir. En todavía otra realización, el compuesto del indol de la invención se administra en combinación con el inhibidor de proteasa LG 1350.

[00138] Los siguientes fármacos se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos de la presente invención.

Nombre del Fármaco	Fabricante
3TC, Epivir® lamivudina de marca	GlaxoSmithKline
abacavir genérico Ziagen®, ABC, o 1592U89	GlaxoSmithKline

Nombre del Fármaco	Fabricante
ABC, Ziagen® abacavir de marca, o 1592U89	GlaxoSmithKline
ABT-378/r, o Kaletra® lopinavir/ritonavir de marca	Abbott Laboratories
AG-1549, S-1153, o capravirina (CPV)	Pfizer
AG1661, Remune® Inmunógeno de VIH-1 de marca, o vacuna de Salk	Immune Response Corp.
Agenerase® amprenavir de marca (APV), 141W94, o VX-478	GlaxoSmithKline
aldesleucina genérico Proleukin®, o Interleucina-2 (IL-2)	Chiron Corporation
amdoxovir, o DAPD	Gilead Sciences
amprenavir genérico Agenerase®, APV, 141W94, o VX-478	GlaxoSmithKline
Aptivus®	Boehringer Ingelheim
APV, Agenerase® amprenavir de marca, 141W94, o VX-478	GlaxoSmithKline
atazanavir genérico Reyataz^{MR}, o BMS-232632	Bristol-Myers Squibb
Atripla®	Bristol-Myers Squibb y Gilead
AZT, Retrovir® zidovudina de marca (ZDV)	GlaxoSmithKline

Nombre del Fármaco	Fabricante
Bis-(POC) PMPA, Viread® tenofovir de marca DF	Gilead Sciences
BMS-232632, o Reyataz^{MR} atazanavir de marca	Bristol-Myers Squibb
BMS-56190, o DPC-083	Bristol-Myers Squibb
calanolida A	Sarawak Medichem
capravirina (CPV), AG-1549, o S-1153	Pfizer
Combivir® zidovudina + lamivudina de marca, o AZT + 3TC	GlaxoSmithKline
CPV (capravirina), AG-1549, o S-1153	Pfizer
Crixivan® indinavir de marca (IDV), o MK-639	Merck & Co.
d4T, Zerit® estavudina de marca, o BMY-27857	Bristol-Myers Squibb
DAPD, o amdoxovir	Gilead Sciences
ddC, o Hivid® zalcitabina de marca	Hoffmann-La Roche
ddI, Videx® didanosina de marca, o BMY-40900	Bristol-Myers Squibb
delavirdina genérico Rescriptor®, DLV, o U-90152S/T	Pfizer
didanosina genérico Videx®, ddI, o BMY-	Bristol-Myers

Nombre del Fármaco	Fabricante
40900	Squibb
DLV, Rescriptor® delavirdina de marca, o U-90152S/T	Pfizer
DPC-083, o BMS-56190	Bristol-Myers Squibb
Droxia® hidroxiurea de marca (HU)	Bristol-Myers Squibb
efavirenz genérico Sustiva®, o EFV	Bristol-Myers Squibb
EFV, Sustiva® efavirenz de marca	Bristol-Myers Squibb
emtricitabina genérico Emtriva^{MR}, o FTC	Gilead Sciences
Emtriva® emtricitabina de marca, o FTC	Gilead Sciences
enfuvirtida genérico Fuzeon^{MR}, o T-20	Trimeris y Hoffmann-La Roche
Epivir® lamivudina de marca, ó 3TC	GlaxoSmithKline
epoetina alfa (eritropoietina) genérico Procrit®	Orto Biotech
Epzicom®	GlaxoSmithKline
eritropoietina (epoetina alfa) genérico Procrit®	Orto Biotech
Fortovase® saquinavir de marca (Soft Gel	Hoffmann-La Roche

Nombre del Fármaco	Fabricante
Cap), o SQV (SGC)	
fosamprenavir, o GW-433908, o VX-175	GlaxoSmithKline
FTC, o Emtriva® emtricitabina de marca	Gilead Sciences
Fuzeon^{MR} enfuvirtida de marca, o T-20	Trimeris and Hoffmann-La Roche
GW-433908, o fosamprenavir, o VX-175	GlaxoSmithKline
HE2000, o alfa-epibromuro	HollisEden Pharmaceuticals
Inmunógeno de VIH-1 genérico Remune®, vacuna de Salk, o AG1661	Immune Response Corp.
Hivid® zalcitabina de marca, o ddC	Hoffmann-La Roche
HU, o Droxia® hidroxiurea de marca	Bristol-Myers Squibb
hidroxiurea genérico Droxia®, o HU	Bristol-Myers Squibb
IDV, Crixivan® indinavir de marca, o MK-639	Merck & Co.
IL-2 (Interleucina-2), o Proleukin® aldesleucina de marca	Chiron Corporation
indinavir genérico Crixivan®, IDV, o MK-639	Merck & Co.
Interleucina-2 (IL-2), o Proleukin® aldesleucina de marca	Chiron Corporation
Isentress raltegravir de marca	Merck

Nombre del Fármaco	Fabricante
Invirase® saquinavir de marca (Hard Gel Cap), SQV (HGC), o Ro-31-8959	Hoffmann-La Roche
Kaletra® lopinavir/ritonavir de marca, o ABT-378/r	Abbott Laboratories
lamivudina genérico Epivir®, o 3TC	GlaxoSmithKline
Lexiva®	GlaxoSmithKline
lopinavir/ritonavir genérico Kaletra®, o ABT-378/r	Abbott Laboratories
MK-639, Crixivan® indinavir de marca (IDV)	Merck & Co.
nelfinavir genérico Viracept®, NFV, o AG-1343	Pfizer
nevirapina genérico Viramune®, NVP, o BI-RG-587	Boehringer Ingelheim
NFV, Viracept® nelfinavir de marca, o AG-1343	Pfizer
Norvir® ritonavir de marca (RTV), o ABT-538	Abbott Laboratories
NVP, Viramune® nevirapina de marca, o BI-RG-587	Boehringer Ingelheim
PNU-140690, o tipranavir	Boehringer Ingelheim
Prezista®	Tibotec
PRO-542	Progenics

Nombre del Fármaco	Fabricante
	Pharmaceuticals
Procrit® epoetina alfa de marca (eritropoietina)	Orto Biotech
Proleukin® aldesleucina de marca, o Interleucina-2 (IL-2)	Chiron Corporation
Remune® Inmunógeno de VIH-1 de marca, o vacuna de Salk	Immune Response Corp.
Rescriptor® delavirdina de marca (DLV), o U-90152S/T	Pfizer
Retrovir® zidovudina de marca (ZDV), o AZT	GlaxoSmithKline
Reyataz^{MR} atazanavir de marca, o BMS-232632	Bristol-Myers Squibb
ritonavir genérico Norvir®, RTV, o ABT-538	Abbott Laboratories
RTV, Norvir® ritonavir de marca, o ABT-538	Abbott Laboratories
vacuna de Salk, Remune® Inmunógeno de VIH-1 de marca, o AG1661	Immune Response Corp.
saquinavir (Hard Gel Cap) genérico Invirase®, SQV (HGC), o Ro-31-8959	Hoffmann-La Roche
saquinavir (Soft Gel Cap) genérico Fortovase®, o SQV (SGC)	Hoffmann-La Roche
SCH-C	Schering-Plough
Selzentry maraviroc de marca	Pfizer

Nombre del Fármaco	Fabricante
Serostim® somatropina de marca	Serono Laboratories
somatropina genérico Serostim®	Serono Laboratories
SQV (HGC), Invirase® saquinavir de marca (Hard Gel Cap), o Ro-31-8959	Hoffmann-La Roche
SQV (SGC), o Fortovase® saquinavir de marca (Soft Gel Cap)	Hoffmann-La Roche
estavudina genérico Zerit®, d4T, o BMY-27857	Bristol-Myers Squibb
Sustiva® efavirenz de marca (EFV)	Bristol-Myers Squibb
T-1249	Trimeris y Hoffmann-La Roche
T-20, o Fuzeon^{MR} enfuvirtida de marca	Trimeris y Hoffmann-La Roche
TDF, tenofovir DF genérico Viread^{MR}, o Bis-(POC) PMPA	Gilead Sciences
tenofovir DF (TDF) genérico Viread®, Bis-(POC) PMPA	Gilead Sciences
tipranavir, o PNU-140690	Boehringer Ingelheim
TMC-114	Tibotec-Virco Group
TMC-125	Tibotec-Virco Group

Nombre del Fármaco	Fabricante
Trizivir® abacavir + zidovudina + lamivudina de marca (ABC + AZT + 3TC)	GlaxoSmithKline
Truvada®	Gilead
Videx® didanosina de marca, ddI, o BMY-40900	Bristol-Myers Squibb
Videx® EC didanosina de marca (ddI): cápsulas de liberación demorada	Bristol-Myers Squibb
Viracept® nelfinavir de marca (NFV), o AG-1343	Pfizer
Viramune® nevirapina de marca (NVP), o BI-RG-587	Boehringer Ingelheim
Viread® tenofovir DF de marca, o Bis-(POC) PMPA	Gilead Sciences
VX-175, o fosamprenavir, o GW-433908	GlaxoSmithKline
zalcitabina genérico Hivid®, o ddC	Hoffmann-La Roche
ZDV, Retrovir® zidovudina de marca, o AZT	GlaxoSmithKline
Zerit® estavudina de marca, d4T, o BMY-27857	Bristol-Myers Squibb
Ziagen® abacavir de marca (ABC), o 1592U89	GlaxoSmithKline
zidovudina genérico Retrovir®, AZT, o ZDV	GlaxoSmithKline

[00139] Los fármacos adicionales que se pueden utilizar en

combinación y/o alternadamente con los 3-fosfoindoles incluyen:

GW5634 (GSK)	MIV-150 (Medivir/Chiron)	Tipranavir (B-I)
RO033-4649 (Roche)	TMC125 (Tibotec)	
GW640385 (GSK/Vertex)	TMC114 (Tibotec)	
Elvucitabina (Achillion Ph.)	Alovudina (FLT) (B-I)	
MIV-210 (GSK/Medivir)	Racivir (Pharmasset)	
SPD754 (Shire Pharm.)	Reverset (Incyte Corp.)	
FP21399 (Fuji Pharm.)	AMD070 (AnorMed)	
GW873140 (GSK)	BMS-488043 (BMS)	
Schering C/D (417690)	PRO 542 (Progenics Pharm)	
	TAK-220 (Takeda)	
	TNX-355 (Tanox)	
	UK-427,857 (Pfizer)	

[00140] Los siguientes fármacos se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos de la presente invención.

Nombre de Marca	**Nombre Genérico**	**Uso**	**Nombre del Fabricante**
Abelcet,	Anfotericina B,	antifúngico para	varios

Nombre de Marca	Nombre Genérico	Uso	Nombre del Fabricante
Ambisome	ABLC	aspergilosis	
Bactrim, Septra	sulfametoxazol y trimetoprim	antibiótico anti-protozoarios para Neumocistis tratamiento y prevención de *carinii pneumonia*	varios
Biaxin, Klacid	claritromicina	antibiótico para prevención y tratamiento de *Mycobacterium avium*	Abbott Laboratories
Cytovene	ganciclovir, DHPG	antiviral para retinitis por CMV	Roche
Daunoxome	daunorrubicina-liposomal	quimioterapia para sarcoma de Kaposi	Gilead
Diflucan	fluconazol	antifúngico para candidiasis, meningitis criptocócica	Pfizer
Doxil	clorhidrato de doxorrubicina-liposomal	quimioterapia para sarcoma de Kaposi	Orto Biotech

Nombre de Marca	Nombre Genérico	Uso	Nombre del Fabricante
Famvir	famciclovir	antiviral para herpes	Novartis
Foscarnet	foscavir	antiviral para herpes, retinitis por CMV	Astra Pharma-ceuticals
Gamimune N	inmunoglobulina, gamma-globulina, IGIV	inmuno-refuerzo para prevenir infecciones bacterianas en niños	Bayer Biologicals
Intron A	interferón alfa-2b	sarcoma de Kaposi, hepatitis C	Schering
Marinol	dronabinol	tratamiento de pérdida de apetito	Roxane Laboratories
Megace	acetato de megestrol	tratamiento de apetito, pérdida de peso	Bristol Myers-Squibb
Mepron	atovacuona	antibiótico anti-protozoarios para tratamiento y prevención de *Pneumocystis*	GlaxoSmith Kline

Nombre de Marca	Nombre Genérico	Uso	Nombre del Fabricante
		carinii pneumonia	
Micobutina, Ansamicina	rifabutina	antibiótico anti-mico-bacteriano para prevención de *Mycobacterium avium*	Adria Pharma-ceuticals
NebuPent	pentamidina	antibiótico anti-protozoarios para prevención de *Pneumocystis carinii pneumonia*	Fujisawa
Neutrexina	trimetrexato glucuronato y leucovorina	antibiótico anti-protozoarios para tratamiento de *Pneumocystis carinii pneumonia*	MedImmune
Panretina gel	alitretinoína, gel al 0.1 por ciento	sarcoma de Kaposi relacionado con SIDA	Ligand Pharma-ceuticals
Procrit, Epogen	eritropoetina, EPO	tratamiento de anemia relacionada con	Amgen

Nombre de Marca	Nombre Genérico	Uso	Nombre del Fabricante
		terapia con AZT	
Roferon A	interferón alfa-2a	sarcoma de Kaposi y hepatitis C	Roche
Serostim	somatropina rDNA	tratamiento de pérdida de peso	Serono
Sporanox	itraconazol	antifúngico para blastomicosis, histoplasmosis, aspergilosis, y candidiasis	Janssen Pharma-ceuticals
Taxol	paclitaxel	sarcoma de Karposi	Bristol Myers-Squibb
Valcyte	valganciclovir	antiviral para retinitis por CMV	Roche
Vistide	cidofovir, HPMPC	antiviral para retinitis por CMV	Gilead
Vitrasert implante	inserto de ganciclovir	antiviral para retinitis por CMV	Bausch & Lomb
Vitravene intravítrea inyectable	fomivirsen sodio inyección	antiviral para retinitis por CMV	Isis Pharma-ceuticals

Nombre de Marca	Nombre Genérico	Uso	Nombre del Fabricante
Zithromax	azitromicina	antibiótico para *Mycobacterium avium*	Pfizer

[00141] Se pueden utilizar los productos que la FDA ha permitido que procedan como Nuevos Fármacos de Investigación (IND) para el tratamiento de las complicaciones de la infección por VIH y del SIDA. Los siguientes fármacos se pueden utilizar en combinación y/o alternadamente con los compuestos de la presente invención.

- Glucuronato de trimetrexato para el tratamiento de *Pneumocystis carinii pneumonia* en los pacientes de SIDA que no pueden tolerar las formas de tratamiento convencionales.
- Ganciclovir para el tratamiento de retinitis por citomegalovirus en los pacientes de SIDA.
- Pentamidina aerosolizada para la prevención de *Pneumocystis carinii pneumonia* en los pacientes de SIDA.
- Eritropoietina para el tratamiento de anemia relacionada con zidovudina.
- Atovacuona para el tratamiento de los pacientes de SIDA con *Pneumocystis carinii pneumonia* que son intolerantes o que no responden al trimetoprim-sulfametoxazol.
- Rifabutin para la profilaxis contra la bacteremia del complejo de *Mycobacterium avium* en los pacientes de SIDA.
- Vistida intravenosa cidofovir para las personas infectadas por VIH con retinitis por citomegalovirus (CMV) recurrente que ha progresado a pesar del tratamiento (Hoffmann-

La Roche).

- Serostim, una hormona de crecimiento humana recombinante derivada de mamífero, para el tratamiento de consunción relacionada con SIDA (Serono Laboratories).

[00142] En las realizaciones particulares, los compuestos que se dan a conocer en la presente se pueden administrar en combinación o alternadamente con uno, dos o más agentes contra el VIH diferentes. En una sub-realización, el agente adicional se selecciona a partir de:

un inhibidor de proteasa opcionalmente seleccionado a partir de amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir (incluyendo mesilato de saquinavir), lopinavir, ritonavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir (incluyendo la sal de sulfato), y nelfinavir (incluyendo la sal de mesilato);

un inhibidor de transcriptasa inversa de nucleósidos o de nucleótidos opcionalmente seleccionado a partir de lamivudina, emtricitabina, abacavir, zalcitabina, zidovudina, tenofovir (incluyendo fumarato de tenofovir-disoproxil), didanosina, y estavudina;

un inhibidor de transcriptasa inversa que no es de nucleósidos opcionalmente seleccionado a partir de delavirdina, efavirenz y nevirapina;

una combinación de dosis fija opcionalmente seleccionada a partir de Atripla, Combivir, Trizivir y Truvada;

un inhibidor de entrada (tal como un inhibidor de fusión o un antagonista del co-receptor de CCR5) opcionalmente seleccionado a partir de maraviroc y enfuvirtida; y

un inhibidor de integrasa, tal como raltegravir (MK-0518) o elvitegravir (GS-9137).

[00143] Cuando se utiliza un agente contra el VIH adicional, opcionalmente puede estar en otra forma, tal como una forma de

sal, solvato, hidrato, pro-fármaco, polimorfo, enantiómero y similares. El agente contra el VIH adicional también se puede seleccionar a partir de:

un inhibidor de transcriptasa inversa de nucleósido opcionalmente seleccionado a partir de amdoxovir, apricitabina, y elvucitabina;

un inhibidor de proteasa, el cual es opcionalmente brecanivir o GS-8374;

un antagonista del receptor de CCR5 opcionalmente seleccionado a partir de Aplaviroc, PRO2000 y Vicriviroc;

un inhibidor de transcriptasa inversa que no es de nucleósidos, el cual es opcionalmente Etravirina (TMC-125), Rilpivirina (TMC-278), o Calanolida A;

un inhibidor de integrasa, el cual es opcionalmente Elvitegravir, GSK-364735 o raltegravir; y

un inhibidor de maduración que es opcionalmente Bevirimat (PA457);

un inhibidor celular, tal como hidroxiurea;

un inhibidor de entrada, tal como vicriviroc o TNX-355; y

un inhibidor inmuno-basado, tal como Inmunitina (alfa-epibromuro), proleucina (IL-2), Remune (HIV-1 inmunógeno), BAY 50-4798 o IR103.

Agentes metabolizados por el citocromo P450

[00144] En ciertas realizaciones, un compuesto proporcionado en la presente se puede administrar en combinación o alternadamente con un agente farmacéuticamente aceptable que se metaboliza mediante la mono-oxigenasa del citocromo P450. Las mono-oxigenasas del citocromo P450 útiles de ejemplo incluyen citocromo P450 2C8, citocromo P450 2C9 y citocromo P450 3A4. En ciertas realizaciones, los compuestos puros proporcionados en la presente pueden inhibir la mono-oxigenasa

del citocromo P450, mejorando de esta manera la farmacocinética del agente co-administrado. En las realizaciones particulares, la isozima de P450 inhibida es CYP3A4. En las realizaciones particulares, el compuesto de fosfoindol se administra en combinación con un segundo compuesto contra el VIH sin la necesidad de un refuerzo de ritonavir. En las realizaciones particulares, el compuesto de fosfoindol se administra en combinación con uno o más de Atazanavir, Fosamprenavir, Darunavir, Indinavir, Lopinavir, Nelfinavir, Saquinavir, Tipraniavir, o Enfuvirtida.

[00145] En las realizaciones particulares, el compuesto de fosfoindol se administra en terapia de combinación con uno o más inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósidos y/o uno o más inhibidores de integrasa.

[00146] El agente farmacéuticamente aceptable que se metaboliza mediante la mono-oxigenasa del citocromo P450 puede ser cualquier agente conocido o identificado por los expertos en la materia. Los compuestos no limitantes de ejemplo que pueden ser metabolizados por la mono-oxigenasa del citocromo P450 incluyen, pero no se limitan a, paclitaxel, torsemida, amodiaquina, cerivastatina y repaglinida (citocromo P450 2C8); ciertos fármacos anti-inflamatorio no esteroideos (por ejemplo, diclofenaco, ibuprofeno, lornoxicam, meloxicam, S-naproxeno, piroxicam, suprofeno), ciertos agentes hipoglicémicos orales (por ejemplo, tolbutamida, glipizida), ciertos bloqueadores de angiotensina II (por ejemplo, losartan, irbesartan), ciertas sulfonilureas (por ejemplo, gliburida, glibenclamida, glipizida, glimepirida, tolbutamida, amitriptilina), celecoxib, fluoxetina, fluvastatina gliburida, nateglinida, fenitoína, rosiglitazona, tamoxifeno, torsemida, S-warfarina (citocromo P450 2C9); ciertos antibióticos de macrólidos (por ejemplo, claritromicina, eritromicina,

telitromicina), ciertos anti-arrítmicos (por ejemplo, quinidina), ciertas benzodiazepinas (por ejemplo, alprazolam, diazepam, midazolam, triazolam), ciertos inmuno-moduladores (ciclosporina, tacrolimus), ciertos antivirales de VIH (por ejemplo, indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir), ciertos pro-cinéticos (por ejemplo, cisaprida), ciertas antihistaminas (por ejemplo, astemizol, clorfeniramina, terfenidina), ciertos bloqueadores del canal de calcio (por ejemplo, amlodipina, diltiazem, felodipina, lercanidipina, nifedipina, nisoldipina, nitrendipina, verapamil), ciertos inhibidores de HMG-CoA-reductasa (por ejemplo, atorvastatina, cerivastatina, lovastatina, simvastatina), ciertos esteroides (estradiol, hidrocortisona, progesterona, testosterona), alfentanilo, aprepitant, aripiprazol, buspirona, cafergot, cafeína => TMU, cilostazol, cocaína, N-desmetilación de codeína, dapsona, dexametasona, dextrometorfano, docetaxel, domperidona, eplerenona, fentanilo, finasterida, gleevec, haloperidol, irinotecano, LAAM, lidocaína, metadona, nateglinida, odanestrón, pimozida, propranolol, quetiapina, quinina, risperidona, rosuvastatina NOT, salmeterol, sildenafil, sirolimus, tamoxifeno, taxol, terfenadina, trazodona, vincristina, zaleplon, ziprasidona, zolpidem (citocromo P450 3A4). En las realizaciones particulares, en la presente se proporcionan métodos en combinación o alternación con antivirales de VIH que son metabolizados por el citocromo P450 (por ejemplo, indinavir, nelfinavir, ritonavir, saquinavir).

[00147] Otros compuestos de ejemplo que pueden ser metabolizados por la mono-oxigenasa del citocromo P450 incluyen, pero no se limitan a, inhibidores de CCR5 (por ejemplo, PRO-140, vicivirоc, o SCH-417,690, y maraviroc, o UK-427,857), inhibidores de integrasa (por ejemplo, JTK-303/GS-9137, ácido 6-(3-cloro-2-fluoro-bencil)-1-[(2S)-1-hidroxi-3-metil-butan-2-il]-7-

metoxi-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxílico, MK-0518, 5-(1,1-dióxido-1,2-tiazinan-2-il)-N-(4-fluoro-bencil)-8-hidroxi-1,6-naftiridin-7-carboxamida, y aquéllos descritos en las Patentes de los Estados Unidos de Norteamérica Números 6,924,282, 6,921,759, 6,919,351, 6,841,558, 6,541,515, 6,403,347, 6,395,743, 6,380,249, 6,306,891, 6,271,402, 6,262,055, 6,245,806, 6,124,327, 6,110,716, 5,939,414, 5,858,738, 5,759,842, 7,176,220, y 7,112,600, el contenido de las cuales se incorpora a la presente como referencia en su totalidad), inhibidores de proteasa (por ejemplo, saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, amprenavir, lopinavir, ritonavir, atazanavir, fosamprenavir, tipranavir, amprenavir, y darunavir), inhibidores de fusión (por ejemplo, enfurvitida), inhibidores de maduración (por ejemplo, bevirimat, o PA-457), e inhibidores de transcriptasa inversa de nucleósidos (por ejemplo, zidovudina, didanosina, zalcitabina, stavudina, lamivudina, abacavir, enofovir, emtricitabina, combivir, trizivir, truvada, y epzicom).

[00148] Otros compuestos de ejemplo que pueden ser metabolizados por la mono-oxigenasa del citocromo P450 incluyen, pero no se limitan a, ritonavir, los inmunosupresores ciclosporina, FK-506 y rapamicina, los agentes quimioterapéuticos taxol y taxotere, el antibiótico claritromicina, y los inhibidores de proteasa de VIH A-77003, A-80987, MK-639, saquinavir, VX-478, AG1343, DMP-323, XM-450, BILA 2011 BS, BILA 1096 BS, BILA 2185 BS, BMS 186,318, LB71262, SC-52151, SC-629 (N,N-dimetil-glicil-N-(2-hidroxi-3-(((4-metoxi-fenil)-sulfonil)-(2-metil-propil)-amino)-1-(fenil-metil)-propil)-3-metil-L-valinamida), KNI-272, CGP 53437, CGP 57813 y U-103017.

[00149] En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para mejorar la farmacocinética de un inhibidor de proteasa de VIH (o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo) que es

metabolizado por la mono-oxigenasa del citocromo P450. Los métodos comprenden administrar el inhibidor de proteasa de VIH en combinación o alternado con un compuesto descrito en la presente. Esta combinación o alternación puede ser útil para inhibir la proteasa de VIH en seres humanos, y también puede ser útil para la inhibición, el tratamiento, o la profilaxis de una infección por VIH o SIDA en los seres humanos. El inhibidor de proteasa de VIH puede ser cualquier inhibidor de proteasa de VIH conocido por los expertos en este campo. En ciertas realizaciones, el inhibidor de proteasa de VIH es amprenavir (Agenerase, GlaxoSmithkline), tipranavir (Aptivus, Boehringer Ingelheim), indinavir (Crixivan, Merck), saquinavir (Fortovase, Hoffmann-La Roche), mesilato de saquinavir (Invirase, Hoffmann-La Roche), lopinavir y ritonavir (Kaletra, GlaxoSmithkline), ritonavir (Norvir, Abott), darunavir (Prezista, Tibotec), sulfato de atazanavir (Reyataz), o mesilato de nelfinavir (Viracept, Agouron), o una combinación de los mismos.

[00150] En las sub-realizaciones particulares, los compuestos que se dan a conocer en la presente se pueden administrar en combinación o alternados con uno, dos o más agentes inhibidores de proteasa o inhibidores de integrasa contra el VIH, los cuales pueden mejorar potencialmente el metabolismo del segundo agente. En una sub-realización, el agente adicional se selecciona a partir de:

un inhibidor de proteasa opcionalmente seleccionado a partir de amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir (incluyendo mesilato de saquinavir), lopinavir, ritonavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir (incluyendo la sal de sulfato), nelfinavir (incluyendo la sal de mesilato), brecanivir, o GS-8374; y

un inhibidor de integrasa, tal como raltegravir (MK-0518) o elvitegravir (GS-9137), o GSK-364735.

[00151] En general durante la terapia alternada, se administra una dosificación efectiva de cada agente en serie. Durante la terapia de combinación, se administran dosificaciones efectivas de dos o más agentes juntos. Las dosificaciones administradas dependen de factores tales como las tasas de absorción, biodistribución, metabolismo, y excreción para cada fármaco, así como de otros factores conocidos por los expertos en la materia. Se debe observar que las cantidades de dosificación variarán con la gravedad de la condición que se vaya a aliviar, la edad, el peso, y la condición física general del sujeto que reciba el fármaco. Se debe entender además que para cualquier sujeto particular, los regímenes y programas de dosificación específicos se deben ajustar a través del tiempo de acuerdo con la respuesta del sujeto al fármaco, las necesidades del sujeto, y el juicio profesional de la persona que administre o supervise la administración de las composiciones. Los ejemplos de los intervalos de dosificación adecuados para los compuestos, incluyendo los derivados de nucleósidos, tales como, por ejemplo, D4T, DDI y 3TC, nucleósidos 2'-ramificados o inhibidores de proteasa como nelfinavir e indinavir, se pueden encontrar en la literatura científica y en Physicians' Desk Reference. Los intervalos sugeridos para las dosificaciones efectivas de los compuestos de la presente invención son solamente lineamientos, y no se pretende que limiten el alcance o el uso de la invención.

[00152] El régimen de combinación y alternación dado a conocer puede ser útil en el tratamiento y la prevención de infecciones retrovirales y otras condiciones relacionadas, tales como, por ejemplo, complejo relacionado con SIDA (ARC), linfadenopatía generalizada persistente (PGL), condiciones neurológicas relacionadas con SIDA, la posición del anticuerpo anti-VIH y condiciones positivas para VIH, sarcoma de Kaposi,

trombocitopenia purpúrea, e infecciones oportunistas. En adición, estos compuestos o formulaciones se pueden utilizar profilácticamente para prevenir o retardar el progreso de la enfermedad clínica en los individuos que sean positivos para los anticuerpos anti-VIH o para el antígeno de VIH, o que se hayan expuesto al VIH.

Ensayos

[00153] Los compuestos proporcionados en la presente se pueden ensayar para determinar su actividad contra el VIH o la infección por VIH mediante cualquier ensayo que sea considerado como adecuado por una persona experta en la materia. Los ensayos de ejemplo incluyen aquéllos descritos en esta sección y aquéllos proporcionados en los Ejemplos que se encuentran más adelante.

Sistemas de Cultivo Celular para Determinar las Actividades Antivirales

Esquemas de detección del producto amplificado

[00154] Detección Heterogénea: El Southern blot, por ejemplo, es una técnica de detección heterogénea. En el Southern blot, se utiliza electroforesis para separar los productos de la amplificación por tamaño y carga. Los productos de tamaños fraccionados se transfieren a una membrana o filtro mediante difusión, vacío, o electromanchado. Las sondas de detección marcadas se hibridan a los objetivos enlazados con membrana en solución, los filtros se lavan para remover cualquier sonda no hibridada, y se detecta la sonda hibridada sobre la membrana mediante cualquiera de una variedad de métodos conocidos por los expertos en la materia.

[00155] Otros tipos de detección heterogénea se basan en la captura específica de los productos de amplificación por medio de ensayos inmunosorbentes enlazados con enzimas (ELISAs). Un

método empleado con la reacción en cadena de la polimerasa involucra marcar un cebador con un hapteno o ligando, tal como biotina, y después de la amplificación, capturarlo con una microplaca recubierta con anticuerpo o con estreptavidina. El otro cebador se marca con un reportero tal como fluoresceína, y la detección se logra mediante la adición de un anticuerpo anti-fluoresceína tal como un conjugado de peroxidasa de radícula roja (HRP). Este tipo de método no es tan específico como la utilización de sondas de detección que se hibridan a los productos de amplificación definidos de interés.

[00156] El sistema de sonda LCx (Abbott Laboratories, Abbott Park, ILO), y la prueba de VIH-1 Amplicor (Roche Molecular Systems, Inc., Pleasanton, CA) son sistemas que utilizan los métodos de detección heterogénea. En el sistema LCx, las sondas de oligonucleótidos marcadas con hapteno termociclan en la reacción en cadena de la ligasa. Ya sea un hapteno de captura o bien un hapteno de detección, se une covalentemente a cada uno de los cuatro oligonucleótidos cebadores. Después de la amplificación, cada producto amplificado (amplicón) tiene un hapteno de captura y un hapteno de detección. Cuando la amplificación está completa, el instrumento del sistema LCx transfiere la reacción a un nuevo pozo, en donde las micropartículas recubiertas con anticuerpo se enlazan a los haptenos de captura. Cada micropartícula se enlaza entonces de una manera irreversible a una matriz de fibra de vidrio. Un paso de lavado remueve la micropartícula de cualquier sonda que contenga solamente el hapteno de detección. El instrumento LCx agrega un conjugado de fosfatasa alcalina (AP) – anticuerpo que se enlaza al hapteno de detección. Un sustrato fluorigénico para AP es el 4-metil-umbeliferilo. La desfosforilación del 4-metil-umbeliferilo mediante la fosfatasa alcalina la convierte hasta la 4-

metil-umbeliferona, la cual es fluorescente.

[00157] La prueba de VIH-1 Amplicor utiliza un formato ELISA. Después de la amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa, el amplicón se desnaturaliza químicamente. Las sondas de oligonucleótidos específicas del amplicón capturan las cadenas desnaturalizadas sobre una microplaca recubierta. El operador lava cualesquiera cebadores no incorporados y material no hibridado en un paso de lavado, y entonces agrega un conjugado de avidina-peroxidasa de radícula roja a cada pozo. El conjugado se enlaza al amplicón marcado con biotina sobre la placa. En seguida, el operador agrega la 3,3',5,5'-tetrametil-bencidina (TMB), un sustrato cromogénico de peroxidasa de radícula roja. Cuando está presente el peróxido de hidrógeno, la peroxidasa de radícula roja oxida la TMB. a señal se determina colorimétricamente.

[00158] Detección Homogénea: Debido a que las sondas de detección hibridadas y no hibridadas no se separan físicamente en los sistemas de detección homogénea, estos métodos requieren de menos pasos que los métodos heterogéneos, y, por consiguiente, son menos susceptibles a la contaminación. Entre los kits comercialmente disponibles que utilizan la detección homogénea de marcas fluorescentes y quimiluminiscentes, están el sistema TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA), el sistema BDProbeTecET (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), el sistema QPCR 5000 (Perkin-Elmer Corp., Norwalk, CT), y el Ensayo de Protección de Hibridación (Gen-Probe, Inc., San Diego, CA).

[00159] El sistema TaqMan detecta el amplicón en tiempo real. La sonda de detección, la cual se hibrida a una región dentro del amplicón, contiene una fluoro-sonda donadora, tal como fluoresceína, en su extremo 5', y una fracción apagadora como

rodamina en su extremo 3'. Cuando tanto el apagador como el fluoróforo están sobre el mismo oligonucleótido, se inhibe la fluorescencia del donador. Durante la amplificación, la sonda se enlaza al objetivo. La polimerasa Taq es desplazada y disocia la sonda de detección a medida que sintetiza la cadena de reemplazo. La disociación de la sonda de detección da como resultado la separación del fluoróforo del apagador, conduciendo a un incremento en la señal de fluorescencia del donador. Durante cada ciclo de amplificación, se repite el proceso. La cantidad de señal fluorescente aumenta a medida que aumenta la cantidad de amplicón.

[00160] Los iluminadores moleculares también utilizan apagadores y fluoróforos. Los iluminadores son sondas que son complementarias para el amplicón objetivo, pero que contenían estiramientos cortos (de aproximadamente 5 nucleótidos) de los oligonucleótidos complementarios en cada extremo. Los extremos 5' y 3' de los iluminadores se marcan con un fluoróforo y un apagador, respectivamente. Se forma una estructura de horquilla cuando el iluminador no se hibrida a un objetivo, poniendo en contacto el fluoróforo y el apagador, y dando como resultado en el apagado fluorescente. La región de ciclo contiene la región complementaria para el amplicón. Después de la hibridación a un objetivo, se abre la estructura de horquilla, y se separan el apagador y el fluoróforo, permitiendo el desarrollo de una señal fluorescente. Un fluorímetro mide la señal en tiempo real.

[00161] El sistema BDProbeTecET utiliza un método de detección en tiempo real que combina aspectos del TaqMan y los iluminadores moleculares. La sonda tiene una estructura de ciclo de horquilla, y contiene marcas de fluoresceína y rodamina. Sin embargo, en este sistema, la región complementaria para la molécula objetivo no está dentro del ciclo, sino más bien en la

región 3' para la marca de rodamina. En lugar de contener la secuencia complementaria para el objetivo, el ciclo de una sola cadena contiene un sitio de restricción para la enzima de restricción BsoBI. La secuencia de una sola cadena no es un sustrato para la enzima. Las marcas de fluoresceína y rodamina están una cerca de la otra antes de la amplificación, lo cual apaga la fluorescencia de la fluoresceína. La amplificación con desplazamiento de cadena convierte la sonda en una molécula de doble cadena. La enzima de restricción BsoBI puede disociar la molécula, dando como resultado la separación de las marcas y un aumento en la señal fluorescente.

[00162] El Sistema QPCR 5000 emplea electroquimiluminiscencia con marcas de rutenio. Se utiliza un cebador biotinilado. Después de la amplificación, los productos de biotina son capturados sobre perlas paramagnéticas recubiertas con estreptavidina. Las perlas se transfieren a una celda de flujo electroquímico mediante aspiración, y se detienen magnéticamente en la superficie del electrodo. Después del estímulo eléctrico, la sonda marcada con rutenio emite luz.

[00163] El Ensayo de Protección de Hibridación se utiliza en los ensayos de PACE no amplificados de Gen-Probe, así como en los ensayos de *M. tuberculosis* y *C. trachomatis* amplificados. Las sondas de oligonucleótidos de detección en HPA se marcan con el éster de acridinio (AE) quimiluminiscente por medio de un brazo enlazador. La hibridación tiene lugar durante 15 minutos a 60°C en el mismo tubo en el que ocurrió la amplificación. El reactivo de selección, una solución regulada ligeramente básica agregada después de la hibridación, hidroliza el éster de acridinio sobre cualquier sonda no hibridada, haciéndola no quimiluminiscente. El éster de acridinio sobre las sondas hibridadas se dobla dentro de la ranura menor de la doble hélice, protegiéndose de esta manera

de la hidrólisis mediante el reactivo de selección. El éster de acridinio emite una señal quimiluminiscente después de la hidrólisis mediante peróxido de hidrógeno seguido por hidróxido de sodio. Un luminómetro registra la señal quimiluminiscente durante 2 segundos (un período denominado como una "luz apagada"), y reporta los fotones emitidos en términos de unidades de luz relativa (RLU).

[00164] El diseño de la sonda de detección es crítico en todas las metodologías que utilizan las sondas para detectar los productos de la amplificación. Las buenas sondas de detección se hibridan solamente a los productos de amplificación especificados, y no se hibridan a los productos no específicos. Otras cuestiones clave en la optimización de las metodologías de detección involucran el marcado de las sondas y la maximización de la producción de muestras.

[00165] Métodos de Marcado y Moléculas Reporteras. Las sondas de detección se pueden marcar de varias formas diferentes. La incorporación enzimática de ^{32}P ó ^{35}S en las sondas es el método más común para el marcado isotópico. En seguida de la hibridación y del lavado, se detecta la señal en una película auto-radiográfica.

[00166] Para llevar a cabo la detección no radioactiva, las sondas se pueden marcar enzimáticamente con una variedad de moléculas. Se puede incorporar biotina enzimáticamente, y luego se detecta con fosfatasa alcalina conjugada con estreptavidina utilizando sustratos de fosfatasa alcalina como fosfato de 5-bromo-4-cloro-3-indolilo (BCIP), y tetrazolio nitroazul (NBT). También se pueden utilizar sustratos quimiluminiscentes, tales como Lumi-Phos 530 o Lumi-Phos Plus (Lumigen, Southfield, MI) con la fosfatasa alcalina. En adición, se puede incorporar digoxigenina-11-dUTP enzimáticamente en el ADN o en el ARN, y

se pueden utilizar conjugados de fosfatasa alcalina anti-digoxigenina con detección colorimétrica o quimiluminiscente.

[00167] Existen otros numerosos tipos de moléculas reporteras, incluyendo las fracciones quimiluminiscentes como los ésteres de acridinio. También están disponibles muchas fracciones fluorescentes. También se pueden utilizar compuestos electroquimiluminiscentes, tales como tris-(2,2'-bipiridina)-rutenio(II). Se pueden encontrar discusiones adicionales de éstas y técnicas similares en Schiff y colaboradores, *Semin. Liver Dis.*, **1999**, *19:* Suplemento 1: 3-15).

Ensayo de Biodisponibilidad en Monos Cinomolgos

[00168] Dentro de 1 semana antes del inicio del estudio, al mono cinomolgo se le implanta quirúrgicamente un catéter venoso crónico y una compuerta de acceso venoso subcutáneo (VAP) para facilitar la recolección de sangre, y se somete a un examen físico, incluyendo las evaluaciones de hematología y química de suero, y se registra el peso corporal. Cada mono (seis en total) recibe cada dosis del compuesto activo en un nivel de dosis de 10 miligramos/kilogramo, en una concentración de dosis de 5 miligramos/mililitro, ya sea mediante un bolo intravenoso (3 monos, intravenosamente), o por medio de intubación oral (3 monos, oralmente). Cada jeringa de dosificación se pesa antes de la dosificación para determinar gravimétricamente la cantidad de formulación administrada. Se recolectan muestras de orina por medio de una trampa de bandeja a los intervalos designados (de aproximadamente 18 a 0 horas antes de la dosis, de 0 a 4, de 4 a 8, y de 8 a 12 horas después de la dosificación), y se procesan. También se recolectan muestras de sangre (antes de la dosis, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 6, 8, 12 y 24 horas después de la dosificación), por medio del catéter venoso crónico y la compuerta de acceso venoso, o a partir de un vaso periférico si no fuera posible el

procedimiento del catéter venoso crónico. Se analizan las muestras de sangre y orina por medio de LC/MS para la concentración máxima (C_{max}), el tiempo e que se alcanza la concentración máxima (T_{max}), el área debajo de la curva (AUC), la vida media de la concentración de la dosificación ($T_{½}$), la eliminación (CL), el volumen y la distribución en estado continuo (V_{ss}), y la biodisponibilidad (F).

Ensayo de Toxicidad de Médula Ósea

[00169] Se recolectan las células de médula ósea humana a partir de voluntarios saludables normales y se separa la población mononuclear mediante centrifugación en gradiente Ficoll-Hypaque como se describe anteriormente en Sommadossi J-P, Carlisle R. *"Toxicity of 3'-azido-3'-deoxythymidine and 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxy-methyl)guanine for normal human hematopoietic progenitor cells in vitro"* Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1987; 31: 452-454; y Sommadossi J-P, Schinazi RF, Chu CK, Xie M-Y. *"Comparison of cytotoxicity of the (-)- and (+)-enantiomer of 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine in normal human bone marrow progenitor cells"* Biochemical Farmacología 1992; 44: 1921-1925. Los ensayos de cultivo para CFU-GM y BFU-E se llevan a cabo utilizando un método de agar suave de bicapa o metil-celulosa. Se diluyen los fármacos en el medio de cultivo de tejido y se filtran. Despues de 14 a 18 días a 37°C en una atmósfera humidificada de CO_2 al 5 por ciento en aire, se cuentan las colonias de más de 50 células utilizando un microscopio invertido. Los resultados se presentan como el porcentaje de inhibición de la formación de colonias en la presencia del fármaco comparándose con los cultivos de control de solvente.

Ensayo de Citotoxicidad

[00170] Las células se siembran a una tasa de entre 5 x 10^3 y 5 x 10^4 / pozo en placas de 96 pozos en un medio de crecimiento

durante la noche a 37°C en una atmósfera de CO_2 (al 5 por ciento) humidificada. Entonces se agrega el nuevo medio de crecimiento que contenía diluciones en serie de los fármacos. Después de la incubación durante 4 días, se fijan los cultivos en TCA al 50 por ciento y se tiñen con sulfo-rodamina B. Se lee la densidad óptica a 550 nanómetros. La concentración citotóxica se expresa como la concentración requerida para reducir el número de células por el 50 por ciento (CC_{50}).

Ensayo de Protección Celular (CPA)

[00171] El ensayo se lleva a cabo esencialmente como es descrito por Baginski, S. G.; Pevear, D. C.; Seipel, M.; Sun, S. C. C.; Benetatos, C. A.; Chunduru, S. K.; Rice, C. M. y M. S. Collett *"Mechanism of action de un pestivirus antiviral compound" PNAS EUA* **2000**, 97(14), 7981-7986. Se siembran células MDBK (ATCC) en placas de cultivo de 96 pozos (4,000 células por pozo) 24 horas antes de usarse. Después de la infección con BVDV (cepa NADL, ATCC), a una multiplicidad de infección (MOI) de 0.02 unidades formadoras de placas (PFU) por célula, se agregan las diluciones en serie de los compuestos de prueba a tanto células infectadas como no infectadas, en una concentración final de sulfóxido de dimetilo al 0.5 por ciento en un medio de crecimiento. Cada dilución se prueba por cuadruplicado. Las densidades celulares y los inóculos de virus se ajustan para asegurar un crecimiento celular continuo a través del experimento, y para alcanzar una destrucción celular inducida por virus mayor del 90 por ciento en los controles sin tratar después de 4 días después de la infección. Después de cuatro días, se fijan las placas con TCA al 50 por ciento y se tiñen con sulfo-rodamina B. La densidad óptica de los pozos se lee en un lector de microplacas a 550 nanómetros. Se definen los valores de concentración efectiva del 50 por ciento (EC_{50}) como la concentración del compuesto que

logra una reducción del 50 por ciento del efecto citopático del virus.

Ensayo de Reducción de Placas

[00172] Para cada compuesto se determina la concentración efectiva en placas de 24 pozos duplicadas mediante ensayos de reducción de placas. Las monocapas de células se infectan con 100 unidades formadoras de placas / pozo de virus. Entoces se agregan a las monocapas las diluciones en serie de los compuestos de prueba en MEM complementado con suero inactivado al 2 por ciento, y el 0.75 por ciento de metil-celulosa. Los cultivos se incuban adicionalmente a 37°C durante 3 días, luego se fijan con etanol al 50 por ciento y Violeta Cristal al 0.8 por ciento, se lavan y se secan al aire. Entonces se cuentan las placas para determinar la concentración para obtener una supresión del virus del 90 por ciento.

Actividad Biológica Contra las Cepas de VIH Resistentes a Fármacos

[00173] En una realización, se mide la eficacia de un compuesto contra el VIH *in vitro*, mediante un ensayo rápido, sensible, y automatizado que involucra la reducción del bromuro de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolio (MTT). Se selecciona una línea celular transformada por VIH que es altamente permisiva y selectiva para la infección por VIN, tal como, por ejemplo, la línea celular de T-4, MT-4, como la línea celular objetivo (Koyanagi y colaboradores, *Int. J. Cancer*, **1985**, *36*: 445-451). La reducción *in situ* del bromuro de 3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-2,5-difenil-tetrazolio (MTT), como se evalúa espectrofotométricamente, es el estándar mediante el cual se mide la viabilidad de tanto las células falsamente infectadas como las células infectadas por VIH. La inhibición del efecto citopático unducido por VIH sirve como el punto final. Una concentración

citotóxica del 50 por ciento (CC_{50} en µM) se define como la concentración del compuesto que reduce la absorbencia de la muestra de control falsamente infectada por el 50 por ciento. El porcentaje de eficacia de un compuesto contra el VIH se calcula mediante la fórmula (expresada como un porcentaje):

$$(OD_{\text{VIH compuesto de prueba}}) - (OD_{\text{control}})/(OD_{\text{células falsamente infectadas}}) - (OD_{\text{control}})$$

Aquí, $(OD_{\text{VIH compuesto de prueba}})$ es la densidad óptica medida para una cantidad específica de un compuesto de prueba en las células infectadas por VIH; (OD_{control}) es la densidad óptica medida para las células de control infectadas por VIH no tratadas; y $(OD_{\text{células falsamente infectadas}})$ es la densidad óptica medida para las células falsamente infectadas de control que no están tratadas. Los valores de densidad óptica típicamente se evalúan a 540 nanómetros. La dosificación de un compuesto de prueba anti-VIH que proporciona una protección del 50 por ciento de acuerdo con la fórmula anterior, se define como la concentración inhibidora del 50 por ciento (IC_{50} en µM). El índice de selectividad (SI) se define como la proporción de la CC_{50} a la IC_{50}.

[00174] En otra realización, se utiliza el ensayo p24 ELISA para determinar la eficacia de un compuesto anti-VIH. Este inmunoensayo de réplica viral mide la cantidad del antígeno de capsida viral p24 (núcleo) presente, y está disponible comercialmente en fuentes tales como, por ejemplo, Coulter Corporation / Immunotech, Inc.® (Westbrook, MI).

[00175] Todavía otras realizaciones incluyen un ensayo de transcriptasa inversa en donde la cantidad de la réplica viral se mide utilizando un sistema de cebadores de plantilla de homopolímero de poli-rA : oligo dT que cuantifica la incorporación del monofosfato de timidina tritiado en las células mediante métodos de conteo de cintilación (Southern Research Institute,

University of Alabama, Birmingham, AL); un ensayo de inhibición sincicial que emplea células CEM-SS, HeLa-CD4, o HeLa-CD4-LTR-b-galactosidasa que tienen un punto final inmunofluorescente, quimiluminiscente, o colorimétrico; y un ensayo de inhibidión de unión y de fusión que utiliza líneas celulares indicadoras y la cuantificación mediante evaluación quimiluminiscente, colorimétrica, o microscópica (Southern Research Institute, University of Alabama, Birmingham, AL).

[00176] En una realización, los compuestos del indol de la presente invención no exhiben resistencia cruzada con otros inhibidores de transcriptasa inversa que no son nucleósidos (NNRTIs), en que los compuestos de la presente invención exhiben una EC_{50} (en concentración molar) en una cepa de VIH mutante de una concentración de menos de aproximadamente 50, 25, 10 o 1 μM. En una realización típica, los NNRTIs exhiben una EC_{50} en una cepa de VIH mutante de una concentración de menos de aproximadamente 5, 2.5, 1 o 0.1 μM. El grado de resistencia cruzada contra una cepa de VIH resistente a fármacos se mide mediante la evaluación de la EC_{50} del compuesto de oxo-pirimidina deeado en el virus mutado objetivo, es decir, resistente a fármacos.

Composiciones Farmacéuticas

[00177] Los hospederos, incluyendo los seres humanos, infectados con un virus o con cualquier otra condición descrita en la presente, se pueden tratar mediante la administración al paciente de una cantidad efectiva del compuesto activo o una sal farmacéuticamente aceptable o pro-fármaco del mismo, opcionalmente en la presencia de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos se pueden administrar a un sujeto que lo necesite, opcionalmente en combinación o alternadamente con otro agente terapéutico, y/o

con un vehículo, diluyente, o excipiente farmacéuticamente aceptable. En una realización, un sujeto infectado con VIH se puede tratar mediante la administración a ese sujeto de una cantidad efectiva de un compuesto dado a conocer en la presente, o una sal, pro-fármaco, estereoisómero, o tautómero del mismo, en la presencia de un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Para los sujetos con resistencia a múltiples fármacos, el compuesto de fosfoindol se administra ya sea solo o bien en combinación con uno o más agentes terapéuticos diferentes. Los compuestos activos se pueden administrar por cualquier vía apropiada, por ejemplo, oralmente, parenteralmente, enteralmente, intravenosamente, intradérmica-mente, subcutáneamente, percutáneamente, transdérmicamente, intranasalmente, tópicamente o mediante terapia de inhalación, y pueden estar en forma sólida, líquida, o de vapor.

[00178] Los compuestos activos, en una realización, se incluyen dentro del vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, en una cantidad suficiente para suministrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto activo con el objeto, por ejemplo, de inhibir la infección viral, sin provocar efectos tóxicos graves en un sujeto tratado. Una "cantidad inhibidora" incluye una cantidad de ingrediente activo suficiente para detener la réplica viral, medida, por ejemplo, mediante un ensayo tal como los referidos en la presente.

[00179] Una dosis típica del compuesto puede estar en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 miligramos/kilogramo, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 miligramos/kilogramo de peso corporal al día, en términos más generales, de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100 miligramos/kilogramo de peso corporal del receptor al día. Se

pueden utilizar dosificaciones más bajas, por ejemplo, dosis de aproximadamente 0.5 a 100 miligramos, de 0.5 a 10 miligramos, o de 0.5 a 5 miligramos por kilogramo de peso corporal al día. Pueden ser útiles dosis todavía más bajas, y por consiguiente, los intervalos pueden incluir de aproximadamente 0.1 a 0.5 miligramos/kilogramo de peso corporal del receptor al día. El intervalo de dosificación efectivo de los derivados farmacéuticamente aceptables se calcula basándose en el peso del compuesto derivado del indol progenitor que se vaya a suministrar. Si el compuesto derivado mismo exhibe actividad, entonces la dosificación efectiva se puede estimar como anteriormente, utilizando el peso del derivado, o por otros medios conocidos por los expertos en este campo.

[00180] Los compuestos convenientemente se administran en unidades de cualquier forma de dosificación adecuada, incluyendo, pero no limitándose a, una que contenga de aproximadamente 7 a 3,000 miligramos, de aproximadamente 70 a 1,400 miligramos, o de aproximadamente 25 a 1,000 miligramos de ingrediente activo por forma de dosificación unitaria. Por ejemplo, normalmente es conveniente una dosificación oral de aproximadamente 50 a 1,000 miligramos, incluyendo en una o múltiples formas de dosificación de 50, 100, 200, 250, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900 o 1,000 miligramos. Pueden ser preferibles dosificaciones más bajas, por ejemplo, de aproximadamente 10 a 100 o de 1 a 50 miligramos. También se contemplan dosis de 0.1 a 50 miligramos, de 0.1 a 20 miligramos, o de 0.1 a 10 miligramos. Adicionalmente, se pueden utilizar dosis más bajas en el caso de la administración por una vía no oral como, por ejemplo, mediante inyección o inhalación.

[0100] El ingrediente activo se puede administrar todo a la vez, o se puede dividir en un número de dosis más pequeñas para

administrarse en intervalos de tiempo. Se entiende que la dosificación precisa y la duración del tratamiento es una función de la enfermedad que se esté tratando, y se pueden determinar de una manera empírica empleando los protocolos de prueba conocidos, o mediante extrapolación a partir de datos de prueba *in vivo* o *in vitro*. Se debe observar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la condición que se vaya a aliviar. Se debe entender además que, para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar a través del tiempo de acuerdo con la necesidad individual y con el juicio profesional de la persona que administre o supervise la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración estipulados en la presente son solamente de ejemplo y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones proporcionadas en la presente.

[0101] En ciertas realizaciones, el compuesto o una composición proporcionada en la presente, se puede administrar como una sola dosis una vez al día, o de preferencia como dosis divididas a través de todo un día. En las realizaciones particulares, el compuesto o una composición se administra cuatro veces al día. En las realizaciones particulares, el compuesto o una composición se administra tres veces al día. En las realizaciones particulares, el compuesto o una composición se administra dos veces al día. En las realizaciones particulares, el compuesto o una composición se administra una vez al día.

[00181] En una realización, el ingrediente activo se administra para alcanzar concentraciones pico en plasma del compuesto activo de aproximadamente 0.02 a 70 μM, o de aproximadamente 0.5 a 10 μM. Por ejemplo, esto se puede lograr mediante la inyección intravenosa de una solución del 0.1 al 5 por ciento del

ingrediente activo, opcionalmente en suero, o se administra como un bolo del ingrediente activo. Se debe entender que, para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deben ajustar a través del tiempo para satisfacer las necesidades individuales, y variarán dependiendo de las tasas de absorción, inactivación, y excreción del fármaco. Las concentraciones estipuladas en la presente son solamente de ejemplo, y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada. El ingrediente activo se puede administrar todo a la vez, o se puede dividir en un número de dosis más pequeñas para administrarse en intervalos de tiempo variables.

[00182] Un modo de administración del compuesto activo es la administración oral. Las composiciones orales usualmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible. Se pueden encerrar en cápsulas de gelatina, se pueden comprimir en tabletas, o se pueden suministrar en una forma líquida. Para la administración terapéutica oral, el compuesto activo se puede incorporar con excipientes o se puede formular como dispersiones sólidas o soluciones sólidas, y se utiliza en la forma de tabletas, trociscos, o cápsulas. Una "dispersión sólida" significa un estado sólido que comprende cuando menos dos componentes, en donde un componente se dispersa más o menos uniformemente a través de todo el otro componente. "Solución sólida" significa un estado sólido que comprende cuando menos dos componentes que se integran químicamente y físicamente para producir un producto homogéneo. Una solución sólida es típica sobre una dispersión sólida, debido a que forma más fácilmente una solución líquida después de su contacto con un medio líquido apropiado, aumentando de esta manera la biodisponibilidad de un fármaco. También se pueden incluir agentes de enlace y/o materiales

adyuvantes farmacéuticamente compatibles como parte de esta composición.

[00183] Las tabletas, píldoras, cápsulas, trociscos y similares, pueden contener cualquiera de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante, tal como celulosa microcristalina, goma de tragacanto, o gelatina; un excipiente, tal como almidón o lactosa; un agente desintegrante, tal como ácido algínico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante, tal como estearato de magnesio o Sterotes; un derrapante, tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante, como sacarosa o sacarina; y un agente saborizante, tal como hierbabuena, salicilato de metilo, o saborizante de naranja. Cuando la forma unitaria de dosificación es una cápsula, puede contener un vehículo líquido, tal como un ácido graso, en adición a cualquier material de las clases dadas anteriormente. En adición, las formas unitarias de dosificación pueden contener otros diferentes materiales que modifiquen la forma física de la unidad de dosificación, tales como, por ejemplo, recubrimientos de azúcar, shellac, u otros agentes entéricos.

[00184] Los compuestos se pueden administrar como un componente de un elíxir, suspensión, jarabe, oblea, goma de mascar, o similares. Un jarabe puede contener sacarosa como un agente edulcorante, conservadores, tintes, colorantes, y saborizantes en adición a los compuestos activos.

[00185] Los compuestos activos o sus sales farmacéuticamente aceptables o pro-fármacos se pueden mezclar con otros materiales activos que no perjudiquen la acción de seada, o con materiales que complementen la acción deseada, tales como antibióticos, antifúngicos, anti-inflamatorios, inhibidores de proteasa, u otros agentes antivirales de nucleósidos y no de nucleósidos. Las soluciones o suspensiones

utilizadas para aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea, o tópica pueden incluir los siguientes componentes: un diluyente estéril, tal como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil-parabenos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilen-diamina-tetra-acético; reguladores, tales como acetatos, citratos, o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. Una preparación parenteral normalmente incluirá agua estéril, y se puede encerrar en ampolletas, jeringas desechables, o frascos de múltiples dosis hechos de vidrio o de plástico.

[00186] Si se administran intravenosamente, ciertos vehículos son suero fisiológico, suero regulado con fosfato (PBS), una solución de glucosa, o una solución mixta que comprenda glucosa y suero. En una realización, el compuesto activo se prepara con un vehículo que proteja al compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo un implante y/o un sistema de suministro microencapsulado. Se pueden utilizar polímeros biocompatibles biodegradables, tales como etileno/ acetato de vinilo, polianhídridos, poli-ácido glicólico, colágeno, poli-orto-ésteres, y poli-ácido láctico. Los materiales se pueden obtener comercialmente en Alza Corporation, o se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en la materia. Si la administración es percutánea, tal como, por ejemplo, a través del uso de un parche o ungüento, el vehículo asociado puede comprender un agente mejorador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, que no sea dañino para la piel. Si la vía de administración deseada es la inhalación o insuflación, entonces la

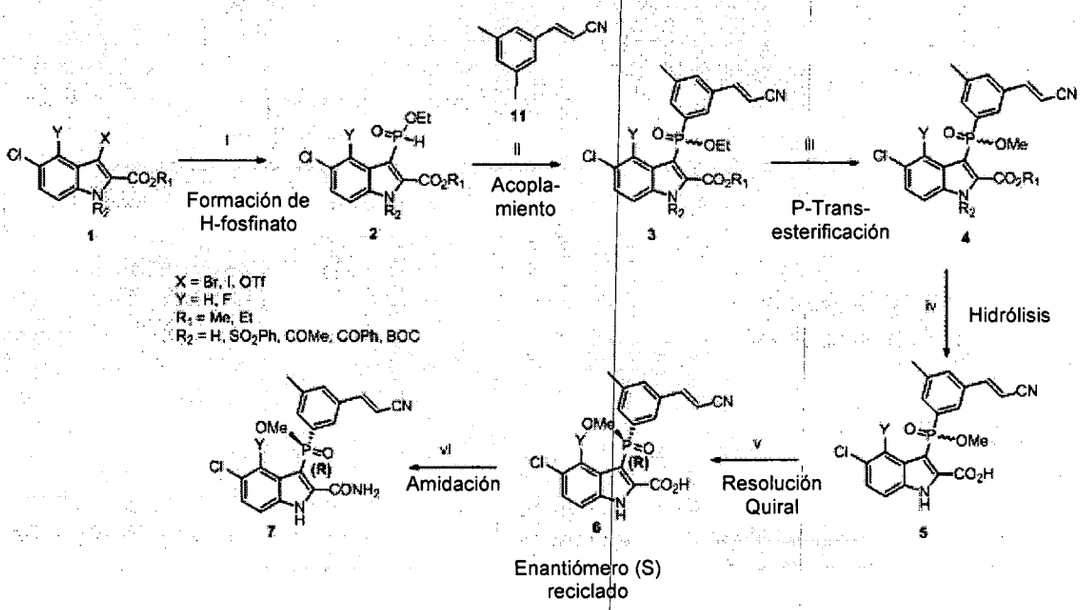
composición de la presente invención incluye al compuesto en la forma de una solución, suspensión, o de un polvo seco, que se puede suministrar a través de los orificios orales y/o nasales.

[00187] Las suspensiones liposomales, las cuales incluyen liposomas dirigidos hacia las células infectadas con anticuerpos monoclonales para los antígenos virales, también son típicas como los vehículos farmacéuticamente aceptables. Éstas se pueden preparar de acuerdo con los métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, como se describe en La Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 4,522,811, la cual se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. Por ejemplo, las formulaciones liposomales se pueden preparar mediante la disolución de los lípidos apropiados, tales como stearoil-fosfatidil-etanolamina, stearoil-fosfatidil-colina, araquidoil-fosfatidil-colina, y colesterol, en un solvente inorgánico que se evapora posteriormente, dejando atrás una película delgada de lípido seco sobre la superficie del recipiente. Entonces se introduce en el recipiente una solución acuosa del compuesto activo, o una sal o pro-fármaco del mismo. El recipiente se rota para liberar el material de lípido de sus lados, y para dispersar los agregados de lípido, formando de esta manera la suspensión liposomal.

Procesos para la Preparación de los Compuestos Activos

[00188] En el Esquema **1** se proporciona un esquema general de ejemplo para la síntesis de los fosfoindoles.

Esquema General para la Síntesis de los Fosfoindoles

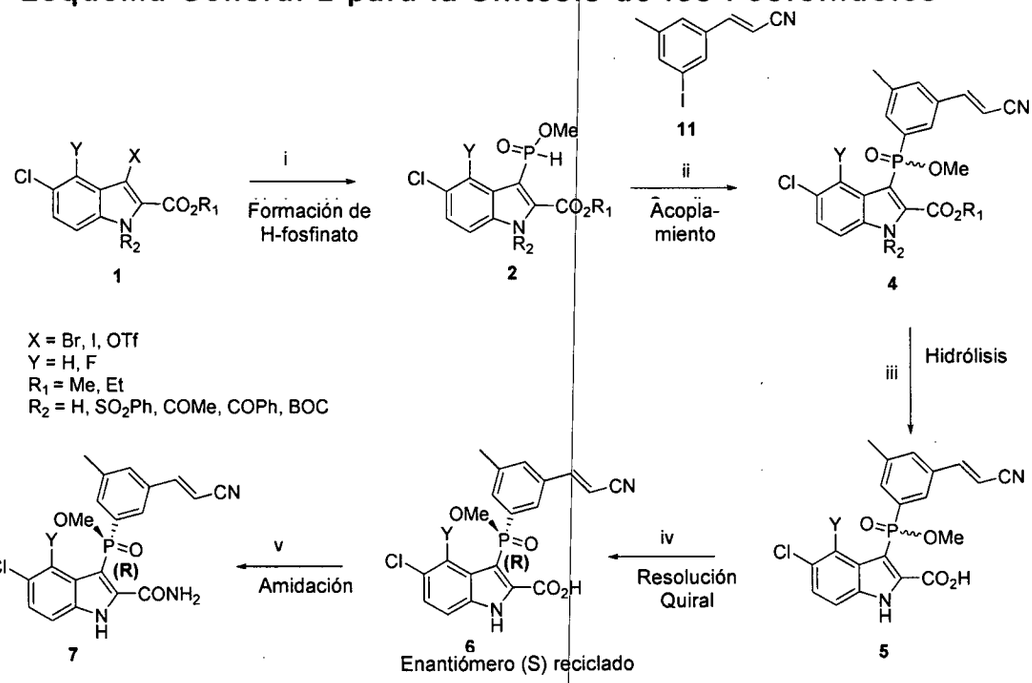


Esquema 1

[00189] La síntesis involucra el tratamiento del indol N-protegido 1 con una especie litiante adecuada, por ejemplo n-butil-litio, seguido por un electrófilo de fósforo apropiado, por ejemplo cloro-fosfito de dietilo, para dar un intermediario de P(III), el cual se hidroliza parcialmente bajo condiciones ácidas, para proporcionar el H-fosfinato **2**. El Paso ii consiste en una reacción de acoplamiento catalizada por paladio entre el H-fosfinato de indol **2** y el yodo-cinamo-nitrilo **11**. La transesterificación desde etilo hasta metilo, seguida por la hidrólisis de tanto el éster de carboxilato como de los grupos protectores de nitrógeno, por ejemplo, con hidróxido de litio o terbutóxido de potasio a 5°C en agua-tetrahidrofurano, da acceso al ácido del indol **5**. La resolución quiral de los enantiómeros del **5**, utilizando una base quiral, seguida por la formación de amida, proporciona el compuesto final **7**.

[00190] En el Esquema **2** se proporciona un segundo esquema general de ejemplo para la síntesis de los fosfoindoles.

Esquema General 2 para la Síntesis de los Fosfoindoles

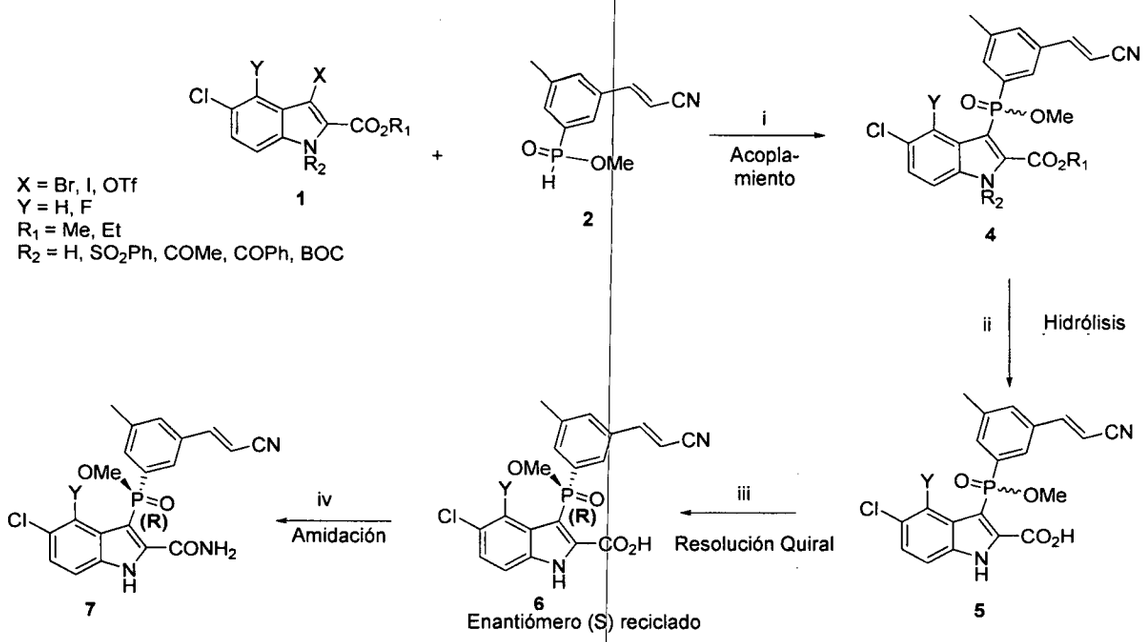


Esquema 2

[00191] Esta síntesis involucra el tratamiento del indol N-protegido 1 con fosfinato de metilo bajo condiciones suaves de catalización con paladio para proporcionar el H-fosfinato de indol **2**. El Paso ii consiste en una reacción de acoplamiento catalizada por paladio entre el H-fosfinato de indol **2** y el yodo-cinamo-nitrilo **11**. La hidrólisis de tanto el éster de carboxilato como de los grupos protectores de nitrógeno, con, por ejemplo hidróxido de litio o terbutóxido de potasio a 5°C en agua-tetrahidrofurano, da acceso al ácido del indol **5**. La resolución quiral de los enantiómeros del **5**, utilizando una base quiral, seguida por la formación de amida, proporciona el compuesto final **7**.

[00192] En el Esquema **3** se muestra una ruta alternativa de ejemplo para la síntesis de los fosfoindoles.

Ruta Alternativa para la Síntesis de los Fosfoindoles

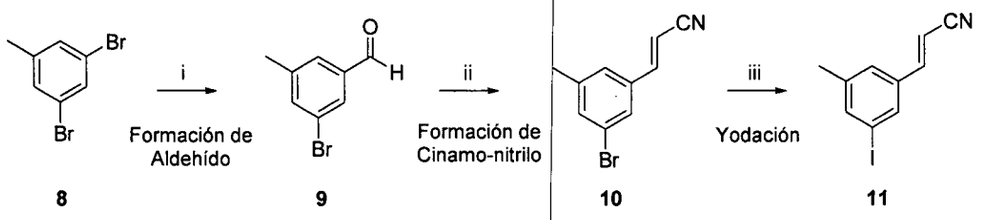


Esquema 3

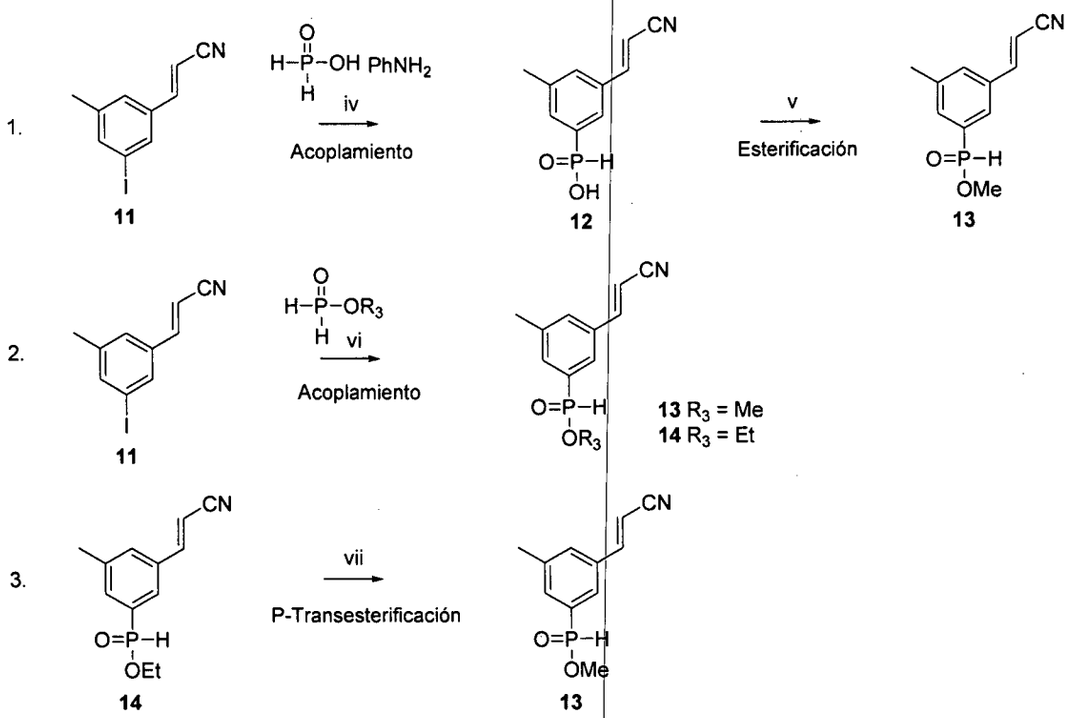
[00193] Una síntesis alternativa involucra el acoplamiento del indol N-protegido 1 con el H-fosfinato de arilo **13** utilizando catalizador de paladio, ligando, base, en un solvente apropiado, a una temperatura moderada, para dar el fosfoindol **4**. La formación del H-fosfinato de arilo **13** se describe en el Esquema **4**. La hidrólisis de tanto el éster de carboxilato como de los grupos protectores de nitrógeno, con, por ejemplo hidróxido de litio o terbutóxido de potasio a 5°C en agua-tetrahidrofurano, da acceso al ácido del indol **5**. La resolución quiral de los enantiómeros del **5**, utilizando una base quiral, seguida por la formación de amida, proporciona el compuesto final **7**.

[00194] En el Esquema **4** se muestran síntesis de ejemplo de yodo-cinamo-nitrilo y H-fosfinato de cinamo-nitrilo.

Síntesis de yodo-cinamo-nitrilo a partir de dibromo-tolueno



Syntheses of cinnamonitrile H-phosphinate from iodocinnamonitrile



Esquema 4

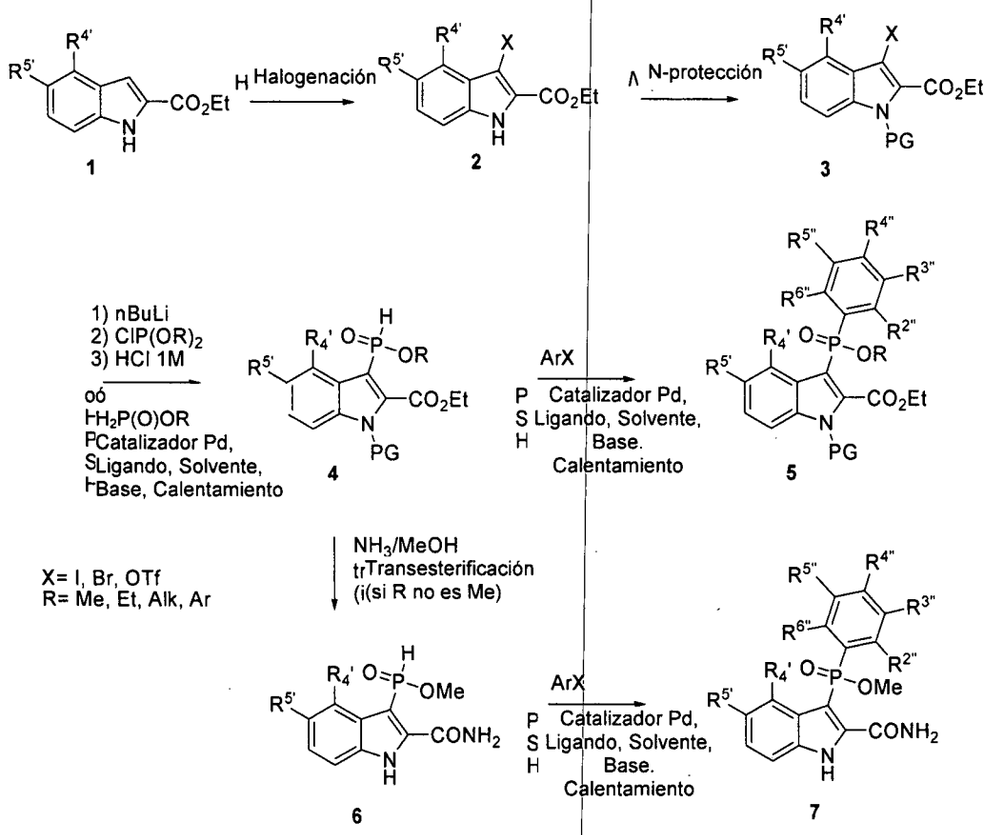
[00195] El yodo-cinamo-nitrilo **11** se puede preparar a partir del dibromo-tolueno **8**. La formación del mono-aldehído **9** se logra mediante mono-litiación, por ejemplo con n-butil-litio y cloruro de n-butil-magnesio, y el subsiguiente tratamiento con *N*,*N*-dimetil-formamida. Una reacción de Wittig-Horner-Emmons sobre aldehído **9** utilizando, por ejemplo, ciano-metil-fosfonato de dietilo e hidruro de sodio, procede para dar primordialmente el isómero-trans, el cual se puede enriquecer adicionalmente mediante cristalización para dar el bromo-cinamo-nitrilo **10**. Entonces se lleva a cabo la yodación para proporcionar el intermediario deseado **11**.

[00196] Opcionalmente, el yodo-cinamo-nitrilo **11** se puede convertir en el H-fosfinato de arilo **13** mediante cualquiera de: 1. acoplamiento con la sal de ácido hipofosforoso de anilinio,

seguido por esterificación, o por 2. un acoplamiento de paladio directo con fosfinato de alquilo. Adicionalmente, el H-fosfinato de etil-arilo **14** se puede transesterificar para dar el H-fosfinato de metilo **13**.

[00197] Los 3-fosfoindoles se pueden preparar de acuerdo con las técnicas conocidas por los expertos en este campo, incluyendo las técnicas descritas en la Publicación de Solicitud de Patente de los Estados Unidos de Norteamérica Número 2006/0074054, el contenido de la cual se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

[00198] Otra síntesis general para la preparación del fosfinato de indol se proporciona mediante el esquema que se encuentra más adelante. La síntesis empieza a partir del indol **1**, el cual es 3-halogenado y N-protegido (o N-protegido y 3-halogenado), para dar el indol protegido **3**. Los grupos protectores ("PG") pueden ser fenil-sulfonilo, carbamato de terbutilo (Boc), carbamato de bencilo (Cbz), benzoílo, bencilo, parametoxi-bencilo o otro bencilo sustituido, terbutil-dimetil-sililo, terbutil-difenil-sililo, o cualquier protección del indol N-1. El último **3** está ya sea involucrado en un intercambio de metal de halógeno, por ejemplo con n-butil-litio, y entonces reacciona con un cloro-fosfito de dietilo para proporcionar, después de la hidrólisis ácida, el H-fosfinato **4**, o está involucrado en una reacción catalizada por paladio con éster hipofosforoso, para proporcionar el mismo producto **4**. El H-fosfinato de indol **4** se involucra entonces en otra reacción catalizada por paladio con un haluro de arilo, para dar el 3-fosfinato de indol **5**. En el caso de que R sea diferente de un grupo metilo, una trans-esterificación del **4** en amoníaco en metanol da la indol-carboxamida de H-fosfinato **6**. Este compuesto también está involucrado en una reacción catalizada por paladio con un haluro de arilo, para proporcionar el compuesto final **7**.

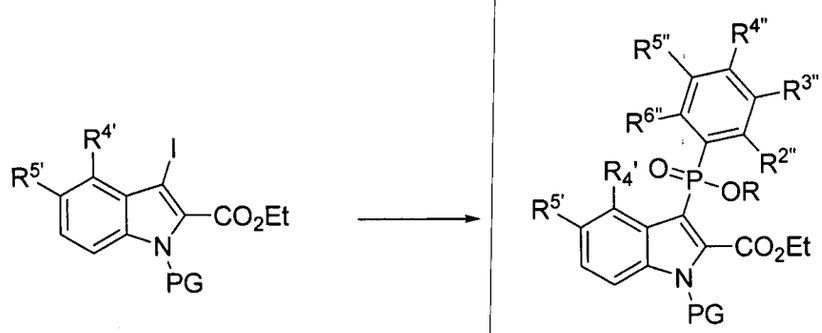


Esquema 5

[00199] Los catalizadores de paladio adecuados para la reacción de acoplamiento cruzado incluyen, por ejemplo: tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio, acetato de paladio, propionato de paladio, diacetonitrilo-dicloruro de paladio, tris-(dibenciliden-acetona)-dipaladio (Pd_2dba_3), carbeno N-heterocíclico de paladio (NHC), o cualquier otro catalizador de paladio que sea conocido por los expertos en este campo, utilizado solo o en asociación con ligandos, tales como ligandos de trifenil-fosfina, difenil-fosfino-ferroceno, difenil-fosfino-propano, o aril-fosfina o difosfina, que son conocidos por los expertos en este campo. Los solventes adecuados para la reacción de acoplamiento cruzado catalizada por paladio incluyen, por ejemplo: N,N-dimetil-formamida, acetonitrilo, NMP, dioxano, metanol, tetrahidrofurano, tolueno. Las bases adecuadas para la reacción de acoplamiento cruzado catalizada por paladio incluyen, por ejemplo: Et_3N, di-isopropil-amina, K_2CO_3, Na_2CO_3, $NaHCO_3$, Cs_2CO_3, N-metil-morfolina,

DABCO, DBU.

[00200] En las realizaciones adicionales, los 3-fosfoindoles se pueden preparar mediante la reacción de un H-aril-fosfinato con un 3-yodo-indol como se ilustra en el esquema que se encuentra más adelante. El 3-yodo-indol se puede preparar mediante la yodación de un indol utilizando reactivos de yodación conocidos por los expertos en este campo. Opcionalmente, el átomo de nitrógeno del 3-yodo-indol se puede proteger con cualquier grupo protector que sea considerado adecuado por los expertos en la materia. La reacción con un H-aril-fosfinato proporciona el compuesto de 3-fosfoindol. En el esquema, PG indica el grupo protector. El grupo protector se puede remover de acuerdo con cualquier técnica conocida por los expertos en este campo.



Esquema 6

Preparación de los 3-Fosfoindoles Enantioméricamente Puros

[00201] La preparación de los 3-fosfoindoles sustancialmente en la forma de un enantiómero se puede lograr mediante la resolución de las mezclas racémicas de los 3-fosfoindoles preparados mediante cualquier método adecuado o mediante síntesis quiral a partir de materiales de partida, reactivos o catalizadores quirales. Los compuestos se pueden preparar mediante una de las técnicas descritas en la presente o mediante una combinación de técnicas, en donde sea necesario. Por ejemplo, la síntesis quiral se puede combinar con resolución

química para preparar un enantiómero de un 3-fosfoindol en la pureza química y estereoisomérica deseada. En adición, los estereoisómeros de los 3-fosfoindoles se pueden separar mediante cromatografía utilizando fase sólida quiral. También se prevé la separación cromatográfica de los derivados diaestereoméricos de los estereoisómeros de los 3-fosfoindoles.

[00202] Para resolver una mezcla de compuestos quirales, se puede emplear cualquier método que sea considerado adecuado por los expertos en este campo, por ejemplo, la formación de las sales diaestereoméricas iónicas (o los complejos de coordinación) con compuestos quirales, y la separación mediante cristalización fraccionaria u otros métodos, la formación de los compuestos diaestereoméricos con reactivos de derivación quirales, la separación de los diaestereómeros, y la conversión hasta los enantiómeros puros, la separación de los enantiómeros directamente bajo condiciones quirales sobre una variedad de matrices, incluyendo cromatografía súper-crítica e hidrólisis enzimática. Véase, por ejemplo, Eliel & Wilen, 1994, *Stereochemistry of Organic Compounds*, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1994); Lochmuller, 1975, *J. Chromatogr.*, 113: (3) 283-302.

[00203] Por ejemplo, las sales diaestereoméricas se pueden formar mediante la reacción de las bases quirales enantioméricamente puras, tales como, por ejemplo, cinconidina, brucina, quinina, efedrina, α-metil-ß-fenil-etil-amina (anfetamina), y similares, con los compuestos proporcionados en la presente. En ciertas realizaciones, una sal diaestereomérica se forma mediante la reacción con un alcaloide, tal como cinconidina. Se puede inducir a las sales diaestereoméricas a separarse, por ejemplo, mediante cristalización fraccionaria o cromatografía iónica. De una manera alternativa, una mezcla de compuestos quirales que se

vaya a resolver, se puede hacer reaccionar con un enantiómero de un compuesto quiral, para formar un par diaestereomérico. Por ejemplo, los compuestos diaestereoméricos se pueden formar mediante la reacción de los compuestos de la invención con reactivos de derivación quirales enantioméricamente puros, tales como, por ejemplo, derivados de mentilo, seguida por la separación de los diaestereómeros e hidrólisis para proporcionar el compuesto enantioméricamente enriquecido libre. De una manera alternativa, una mezcla de compuestos quirales se puede separar mediante cromatografía utilizando una fase estacionaria quiral, véase, por ejemplo, *Chiral Liquid Chromatography,* W. J. Lough, Ed. Chapman and Hall, Nueva York, (1989); Okamoto, 1990, *J. Chromatogr.* 513: 375-378.

[00204] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para la producción de un compuesto de la invención, mediante la reacción de una mezcla racémica con un reactivo quiral, seguida por la recuperación del producto resultante y la conversión hasta el compuesto de la invención. En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para la preparación de un compuesto de cualquiera de las fórmulas A a D, los cuales comprenden los pasos de hacer reaccionar una forma racémica del compuesto con un reactivo quiral tal como cinconidina, la recuperación del producto de reacción, y la conversión hasta el compuesto de cualquiera de las fórmulas A a D. En las realizaciones particulares, en la presente se proporcionan métodos para la producción del compuesto I, los cuales comprenden el paso de poner en contacto la forma racémica del derivado de 2-carboxilo del compuesto I con (-)-cinconidina, la recuperación del producto de reacción, y la conversión hasta el compuesto I con, por ejemplo, ácido, seguida por la formación de amida. En las realizaciones particulares, en la

presente se proporcionan métodos para la producción del compuesto II los cuales comprenden el paso de poner en contacto la forma racémica del derivado de 2-carboxilo del compuesto II con (+)-cinconina, la recuperación del producto de reacción, y la conversión hasta el compuesto II con, por ejemplo, ácido, seguida por la formación de amida. En las realizaciones particulares, en la presente se proporcionan métodos para la producción del compuesto III, los cuales comprenden el paso de poner en contacto la forma racémica del derivado de 2-carboxilo del compuesto III con (-)-cinconidina, la recuperación del producto de reacción, y la conversión hasta el compuesto III con, por ejemplo, ácido, seguida por la formación de amida. En las realizaciones particulares, en la presente se proporcionan métodos para la producción del compuesto IV los cuales comprenden el paso de poner en contacto la forma racémica del derivado de 2-carboxilo del compuesto IV con (+)-cinconina, la recuperación del producto de reacción, y la conversión hasta el compuesto IV con, por ejemplo, ácido, seguida por la formación de amida. En las realizaciones adicionales, en la presente se proporcionan métodos alternativos con otros reactivos quirales, tales como efedrina y hemihidrato de efedrina.

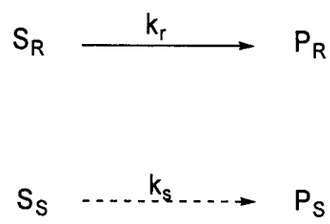
[00205] En ciertas realizaciones, en la presente se proporcionan métodos para la producción de un compuesto proporcionado en la presente mediante el reciclo de su enantiómero opuesto. En estas realizaciones, una mezcla racémica se resuelve de acuerdo con una técnica descrita en la presente. En adición a obtener el enantiómero deseado, el enantiómero opuesto se puede reciclar para aumentar el rendimiento del enantiómero deseado. Por ejemplo, un compuesto de la fórmula B se puede reciclar para proporcionar un compuesto de la fórmula A, y *viceversa*. Un compuesto de la fórmula D se

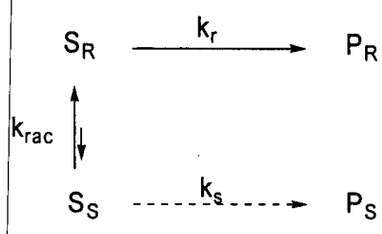
puede reciclar para proporcionar un compuesto de la fórmula C, y *viceversa*. En una reacción de reciclo, un compuesto se pone en contacto con un reactivo capaz de racemizar el compuesto. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un compuesto de fosfoindol proporcionado en la presente se pone en contacto con un reactivo de racemización capaz de reaccionar con su grupo fosfo. En ciertas realizaciones, el reactivo de racemización es, por ejemplo, un ácido, una base, o un reactivo de halogenación. En ciertas realizaciones, el reactivo de racemización es, por ejemplo, cloruro de oxalilo. Después del contacto con el reactivo de racemización, los enantiómeros se pueden resolver de acuerdo con cualquier técnica descrita en la presente. En las realizaciones particulares, el compuesto II se puede reciclar para proporcionar el compuesto I. En las realizaciones particulares, el compuesto IV se puede reciclar para proporcionar el compuesto III. Más adelante se proporcionan métodos de ejemplo.

[00206] Los métodos que se encuentran más adelante describen la síntesis de los 3-fosfoindoles enantioméricamente puros de las fórmulas A a D o los Compuestos I a IV como los ejemplos no limitantes de estas técnicas.

1. Resolución Cinética Dinámica (DKR)

[00207] En una resolución cinética, empezando a partir de una mezcla racémica S (S_R and S_S), un enantiómero reaccionará preferencialmente para dar el producto P_R con un rendimiento máximo teórico del 50 por ciento. Si la racemización puede presentarse de una manera concurrente con la resolución cinética, entonces teóricamente el 100 por ciento de la mezcla racémica se puede convertir hasta un enantiómero (Esquema 7). Este proceso se conoce como resolución cinética dinámica (DKR).





$k_r >> k_s$ máximo rendimiento

P_R = 50%

Se requiere separación de P_R y S_S

Resolución cinética estándar

$k_{rac} > k_r >> k_s$

Máximo rendimiento teórico

100% en P_R

Resolución cinética dinámica

Esquema 7: (S = sustrato, P = producto)

[00208] Los problemas asociados con la resolución cinética estándar son que solamente es posible un rendimiento máximo teórico del 50 por ciento, y es necesaria la separación del producto deseado a partir de una cantidad sustancial del sustrato no convertido. Para una resolución cinética dinámica eficiente, existen algunos requerimientos específicos (Strauss, U. T.; Felfer, U.; Faber, K. *Tetrahedron: Asymmetry* **1999**, *10*, 107):

1. La resolución cinética debe ser irreversible con el objeto de asegurar una alta enantioselectividad.

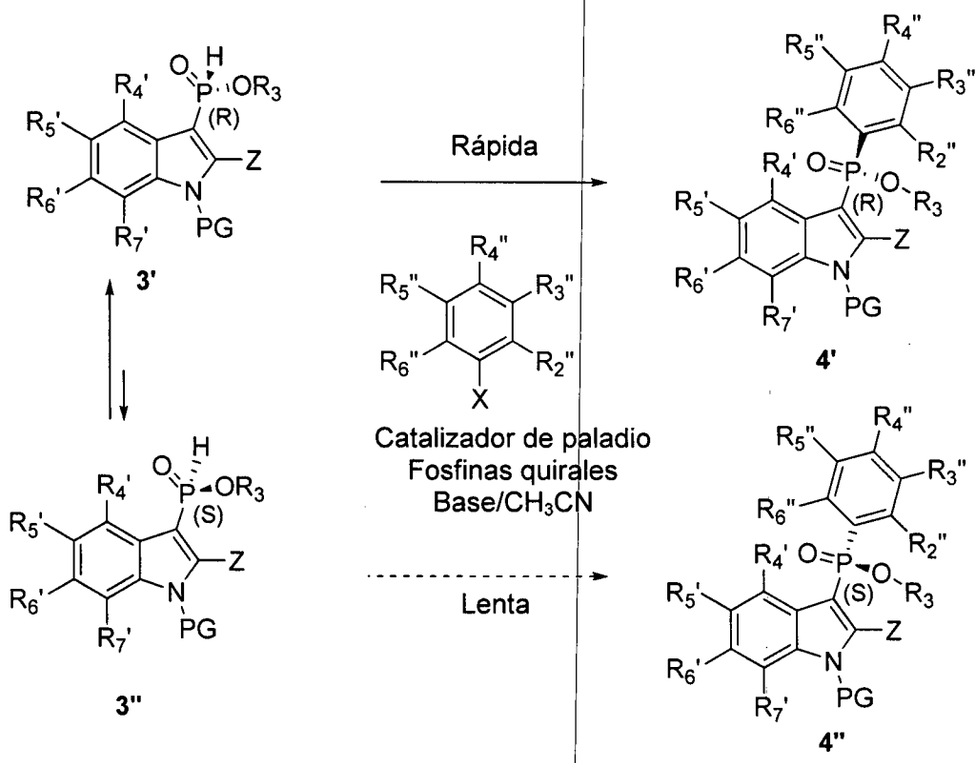
2. La proporción enantiomérica ($E = k_R/k_S$) debe ser cuando menos mayor de aproximadamente 20.

3. Para evitar el agotamiento de S_R, el índice de racemización (k_{rac}) debe ser cuando menos igual o mayor al índice de reacción del enantiómero rápido (k_R).

4. En el caso en donde las selectividades son solamente moderadas, k_{rac} debe ser mayor que k_R por un factor de aproximadamente 10.

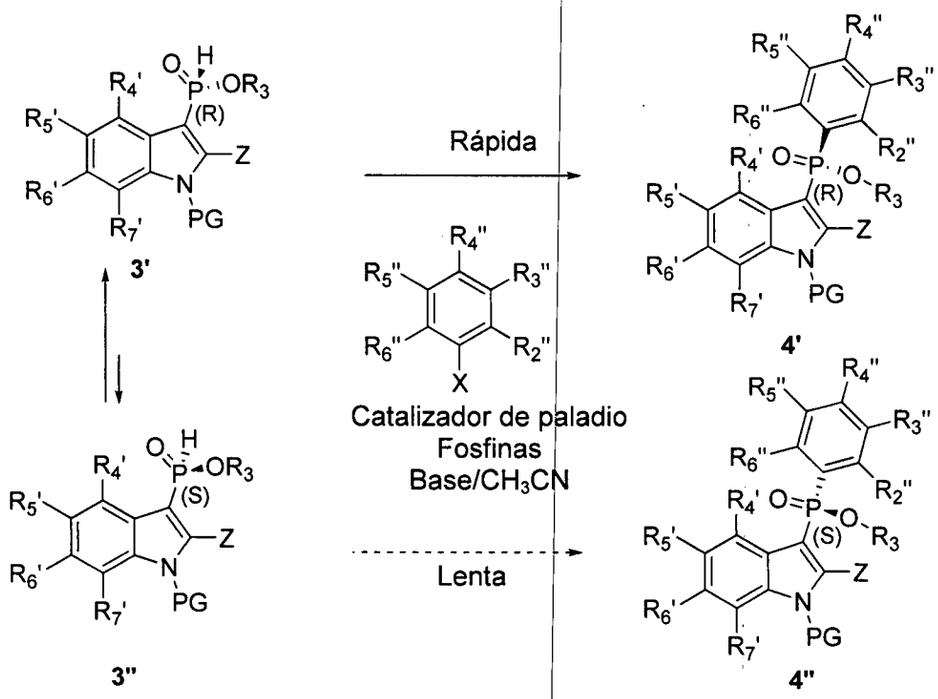
5. Debe estar ausente cualquier reacción espontánea que

involucre a los enantiómeros de sustrato, así como la racemización del producto.



Esquema 8

[00209] En una realización, en la síntesis de los 3-fosfoindoles enantioméricamente puros, la discriminación quiral entre los enantiómeros con el objeto de reaccionar con el haluro de arilo se realiza con una fosfina quiral, el cual es un componente del catalizador de paladio, y producirá preferencialmente el compuesto **4' (Esquema 8)**. Esta reacción de acoplamiento de paladio es una variación de las reacciones de acoplamiento de paladio descritas en los esquemas anteriores para la preparación de las mezclas racémicas de los 3-fosfoindoles. Los ligandos de fosfina quirales pueden ser cualquier ligando adecuado que produzca la selectividad y el índice de reacción requeridos en la transformación del 3-fosfoindol **3'** hasta el 3-fosfoindol sustituido **4'**. Los ligandos de fosfina quirales pueden ser ligandos monodentados o bidentados. Los ejemplos no limitantes de los ligandos de fosfina quirales incluyen las P-ferrocenil-fosfinas quirales, (R)-(+)-BINAP, (S)-(-)-BINAP, (R,R)-CHIRAPHOS, y (S,S)-CHIRAPHOS.



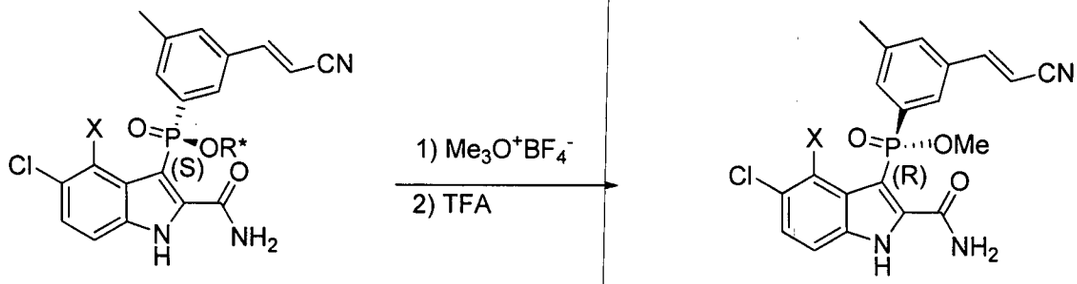
En donde la quiralidad es inducida por grupos quirales: R_3, Z, o PG, o usando fosfinas quirales.

Esquema 9

[00210] En otra realización, la discriminación quiral se puede introducir adjuntando un grupo quiral a la mezcla racémica de los 3-fosfoindoles, produciendo una mezcla de diaestereómeros, la cual reaccionará a diferentes índices con el sistema catalizador de paladio no quiral (**Esquema 9**). El segundo centro quiral se puede agregar como un componente del sustituyente R_3, el grupo Z, o el grupo protector PG. El grupo quiral no está limitado, y se puede utilizar cualquier grupo que induzca la selectividad deseada en la reacción a un índice razonable. Un ejemplo no limitante de un grupo quiral que se puede utilizar como R_3 en esta reacción incluye un alcohol quiral, por ejemplo (+) o (-)-mentol. Otros ejemplos no limitantes de los grupos que se pueden utilizar como el grupo Z o PG en el Esquema **9**, incluyen un éster quiral o una

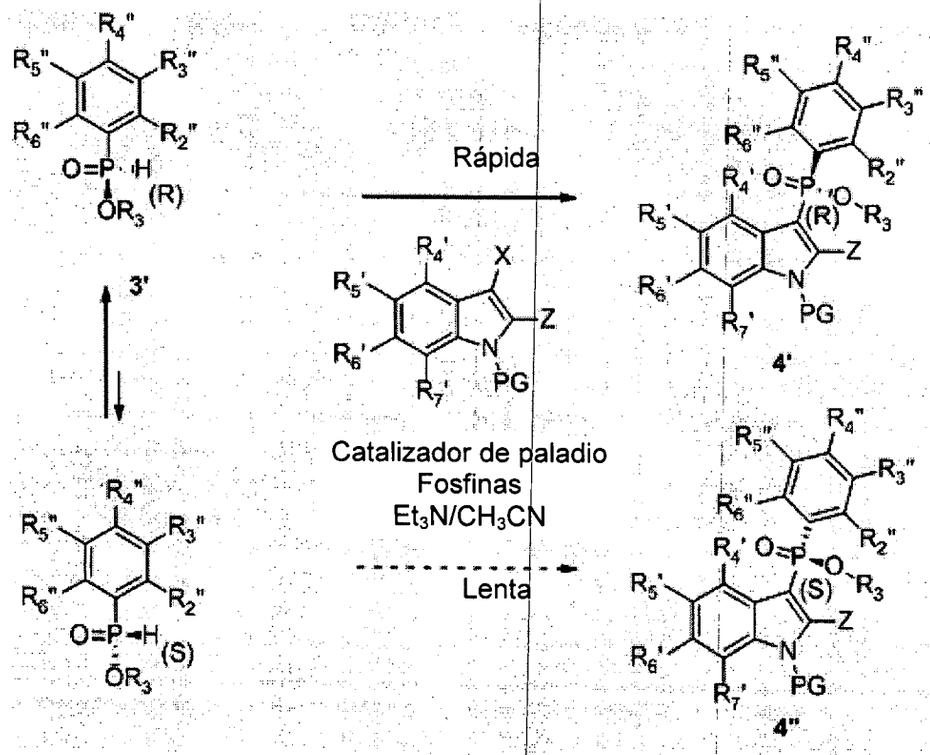
sulfona quiral.

[00211] Cuando R_3 es (R*) quiral, para la transformación en el 3-fosfoindol objetivo, la fracción quiral R* se puede remover utilizando las condiciones descritas en *JOC* **1975**, 1523-1525 utilizando una sal de trialquil-oxonio, seguidas por disociación ácida, con inversión de la configuración (**Esquema 10**):



Esquema 10

[00212] También se puede emplear el mismo proceso de resolución cinética dinámica con un H-fosfinato de arilo racémico y un bromo-indol en una reacción de acoplamiento cruzado (**Esquema 11**):

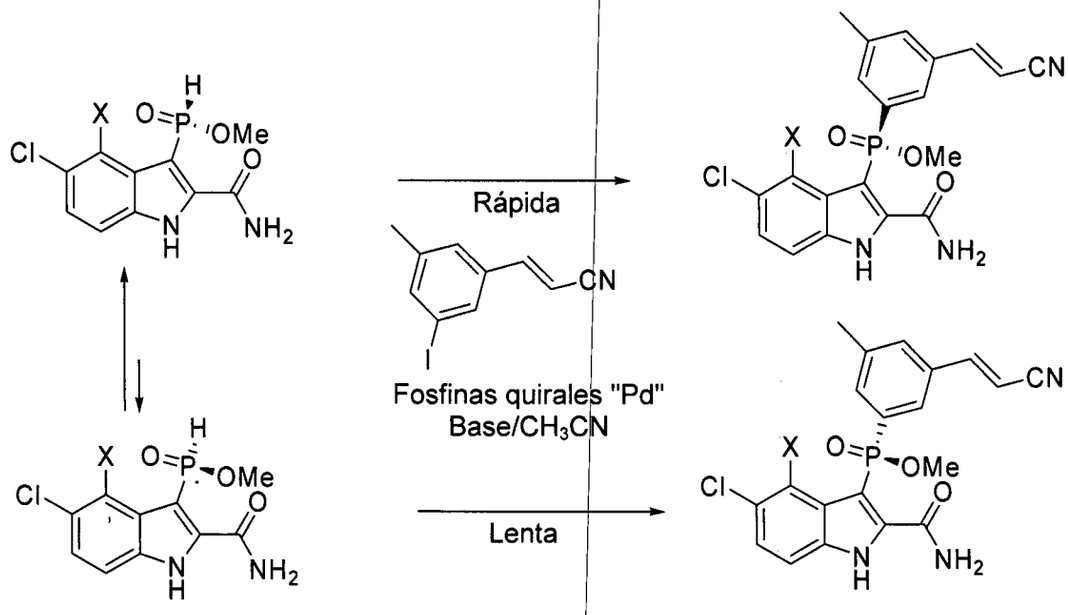


En donde la quiralidad es inducida por grupos quirales: R_3, Z, PG, o utilizando fosfinas quirales.

Esquema 11

Esquema de Resolución Cinética Dinámica Específica

[00213] En el siguiente ejemplo no limitante de un proceso de resolución cinética dinámica ilustrado en el Esquema **12**, el catalizador de Pd es acetato de paladio, la fosfina quiral es (R)-1-[(S)-2-di-2-furil-fosfino)-ferrocenil]-etil-di-(2-metil-fenil)-fosfina, la base es di-isopril-etil-amina, y el solvente es acetonitrilo. Después de calentar a 100°C se obtiene el compuesto mayor con un exceso enantiomérico del 40 por ciento.



X=F, H

Esquema 12

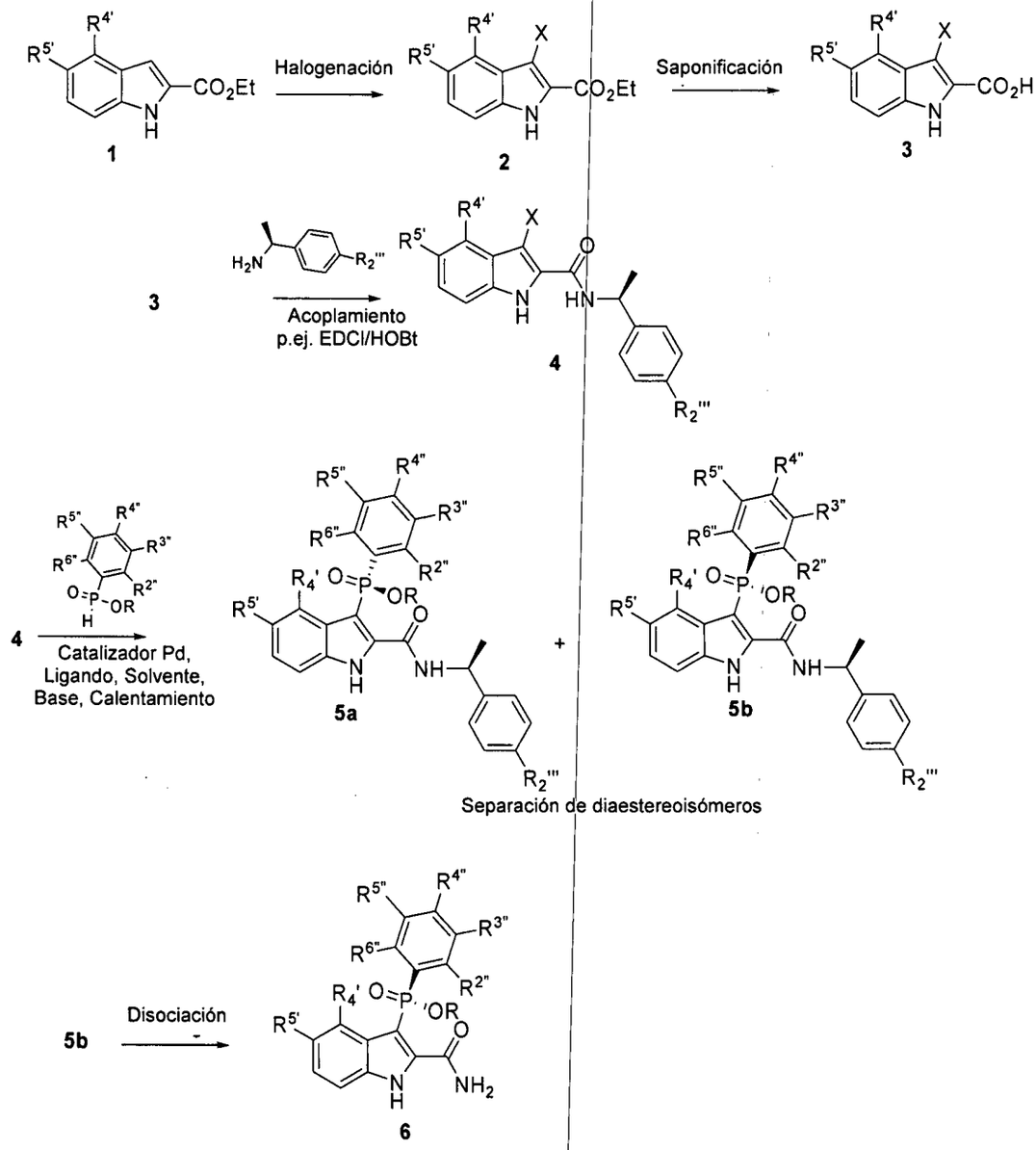
2. Resolución Química de los 3-Fosfoindoles

[00214] La resolución de los ácidos libres de los 3-fosfoindoles se puede llevar a cabo mediante resolución química utilizando una base quiral. Una base quiral exhibirá selectividad hacia el ácido libre de uno de los dos enantiómeros de los 3-

fosfoindoles, proporcionando de esta manera los medios para resolver los enantiómeros. Como se describe en el Ejemplo más adelante, la resolución química del derivado de 2-carboxilo de los 3-fosfoindoles de la fórmula I/II se puede llevar a cabo sobre el **1** utilizando la (-)-Cinconidina **2** (**Esquema 13**, para obtener el enantiómero requerido, primero eluyendo el isómero mediante análisis quiral de HPLC), y la (+)-Cinconina **3** (la cual se puede utilizar para remover el enantiómero indeseado del filtrado, y segundo, eluyendo el isómero mediante análisis quiral de HPLC). El enantiómero indeseado se puede racemizar para obtener más material.

[00215] También se podría aplicar una estrategia utilizando la bencil-amina sustituida por alfa-metilo quiral, como se ilustra en el esquema que se encuentra más adelante. El indol **1** se halogena en la posición 3, y luego se hidroliza la función de éster para dar el indol **3**. Entonces se introduce una bencil-amina sustituida por alfa-metilo (o insustituida) quiral (en donde la quiralidad se define como S o R) en la función carboxílica del indol **3** por medio de una reacción de acoplamiento "tipo peptídica". De una manera alternativa, el **4** se podría preparar por medio de la formación del cloruro del ácido mediante el tratamiento del ácido **3** con un reactivo clorado, y entonces la adición de la bencil-amina sustituida por alfa-metilo (o insustituida) quiral. El intermediario **4** se involucra entonces en una reacción catalizada por paladio, para proporcionar una mezcla de diaestereoisómeros **5a** y **5b**. La mezcla de **5a** y **5b** se podría separar ya sea mediante gel de sílice o recristalización. El **5b** (quiralidad *R* sobre fósforo) se involucra entonces en una reacción de disociación, para remover la fracción quiral en la posición 2 y proporcionar el enantiómero-(*R*) puro **6**. El **5a** se podría reciclar mediante su transformación en un ácido fosfínico mediante disociación (por ejemplo, con TMSBr), y

entonces se vuelve a esterificar para proporcionar una mezcla de **5a** y **5b**, y entonces se pueden volver a separar los diaestereoisómeros.



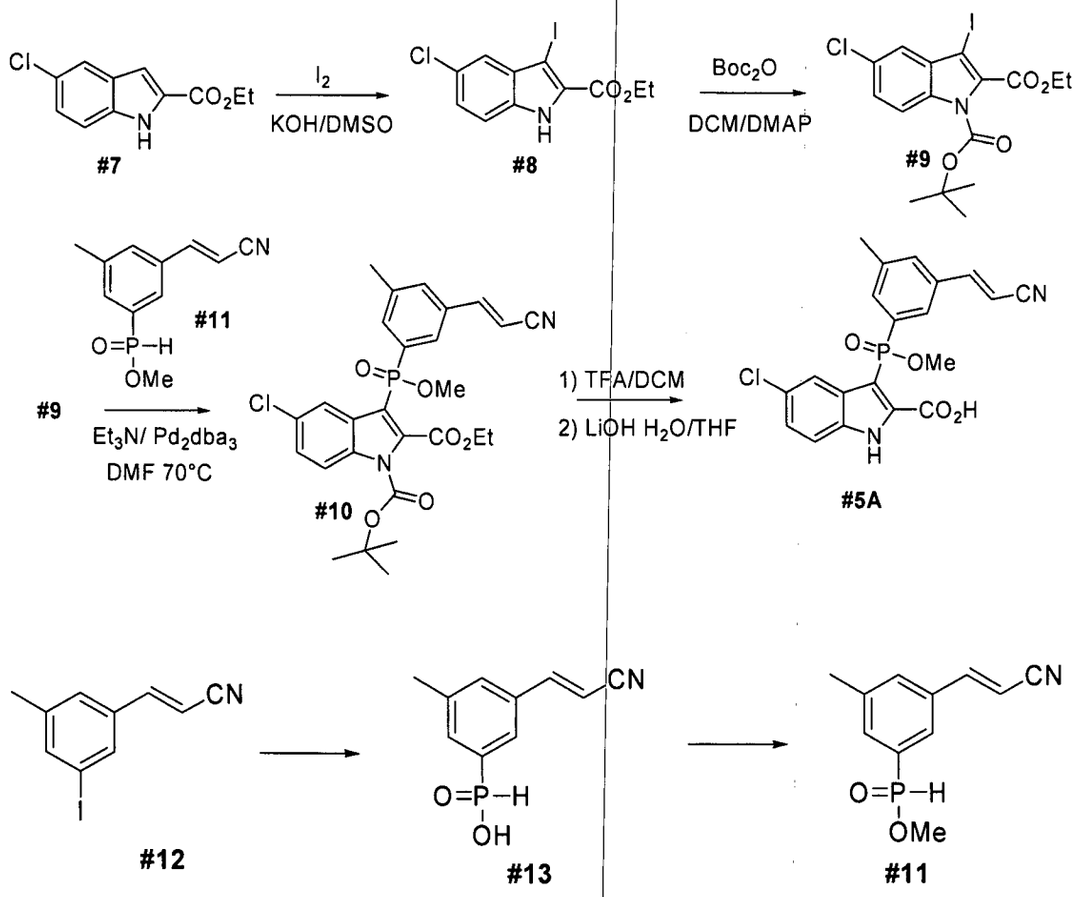
Esquema 13

Ejemplos

Ejemplo 1

[00216] El presente ejemplo describe la preparación del compuesto III y el compuesto I.

Compuesto III



Reacción 7 a 8:

[00217] A un matraz se le agregó, bajo argón, el indol **7** (1 equivalente), y se le agregaron Yodo (1.98 equivalentes), hidróxido de potasio sólido (1 equivalente), y dimetil-formamida anhidra (4.5 mililitros / milimol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas, entonces se le agregó agua, y la pasta acuosa se filtró a través de un filtro de papel, el sólido se secó bajo presión reducida, y se trituró / filtró en agua varias veces, para proporcionar, después de secarse bajo presión reducida, el 3-yodo-indol **8**. **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 400 MHz) δ 1.45 (t, 3H), 4.50 (q, 2H), 7.20-7.40 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 9.40 (br s, 1H).

Reacción 8 a 9:

[00218] A una solución agitada del indol **8** (1 equivalente) en dicloro-metano (3.5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregaron dicarbonato de diterbutilo (1.8 equivalentes) y 4-dimetil-amino-piridina (2 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas, entonces se agregó regulador de fosfato (pH = 7), y se extrajo con dicloro-metano. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 1/1), para proporcionar el N-Boc-indol protegido **9**. Sólido ligeramente amarillo. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.34 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H), 1.56 (s, 9H), 4.35 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 7.46 (d, *J* = 4.0 Hz, 1H), 7.55 (dd, *J* = 12.0 y 4.0 Hz, 1H), 8.0 (d, *J* = 12.0 Hz, 1H), MS (ES^-) ***m/z*** =448 (M-H).

Reacción 9 a 10:

[00219] Una solución agitada de dimetil-formamida desgasificada con N_2, el *N*-Boc-3-yodo-indol **9** (1 equivalente), el H-aril-fosfinato **11** (1.1 equivalentes), trietil-amina (2 equivalentes), y Pd_2dba_3 (0.2 equivalentes), se calentó a 70°C o a 90°C hasta que se terminó la reacción de acuerdo con el análisis de TLC o HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se evaporó el solvente. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 8/2), para proporcionar el fosfinato de indol **10** (con también algo de indol desprotegido). Sólido blanco. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.26 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.58 (s, 9H), 2.35 (s, 3H), 3.70 (d, *J* = 11.5 Hz, 3H), 4.29 (m, 2H), 6.53 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 9.0 y 2.2 Hz, 1H), 7.65 (d, *J* = 13.3 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.76 (s, 1H),

7.84 (d, J = 13.3 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.06 (d, J = 9.0 Hz, 1H), MS (ES^+) ***m/z*** = 543 (MH^+).

Reacción 12 a 13:

[00220] El yodo-arilo **12** (1 equivalente), dimetil-formamida (1 mililitro / milimol), trietil-amina (3 equivalentes), y la sal hipofosforosa de anilinio* (1,25 equivalentes) se pusieron en un tubo de presión y se desgasificaron con N_2 durante 15 minutos. Entonces se agregó tetraquis-paladio, y esta mezcla se agitó a 85°C durante la noche.

[00221] El solvente se evaporó, y se agregó agua (pH = 5-6). La mezcla se basificó con $NaHCO_3$ hasta un pH = 8 y se extrajo con dietil-éter. La capa acuosa se acidificó con HCl 1N hasta un pH = 1, y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida, para dar el compuesto **#13**.

[00222] La sal de anilinio se sintetizó de acuerdo con el procedimiento de Montchamp y colaboradores (*J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 510-511).

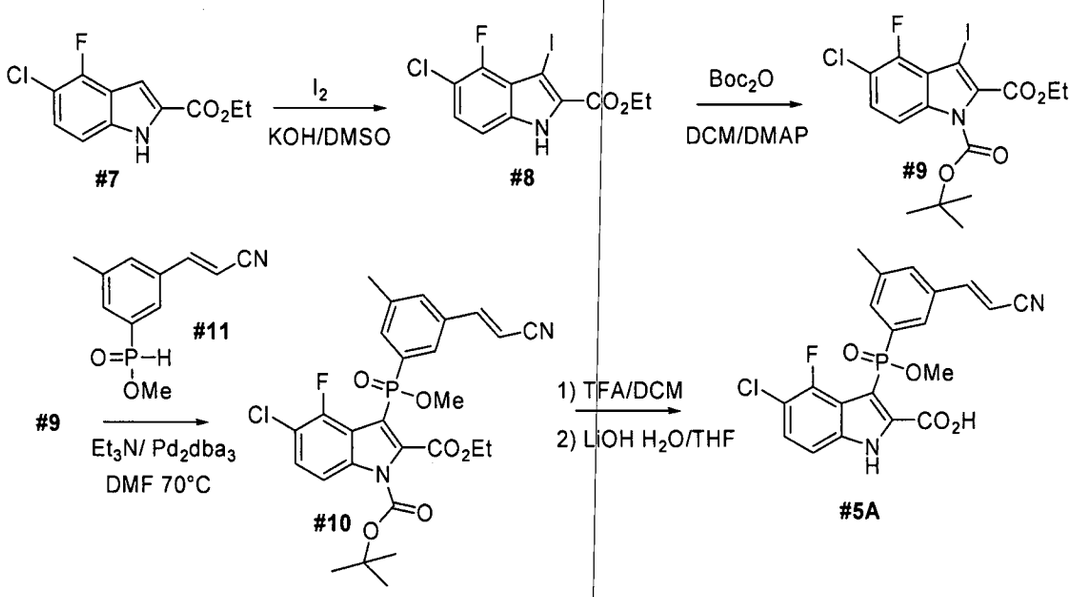
[00223] Sólido grisáceo. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 6.54 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 549.8 Hz, 1H), 7.57 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 7.71 (m, 3H), ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 121.49 MHz) δ 15.56, MS (ES^-) ***m/z*** =208.

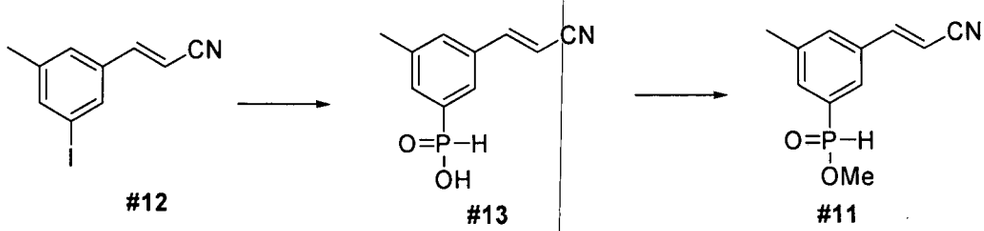
Reacción 13 a 11

[00224] Se agregó cuidadosamente piridina (1 equivalente) a una solución vigorosamente agitada de cloroformato de alquilo (1 equivalente), y ácido aril-fosfínico **12** (1 equivalente) en dicloro-metano (2 mililitros / milimol) a temperatura ambiente. Una vez que se hubo detenido la efervescencia, la solución se puso a reflujo durante 15 minutos, y entonces se dejó enfriar a

temperatura ambiente. La solución se vertió en ácido clorhídrico 0.1M (1 mililitro / milimol), y la capa orgánica se separó. Después de lavar con agua y de secar sobre Na_2SO_4, el solvente se removió al vacío, para dar el compuesto **#11**. Sólido blanco. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 2.40 (s, 3H), 3.71 (d, J = 12.2 Hz, 3H), 6.58 (d, J = 16.8 Hz, 1H), 7.52 (d, J = 576,0 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 16.8Hz, 1H), 7.80 (m, 2H), MS (ES^-) ***m/z*** =222.

Compuesto I





Reacción 7 a 8:

[00225] A una solución agitada del indol **7** (1.0 equivalentes) en N,N-dimetil-formamida (4.4 mililitros / milimol) bajo argón, se le agregaron yodo (1.98 equivalentes) e hidróxido de potasio (1.0 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas. La

mezcla de reacción se apagó mediante la adición de agua (8.8 mililitros / milimol), y el producto se precipitó, se filtró, y se secó. El sólido se volvió a someter a las condiciones de reacción (dimetil-formamida (4.4 mililitros / milimol) bajo argón, yodo (0.4 equivalentes), e hidróxido de potasio (0.2 equivalentes), y se agitó durante 1 hora) para convertir el material de partida restante. La mezcla de reacción se apagó mediante la adición de agua (8.8 mililitros / milimol), y el producto se precipitó, se filtró, y se secó, para proporcionar el 3-yodo-indol **8**. Sólido color beige. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.39 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 4.40 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.35-7.42 (m, 2H), 12.66 (s, 1H), ^{19}F RMN (d_6-DMSO, 376 MHz) δ - 126.87, MS (ESI-) ***m/z*** = 366.13 $(M-H)^-$ 100 por ciento, 368.15 $(M-H)^-$ 35 por ciento.

Reacción 8 a 9:

[00226] A una solución agitada del indol **8** (1 equivalente) en dicloro-metano (3.5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregaron dicarbonato de diterbutilo (1.8 equivalentes) y 4-dimetil-amino-piridina (2 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas, entonces se agregó regulador de fosfato (pH = 7), y se extrajo con dicloro-metano. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 1/1), para proporcionar el N-Boc-indol protegido **9**. Sólido blanco. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.35 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.57 (s, 9H), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 7.64 (dd, *J* = 7.3 y 9.1 Hz, 1H), 7.90 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H), ^{19}F RMN (d_6-DMSO, 377 MHz) δ - 126.9, MS (ESI, EI^+) ***m/z*** = 490 $(M+Na^+)$.

Reacción 9 a 10:

[00227] Una solución agitada de dimetil-formamida

desgasificada con N_2, *N*-Boc-3-yodo-indol **9** (1 equivalente), H-aril-fosfinato **11** (1.1 equivalentes), trietil-amina (2 equivalentes), y Pd_2dba_3 (0.2 equivalentes), se calentó a 70°C o a 90°C hasta que se terminó la reacción de acuerdo con el análisis de TLC o HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se evaporó el solvente. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 8/2), para proporcionar el fosfinato de indol **10** (con también algo de indol desprotegido). Sólido blanco. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.62 (s, 9H), 2.35 (s, 3H), 3.66 (d, *J* = 11.6 Hz, 3H), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.51 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 7.58-7.65 (m, 2H), 7.69-7.77 (m, 3H), 7.94 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), ^{19}F RMN (d_6-DMSO, 377 MHz) δ - 116.0 (s, .1F), ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 162 MHz) δ 23.42 (s, 1P), MS (ESI, EI^+) ***m/z*** = 561 ($M+H^+$).

Reacción 12 a 13:

[00228] El yodo-arilo **12** (1 equivalente), dimetil-formamida (1 mililitro / milimol), trietil-amina (3 equivalentes), y la sal hipofosforosa de anilinio* (1,25 equivalentes) se pusieron en un tubo de presión y se desgasificaron con N_2 durante 15 minutos. Entonces se agregó tetraquis-paladio, y esta mezcla se agitó a 85°C durante la noche.

[00229] El solvente se evaporó, y se agregó agua (pH = 5-6). La mezcla se basificó con $NaHCO_3$ hasta un pH = 8 y se extrajo con dietil-éter. La capa acuosa se acidificó con HCl 1N hasta un pH = 1 y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida, para dar el compuesto **#13**.

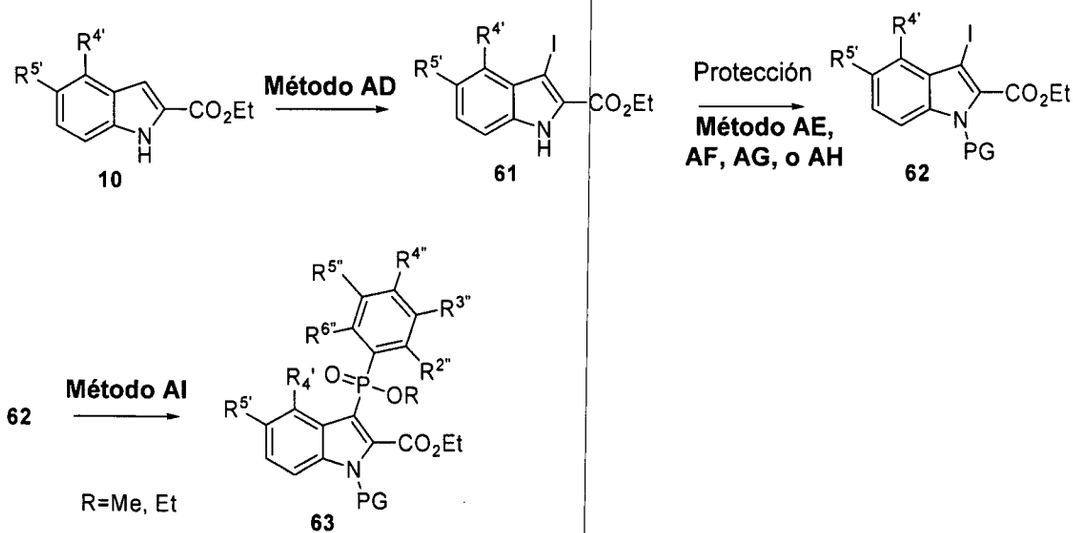
[00230] La sal de anilinio se sintetizó de acuerdo con el procedimiento de Montchamp y colaboradores (*J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 510-511).

[00231] Sólido grisáceo. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 6.54 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.46 (d, *J* = 549.8 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 7.71 (m, 3H), ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 121.49 MHz) δ 15.56, MS (ES^-) ***m/z*** =208.

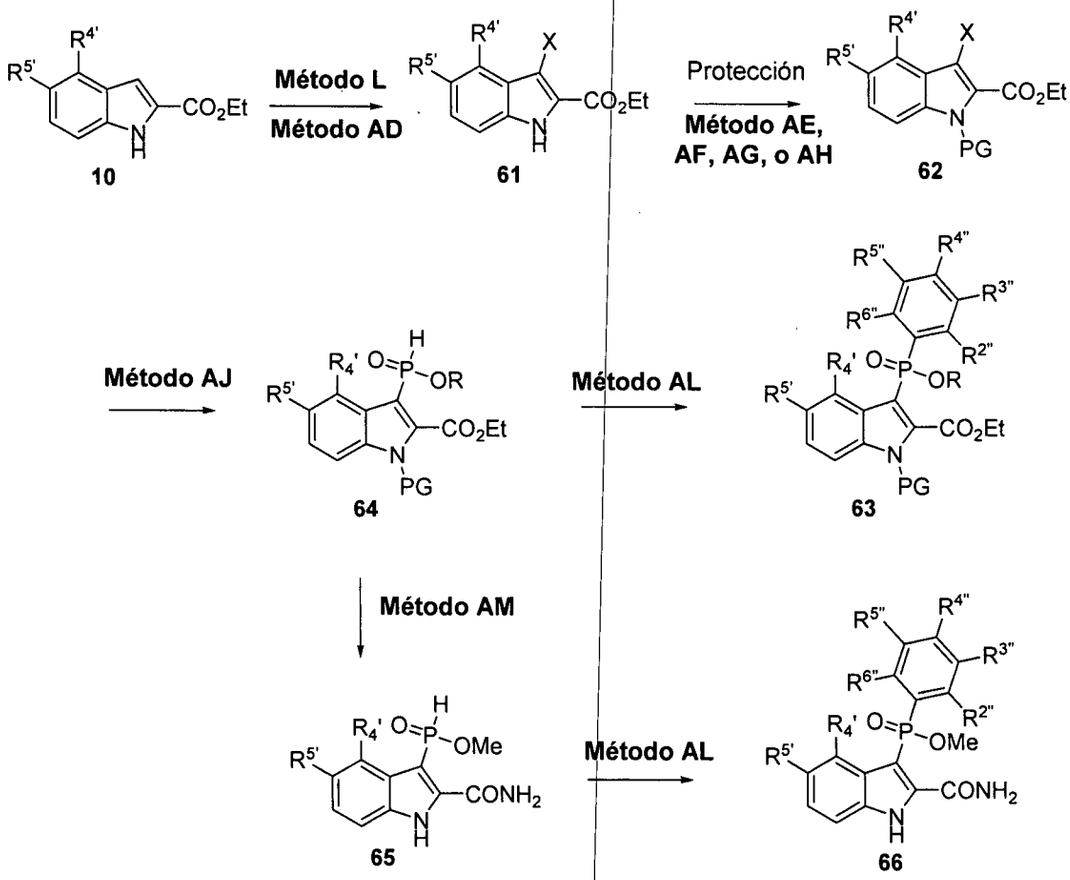
Reacción 13 a 11

[00232] Se agregó cuidadosamente piridina (1 equivalente) a una solución vigorosamente agitada de cloroformato de alquilo (1 equivalente), y ácido aril-fosfínico **13** (1 equivalente) en dicloro-metano (2 mililitros / milimol) a temperatura ambiente. Una vez que se hubo detenido la efervescencia, la solución se puso a reflujo durante 15 minutos, y entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución se vertió en ácido clorhídrico 0.1M (1 mililitro / milimol), y la capa orgánica se separó. Después de lavar con agua y de secar sobre Na_2SO_4, el solvente se removió al vacío, para dar el compuesto **#11**. Sólido blanco. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 2.40 (s, 3H), 3.71 (d, *J* = 12.2 Hz, 3H), 6.58 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.52 (d, *J* = 576,0 Hz, 1H), 7.63 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 7.71 (d, *J* = 16.8Hz, 1H), 7.80 (m, 2H), MS (ES^-) ***m/z*** =222.

[00233] Ciertos compuestos del presente ejemplo se prepararon mediante el esquema y los siguientes métodos.



Esquema 14: Acoplamiento de H-aril-fosfinato con 3-yodo-indol



MÉTODO AD

[00234] A un matraz se le agregó, bajo argón, el indol **10** (1 equivalente), se le agregaron Yodo (1.98 equivalentes), hidróxido de potasio sólido (1 equivalente), y dimetil-formamida anhidra (4.5 mililitros / milimol). La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas, entonces se le agregó agua, y la pasta acuosa se filtró a través de un filtro de papel, el sólido se secó bajo presión reducida, y se trituró / se filtró en agua varias veces, para proporcionar, después de secarse bajo presión reducida, el 3-yodo-indol **61**.

MÉTODO AE

[00235] A una solución agitada del indol **10** (1 equivalente) en dicloro-metano (3.5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregaron dicarbonato de diterbutilo (1.8 equivalentes), y 4-dimetil-amino-piridina (2 equivalentes). La mezcla de reacción se

agitó durante 18 horas, entonces se agregó regulador de fosfato (pH = 7), y se extrajo con dicloro-metano. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 1/1), para proporcionar el N-Boc-indol protegido **62a**.

MÉTODO AF

[00236] A una solución agitada del indol **10** (1 equivalente) en N,N-dimetil-formamida (3.5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno y enfriada a 0°C (baño de hielo), se le agregó hidruro de sodio (1.2 equivalentes) en porciones. La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos hasta que cesó el desprendimiento de gas, y se agregó por goteo el cloruro de 4-metoxi-bencilo. La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas, y entonces se agregó una pequeña cantidad de agua a 0°C. El medio de reacción se diluyó con agua / regulador de fosfato (pH=7). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo, y las capas orgánicas se lavaron con agua, se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 98/2 a 1/1), para proporcionar el N-p-metoxi-bencil-indol protegido **62b**.

MÉTODO AG

[00237] A una solución agitada y enfriada (a aproximadamente 0°C) del indol-2-carboxilato de etilo **10** (1 equivalente) en N,N-dimetil-formamida (2 mililitros / milimol) bajo N_2, se le agregó NaH (al 60 por ciento en aceite, 1.2 equivalentes) en porciones. Cuando se detuvo el desprendimiento de gas, se agregó cloruro de bencen-sulfonilo (1.2 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante aproximadamente 1 hora (monitoreo

mediante TLC, eluyente de dicloro-metano); entonces se agregó cuidadosamente una pequeña cantidad de agua y la dimetil-formamida se evaporó. El residuo crudo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con agua y salmuera. Después de secar y de la evaporación de los solventes, el compuesto se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: C_6H_{12}/EtOAc 9/1 a 7/3), para dar el *N*-fenil-sulfonil-indol **62c**.

MÉTODO AH

[00238] A una solución agitada del indol **10** (1 equivalente) en tetrahidrofurano (3.5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregaron terbutóxido de potasio (1.5 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos, y entonces se agregó cloruro de benzoílo (1.2 equivalentes). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas, y entonces se le agregó agua. El tetrahidrofurano se evaporó bajo presión reducida, y la capa acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), y se concentraron bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 3/1), para proporcionar el N-Bz-indol protegido **62d**.

MÉTODO AI

[00239] Una solución agitada de dimetil-formamida desgasificada con N_2, 3-yodo-indol N-protegido **62** (1 equivalente), H-aril-fosfinato **23** (R = Me o Et) (1.1 equivalentes), trietil-amina (2 equivalentes), y Pd_2dba_3 (0.2 equivalentes), se calentó a 70°C o a 90°C hasta que se terminó la reacción de acuerdo con el análisis de TLC o HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se evaporó el solvente. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: típicamente éter de petróleo/EtOAc :

8/2), para proporcionar el fosfinato de indol **63**. (observe que cuando PG = Boc, se obtiene una mezcla del compuesto protegido por Boc y el compuesto de indol desprotegido).

MÉTODO AJ

[00240] A una solución enfriada a -90°C (baño de acetona / nitrógeno líquido) del bromo-indol **11** (1 equivalente) en tetrahidrofurano (5 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregó por goteo n-butil-litio (2.5M en hexanos, 1.1 equivalentes), mientras que se mantenía la temperatura alrededor de -90°C. Después del final de la adición, el medio de reacción se agitó durante 5 minutos a la misma temperatura, y se agregó por goteo cloro-dietil-fosfito (1 equivalente). La reacción se dejó calentar hasta -20°C, y entonces se lavó rápidamente con un pequeño volumen de salmuera. La capa orgánica se agregó entonces inmediatamente a una solución agitada de HCl 0.5M, y la mezcla se agitó durante 1 hora. Después de la decantación, la capa acuosa se extrajo con EtOAc varias veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), entonces se concentraron bajo presión reducida, y el residuo oleoso se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: DCM/EtOAc : 95/5), para proporcionar el 3-H-fosfinato de indol **64**.

MÉTODO AL

[00241] A una solución del 3-H-fosfinato de indol **64 ó 65** bajo N_2 en acetonitrilo desgasificado, se le agregaron 3-yodo-5-metil-cinamo-nitrilo (1.1 equivalentes), Et_3N (1 equivalente), y tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio (0.2 equivalentes). La reacción se calentó a 100°C hasta el final de la reacción (se monitoreó mediante HPLC). La reacción se enfrió, y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo crudo entonces se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice,

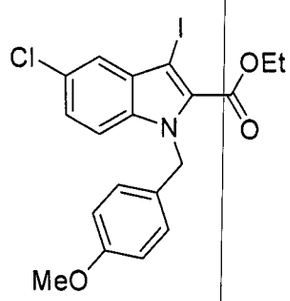
para proporcionar el 3-H-fosfinato **63** o **66**.

MÉTODO AM

[00242] En un tubo de presión, el 3-H-fosfinato de indol **64** (1 equivalente) se disolvió en metanol, la solución se enfrió a 0°C, y entonces se saturó con amoníaco. La reacción entonces se calentó a 50°C bajo presión durante 18 horas. Después de enfriarse, los solventes se evaporaron. Se agregó agua y se llevó a cabo la extracción con EtOAc. Las capas orgánicas se secaron (Na_2SO_4), y se evaporaron al vacío. El residuo se trituró en acetonitrilo, y dio, después de la filtración, la 3-H-fosfinato-indol-carboxamida **65**.

Intermediario 62b:

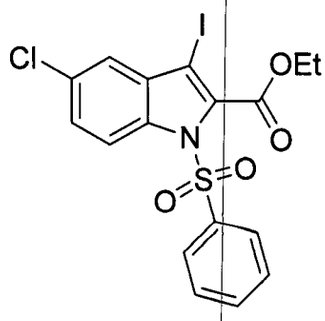
1-(4-metoxi-bencil)-5-cloro-3-yodo-1H-indol-2-carboxilato de etilo.



[00243] El Intermediario 62b se sintetizó de acuerdo con el método AF. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.33 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 3.67 (s, 3H), 4.35 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 5.73 (s, 2H), 6.82 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.97 (d,), 7.40 (J = 8.9 y 2.1 Hz, 1H), 7.45 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.9 Hz, 1H).

Intermediario 62c:

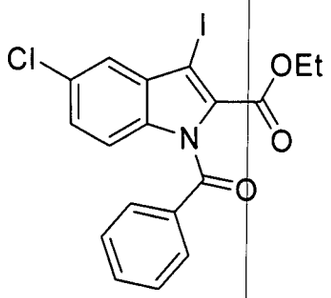
1-fenil-sulfonil-5-cloro-3-yodo-1H-indol-2-carboxilato de etilo.



[00244] El Intermediario 62c se sintetizó de acuerdo con el método AG. **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.40 (t, 3H), 4.50 (br q, 2H), 7.45 (s, 1H), 7.52-7.80 (m, 4H), 8.00 (m, 3H). **MS (ESI, EI$^-$)** *m/z* = 488 (M-H$^+$).

Intermediario 62d:

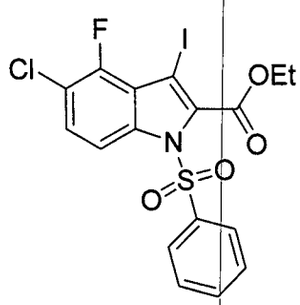
1-benzoil-5-cloro-3-yodo-1H-indol-2-carboxilato de etilo.



[00245] El Intermediario 62d se sintetizó de acuerdo con el método AH. Sólido ligeramente amarillo, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.03 (t, *J* = 9.4 Hz, 3H), 3.88 (q, *J* = 9.4 Hz, 2H), 7.52-7.71 (m, 8H). **MS (ESI, EI$^+$)** *m/z* = 476 (M+Na$^+$), **MS (ES$^-$)** m/z = 452.

Intermediario 62e

1-fenil-sulfonil-5-cloro-4-fluoro-3-yodo-1H-indol-2-carboxilato de metilo

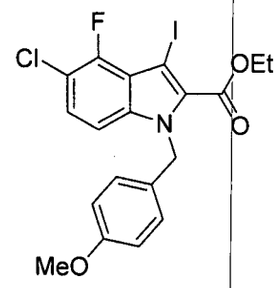


[00246] El Intermediario 62e se sintetizó de acuerdo con el método AG. Sólido color beige, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.41 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 4.51 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 7.63-7.71 (m, 3H), 7.78-7.82 (m, 1H), 7.89-7.91 (d, 1H), 8.00-8.03 (m, 2H), ^{19}F RMN (d_6- δDMSO, 376 MHz)-125.60 (d, 1F). **MS (ESI-)** *m/z* = 506.12 (M-H)$^-$ 30 por ciento, 380.21 (M-I)$^-$ 100 por ciento, 382.21

$(M-I)^-$ 35 por ciento.

Intermediario 62h:

1-(4-metoxi-bencil)-4-fluoro-5-cloro-3-yodo-1H-indol-2-carboxilato de metilo.

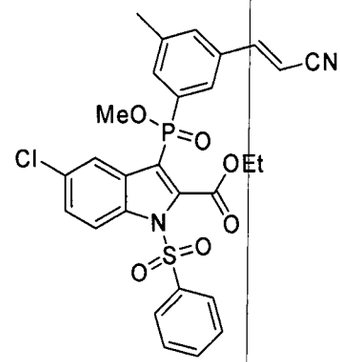


[00247] El Intermediario 62h se sintetizó de acuerdo con el método AF.

Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 3.67 (s, 3H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 5.68 (s, 2H), 6.82 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.96 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.45 (dd, *J* = 7.0 y 9.2 Hz, 1H), 7.59 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), ^{19}F RMN (d_6-DMSO, δ -126.1 (s, 1F), 377 MHz) **MS (ESI, EI$^+$)** *m/z* = 487.

Compuesto 63b:

Etil-éster del ácido 1-bencen-sulfonil-5-cloro-3-[metil-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1H-indol-2-carboxílico.

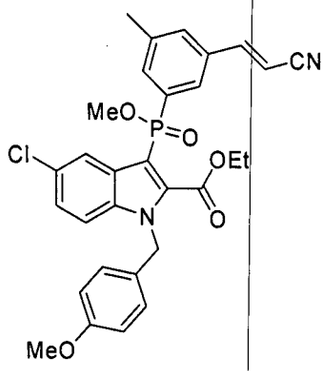


[00248] El compuesto 63b se sintetizó de acuerdo con el método AI. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.65 (s, 3H), 3.69 (d, *J* = 11.7 Hz, 3H), 4.41 (m, 2H), 6.52 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 9.0 y 2.2 Hz, 1H), 7.62 (d, *J* = 13.6 Hz, 1H), 7.60-7.71 (m, 3H), 7.76-7.81 (m, 3H), 7.85 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 8.04-8.09 (m, 3H). **MS (ES$^+$)** *m/z* = 583

(MH^+)

Compuesto 63c:

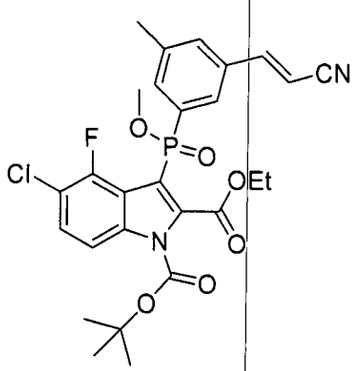
Etil-éster del ácido 1-(4-metoxi-bencil)-5-cloro-3-[metil-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1H-indol-2-carboxílico.



[00249] El compuesto 63c se sintetizó de acuerdo con el método AI. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-Acetona, 400 MHz) δ 1.18 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.39 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.76 (d, *J* = 11.4 Hz, 3H), 4.26 (m, 2H), 5.63 (s, 2H), 6.35 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 6.86 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.14 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.35 (dd, *J* = 9.0 y 2.2 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.67 (dd, *J* = 8.9 y 1.9 Hz, 1H), 7.69 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 7.91 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 8.24 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H). **MS (ES^+)** *m/z* = 563 (MH^+).

Compuesto 63f:

Etil-éster del ácido 1-(terbutil-carbamato)-5-cloro-4-fluoro-3-[metil-3-((E)-2-ciano-vinil-5-metil-fenil]-fosfinoil)-1H-indol-2-carboxílico.

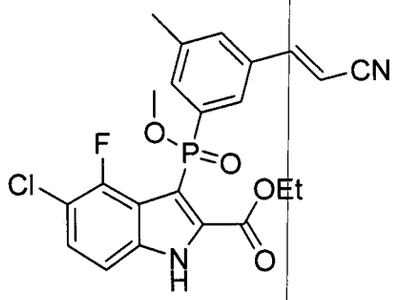


[00250] El compuesto 63f se sintetizó de acuerdo con el método AI. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.62 (s, 9H), 2.35 (s, 3H), 3.66 (d, *J* = 11.6 Hz,

3H), 4.37 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 6.51 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 7.58-7.65 (m, 2H), 7.69-7.77 (m, 3H), 7.94 (d, *J* = 9.5 Hz, 1H), **^{19}F RMN** (d_6-DMSO, 377 MHz) δ -116.0 (s, .1F), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 162 MHz) δ 23.42 (s, 1P). **MS (ESI, EI$^+$)** *m/z* = 561 (M+H$^+$).

Compuesto 63g:

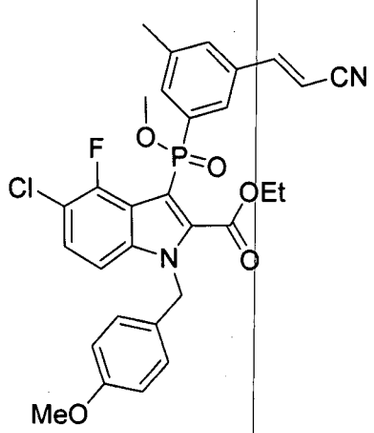
Etil-éster del ácido 5-cloro-4-fluoro-3-[metil-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1H-indol-2-carboxílico.



[00251] El compuesto 63g se sintetizó de acuerdo con el método AI. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.35 (s, 3H), 3.58 (d, *J* = 11.6 Hz, 3H), 4.24 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 6.49 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 7.38-7.82 (m, 6H), 13.19 (bs, 1H), **^{19}F RMN** (d_6- ǫDMSO, 376 MHz)-115.0 (s, 1F), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 162 MHz) δ 25.24 (s, 1P). **MS (ESI, EI$^+$)** *m/z* = 461 (M+H$^+$).

Compuesto 63h:

Etil-éster del ácido 1-(4-metoxi-bencil)-5-cloro-4-fluoro-3-[metil-3-((E)-2-ciano-vinil-5-metil-fenil]-fosfinoil)-1H-indol-2-carboxílico.

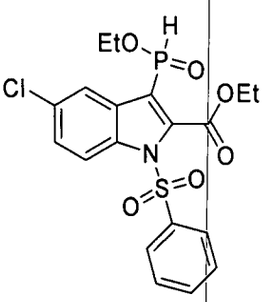


[00252] El compuesto 63h se sintetizó de acuerdo con el

método AI. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.20 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.35 (s, 3H), 3.61 (d, *J* = 11.6 Hz, 3H), 3.70 (s, 3H), 4.28 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 5.43 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 5.48 (d, *J* = 16.2 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 16.7 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.12 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.46 (dd, *J* = 6.8 y 8.8 Hz, 1H), 7.55-7.79 (m, 5H), **^{19}F RMN** (d_6-DMSO, 377 MHz) δ -116.7 (s, 1F), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 162 MHz) δ 24.55 (s, 1P). **MS (ESI, EI$^+$)** *m/z* = 581 ($M+H^+$).

Intermediario 64a:

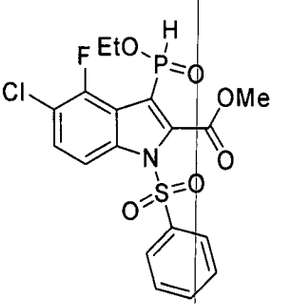
Etil-éster del ácido 1-bencen-sulfonil-5-cloro-3-etoxi-hidrogen-fosfinil-1H-indol-2-carboxílico.



[00253] El Intermediario 64a se sintetizó de acuerdo con el método AJ. Aceite espeso ligeramente amarillo, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 300 MHz) δ 1.25 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.37 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 4.1 (m, 2H), 4.46 (q, *J* = 7.2 Hz, 3H), 7.58 (dd, *J* = 9.0 y 2.1 Hz, 1H), 7.71 (m, 2H), 7.80 (d, J = 609.6 Hz, 1H), 7.83 (m, 1H), 7.97 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 8.11 (m, 3H), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 162 MHz) δ 13.43. **MS (ES$^+$)** *m/z* = 456 (MH^+).

Intermediario 64b:

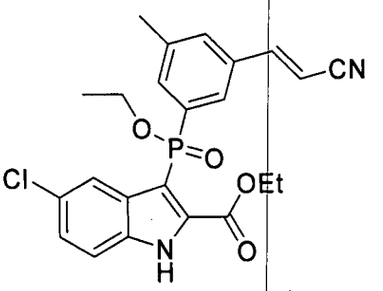
Metil-éster del ácido 1-bencen-sulfonil-5-cloro-4-fluoro-3-etoxi-hidrogen-fosfinil-1H-indol-2-carboxílico.



[00254] El Intermediario 64b se sintetizó de acuerdo con el método AJ. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 300 MHz) δ 1.20 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 3.99 (s, 3H), 4.03 (m, 2H), 4.10 (m, 2H), 7.70 (m, 4H), 7.71 (m, 2H), 7.79 (dd, J = 616.8 y 4.8 Hz, 1H), 7.84 (m, 1H), 7.96 (m, 1H), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 121.49 MHz) δ 12.42 (J_{P-F}= 12.6 Hz). **MS (ES$^+$)** m/z = 460 (MH^+).

Compuesto 63f:

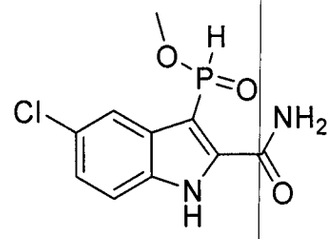
Etil-éster del ácido 5-cloro-3-[etil-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1H-indol-2-carboxílico.



[00255] El compuesto 63f se sintetizó de acuerdo con el método AL. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.09 (t, J = 7.1 Hz, 3H), 1.26 (t, J = 7.0 Hz, 3H), 2.34 (s, 3H), 3.99 (m, 2H), 4.16 (m, 2H), 6.48 (d, J = 16.5 Hz, 1H), 7.39 (dd, J = 8.8 y 2.2 Hz, 1H), 7.59 (m, 2H), 7.71 (m, 3H), 8.39 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 12.93 (brs, 1H). **MS (ES$^+$)** m/z = 597 (MH^+).

Intermediario 65a:

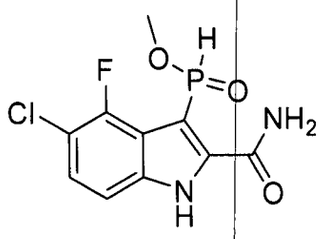
5-cloro-3-metoxi-hidrogen-fosfinil-1*H*-indol-2-carboxamida.



[00256] El Intermediario 65a se sintetizó de acuerdo con el método AM. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 300 MHz) δ 3.71 (d, *J* = 12.6 Hz, 3H), 7.35 (dd, *J* = 8.7 y 2.1 Hz 1H), 7.60 (dd, *J* = 8.7 y 1.8 Hz 1H), 7.85 (d, *J* = 2.1 Hz 1H), 7.99 (dd, *J* = 616.8 y 5.4 Hz 1H), 8.00 (brs, 1H), 9.28 (brs, 1H), 12.71 (brs, 1H), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 121.49 MHz) δ 22.38. **MS (ES$^-$)** *m/z* = 271 (M-H).

Intermediario 65b:

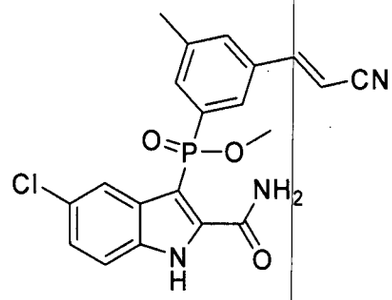
5-cloro-4-fluoro-3-metoxi-hidrogen-fosfinil-1*H*-indol-2-carboxamida.



[00257] El Intermediario 65b se sintetizó de acuerdo con el método AM. Sólido blanco, **^{1}H RMN** (d_6-DMSO, 300 MHz) δ 3.72 (d, *J* = 13.2 Hz, 3H), 7.45 (m, 2H), 7.99 (dd, *J* = 616.8 y 5.4 Hz 1H), 8.08 (brs, 1H), 9.96 (brs, 1H), 13.0 (brs, 1H), **^{31}P RMN** (d_6-DMSO, 121.49 MHz) δ 22.79 (dd, *J*= 28.8 y 4.6 Hz). **MS (ES$^-$)** *m/z* = 289 (M-H).

Compuesto 66a:

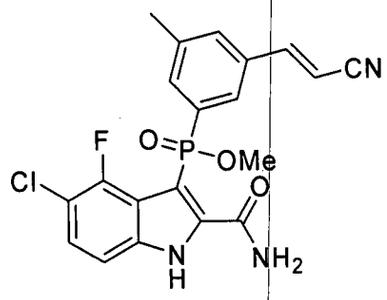
5-cloro-3-[metil-3-((*E*)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1*H*-indol-2-carboxamida.



[00258] El compuesto 66a se sintetizó de acuerdo con el método AL. Sólido blanco, **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.40 (s, 3H), 3.88 (d, *J* = 11.7 Hz, 3H), 5.89 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 5.97 (brs, 1H), 7.33-7.67 (m, 7H), 10.46 (s, 1H), 10.89 (brs, 1H), **^{31}P RMN** ($CDCl_3$, 121.49 MHz) δ 31.54. **MS (ES$^+$)** *m/z* = 414 (MH^+).

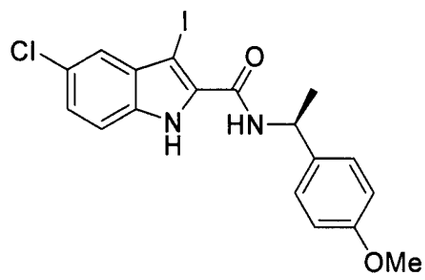
Compuesto 66b:

5-cloro-4-fluoro-3-[metil-3-((*E*)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-fosfinoil-1*H*-indol-2-carboxamida.

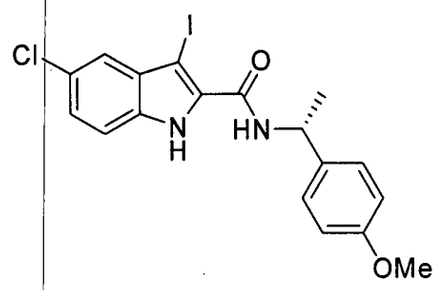


[00259] El compuesto 66b se sintetizó de acuerdo con el método AL. Sólido blanco, **^{1}H RMN** ($CDCl_3$, 300 MHz) δ 2.42 (s, 3H), 3.88 (d, *J* = 12.0 Hz, 3H), 6.38 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 7.20 (brs, 1H), 7.42 (dd, J = 8.8 and 6.7 Hz, 1H), 7.61-7.66 (m, 2H), 7.74 (m, 2H), 7.89 (m, 1H), 11.24 (s, 1H), 12.07 (brs, 1H), **^{31}P RMN** ($CDCl_3$, 121.49 MHz) δ 30.29, **^{19}F RMN** (d_6-DMSO, 282.4 MHz) δ-115.0. **MS (ES$^+$)** *m/z* = 432 (MH^+).

Intermediarios 4a y 4b:



4a



4b

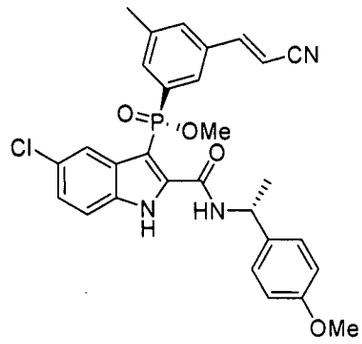
[00260] A una solución del ácido 3-yodo-5-cloroindol-2-carboxílico (1 equivalente) en N,N-dimetil-formamida (7 mililitros / milimol) bajo nitrógeno, se le agregaron HOBt (1 equivalente), (*R*) o (*S*)-alfa-metil-*p*-metoxi-bencil-amina (1 equivalente), y finalmente EDCI (1 equivalente). El medio de reacción se agitó durante 18 horas, y entonces se le agregó agua. El precipitado sólido se filtró, se enjuagó con agua, se solubilizó con EtOAc, se secó con Na_2SO_4 y se evaporó bajo presión reducida. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 95/5 a 8/2), para proporcionar el indol **4a** ó **4b**.

[00261] **4a**: 5-cloro-3-yodo-N-((*S*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-1H-indol-2-carboxamida. Sólido grisáceo, ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.48 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.73 (s, 3H), 5.10 (m, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.27 (dd, *J* = 8.7 y 2.0 Hz, 1H), 7.35-7.38 (m, 3H), 7.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 12.15 (brs, 1H), MS (ES^+) *m/z* =455 (MH^+).

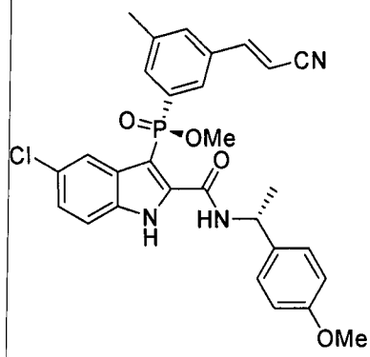
[00262] **4b**: 5-cloro-3-yodo-N-((R)-1-(4-metoxi-fenil)-etil)-1H-indol-2-carboxamida: Sólido blanco, ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.48 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H), 3.73 (s, 3H), 5.10 (m, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 7.27 (dd, *J* = 8.7 y 2.1 Hz, 1H), 7.35-7.38 (m, 3H), 7.45 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 8.37 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 12.20 (brs, 1H),

MS (ES^+) *m/z* =455 (MH^+).

Intermediarios 5c y 5d:



5c



5d

[00263] Una solución agitada de dimetil-formamida desgasificada con N_2, el 3-yodo-indol **4b** (1 equivalente), el H-aril-fosfinato **#11** (1.1 equivalentes), trietil-amina (2 equivalentes), y Pd_2dba_3 (0.2 equivalentes), se calentó a 70°C hasta que se terminó la reacción de acuerdo con el análisis de TLC o HPLC. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, y se evaporó el solvente. Los diaesteroisómeros obtenidos se separaron mediante cromatografía por evaporación instantánea sobre gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/EtOAc : 9/1 a 1/1), para proporcionar sucesivamente el fosfinato **5c** y **5d**.

[00264] **5c**: (*R*)-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-((*R*)-1-(4-metoxi-fenil)-etil-carbamoil)-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo: Sólido blanco, ^1H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.48 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.75 (d, *J* = 11.8 Hz, 3H), 5.14 (m, 1H), 6.52 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 6.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.30 (dd, *J* = 8.5 y 2.1 Hz, 1H), 7.36 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.56 (dd, *J* = 8.8 y 1.5 Hz, 1H), 7.61 (m, 2H), 7.48 (dd, *J* = 2.2 y 8.9 Hz, 1H), 7.70 (d, *J* = 16.8 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.80 (d, *J* = 13.0 Hz, 1H), 11.12 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 12.76 (brs, 1H), MS (ES^+) *m/z* =548 ($M+H^+$).

[00265] **5d**: (*S*)-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-((*R*)-1-(4-

metoxi-fenil)-etil-carbamoil)-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo: Sólido blanco, ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz) δ 1.48 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.24 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.79 (d, *J*= 11.5 Hz, 3H), 5.14 (m, 1H), 6.42 (d, *J* = 16.5 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.31 (dd, *J* = 2.1 y 8.8 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.44 (d, *J* = 13.2 Hz, 1H), 7.58 (m, 2H), 7.70 (m, 3H), 11.11 (brs, 1H), 12.77 (brs, 1H), MS (ES^+) *m/z* =548 ($M+H^+$).

Compuesto (*R*)-66a:

[00266] Una solución del **(*R*)-5c** (1 equivalente) en acetonitrilo bajo nitrógeno, se enfrió a -15°C (NaCl/baño de hielo), y entonces se agregó por goteo nitrato de cérico amonico (7.5 equivalentes) en agua. La reacción se agitó durante 30 minutos a esta temperatura. El medio de reacción se diluyó con EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó con agua, luego con salmuera, se secó (Na_2SO_4), y se evaporó bajo presión reducida. La HPLC quiral de la muestra cruda mostró la presencia de un solo enantiómero del compuesto **66a:** (*R*)-3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil-(2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-3-fosfinato de metilo. Datos analíticos reportados anteriormente.

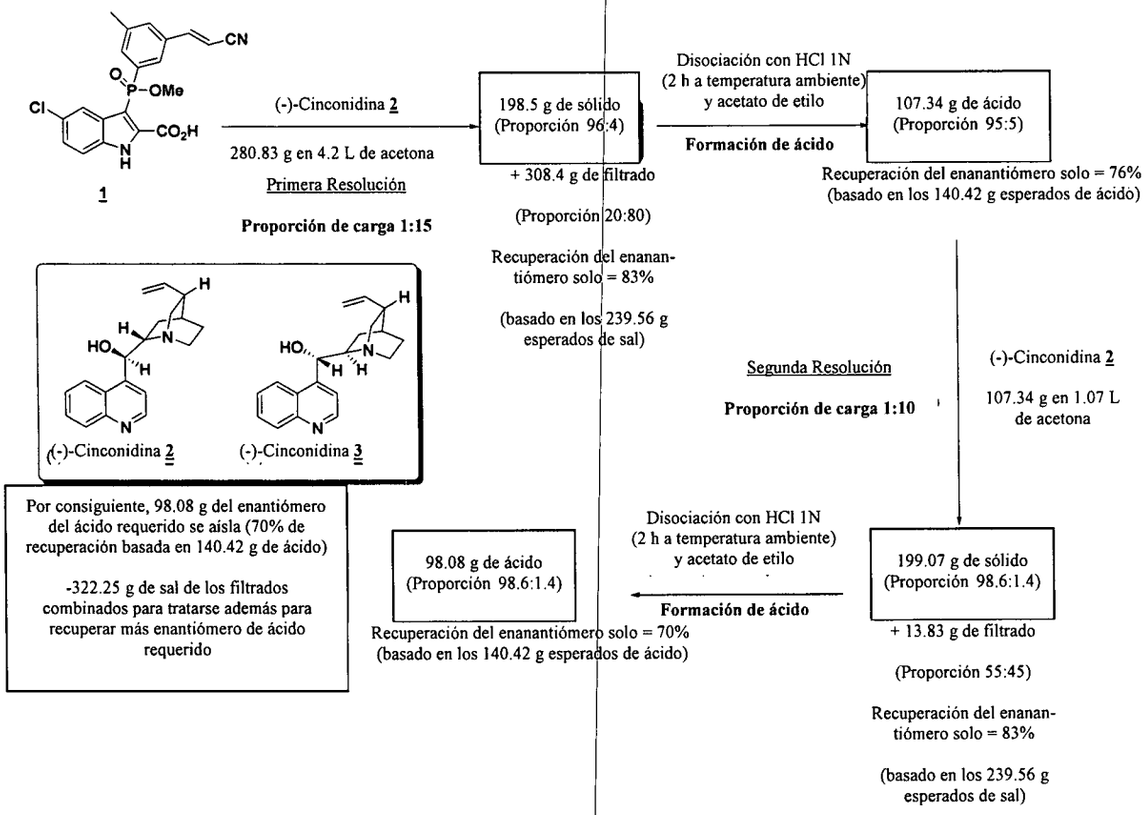
[00267] De una manera alternativa, el indol **4** se podría *N*-proteger antes de acoplarse mediante paladio con un H-aril-fosfinato como se describe anteriormente. Después de la separación de los diaestereoisómeros *N*-protegidos, se puede obtener la carboxamida **6** ópticamente pura mediante la remoción en secuencia del grupo N-protector de indol y de la fracción quiral.

Ejemplo 2

[00268] La resolución química del derivativo de 2-carboxilo de los 3-fosfoindoles de la fórmula I/II se llevó a cabo sobre 280.82 gramos del **1** utilizando la (-)-Cinconidina **2** (**Esquema 15**, para obtener el enantiómero requerido, primero eluyendo el isómero

mediante análisis de HPLC quiral), y la (+)-Cinconina **3** (la cual se puede utilizar para remover el enantiómero indeseado del filtrado, y segundo, mediante la elución del isómero mediante análisis de HPLC quiral).

Resolución inicial sobre la escala de 280.82 gramos del ácido racémico



Esquema 15

1. Resolución inicial sobre la escala de 280.82 gramos de ácido racémico

Primera resolución – utilizando la (-)-Cinconidina 2

[00269] El ácido libre del indol **1** (280.83 gramos, 675.61 moles, **Esquema 15**) se suspendió en acetona (4.2 litros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (-)-Cinconidina **2** (198.89 gramos, 675.61 milimoles) en una porción y, después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de una hora adicional, se observó la precipitación de un sólido blanco, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales (total 4 horas).

Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante filtración y se lavó con acetona (200 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 198.5 gramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 96:4), y 308.4 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 20:80).

Disociación del ácido de la sal

[00270] La sal parcialmente resuelta del indol **1** (198.5 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 96:4) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (3 litros) y HCl 1N (3 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido parcialmente resuelto como un sólido grisáceo (107.34 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 95:5).

Segunda resolución – utilizando la (-)-Cinconidina 2

[00271] El indol de ácido parcialmente resuelto **1** (107.34 gramos, 258.78 milimoles, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 95:5) se suspendió en acetona (1.07 litros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (-)-Cinconidina **2** (76.18 gramos, 258.78 milimoles) en una porción, y después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de 1 hora adicional, se observó la precipitación de un sólido blanco, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales (total 4 horas). Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante

filtración, y se lavó con acetona (200 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 199.07 gramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 98.6:1.4), y 13.83 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 55:45).

Disociación del ácido de la sal

[00272] La sal resuelta (199.07 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 98.6:1.4) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (3 litros) y HCl 1N (3 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (98.08 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 98.6:1.4).

[00273] ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz): δ 2.33 (3H, s, Ar-C$\underline{H}_3$), 3.70 (3H, d, J 11.72 Hz, P-OC$\underline{H}_3$), 6.50 (1H, d, J 16.84 Hz, CH=CHCN), 7.34 (1H, dd, J 1.95Hz, J 8.79 Hz), 7.57 (1H, d, J 8.56 Hz), 7.62-7.79 (3H, m), 7.82-7.85 (1H, m ó d con J 13.43Hz), 7.98 (1H, m), 13.02 (1H, s, CO_{2H}), 14.36 (1H, br-s, NH); ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 161.8 MHz): δ33.42; *m/z* (ES+) 415 $(M+H)^+$.

Recuperación

[00274] Por consiguiente, se aislaron 98.08 gramos del enantiómero del ácido requerido (70 por ciento de recuperación basándose en 140.42 gramos del enantiómero de ácido disponible a partir de 280.83 gramos del ácido racémico). 322.25 gramos adicionales de sal a partir de los filtrados combinados de las dos

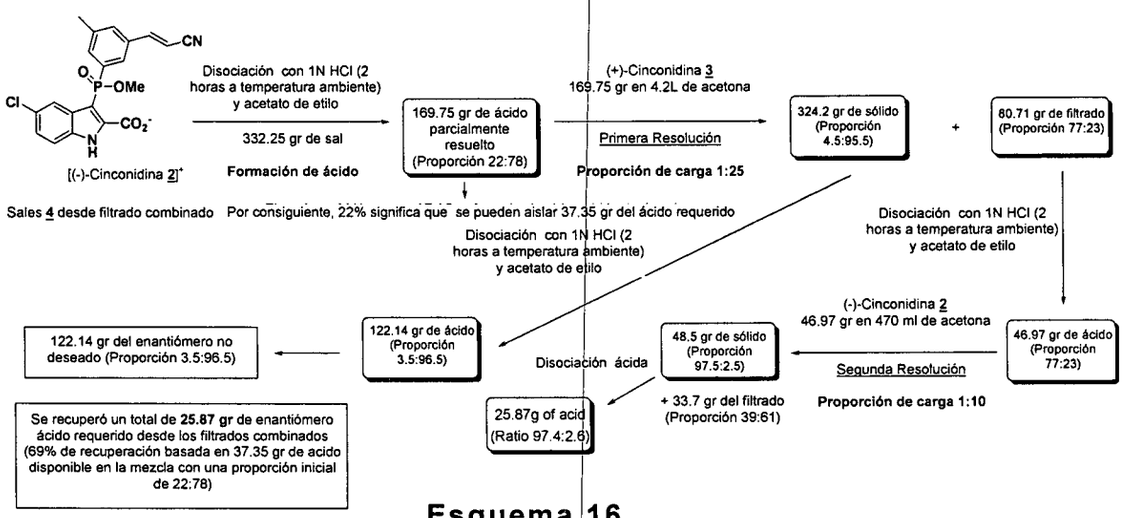
resoluciones **4** (308.4 gramos + 13.85 gramos) se trataron adicionalmente para recuperar más enantiómero requerido.

2. Recuperación a partir del filtrado

Disociación del ácido de la sal

[00275] La sal combinada parcialmente resuelta **4** (322.25 gramos) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (4.8 litros) y HCl 1N (4.8 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas (**Esquema 16**). Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (4 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido parcialmente resuelto como un sólido grisáceo (169.75 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 22:78)

Recuperación del enantiómero requerido a partir del filtrado



Esquema 16

Primera resolución – utilizando la (+)-Cinconina 3

[00276] El indol de ácido parcialmente resuelto (169.75 gramos, 409.25 moles, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 22:78) se suspendió en acetona (3.06 litros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la

(+)-Cinconina **3** (120.48 gramos, 409.25 milimoles) en una porción y, después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de 5 minutos adicionales, se observó la precipitación rápida de un sólido blanco, y la suspensión espesa requirió de acetona adicional (1.14 litros - volumen total de acetona utilizada = 4.2 litros), para permitir la agitación de la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas adicionales (total 4 horas). Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con acetona (150 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 324.2 gramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 4.5:95.5), y 80.71 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 77:23).

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero indeseado

[00277] La sal parcialmente resuelta (324.2 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 4.5:95.5) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (4.8 litros) y HCl 1N (4.8 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (3 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (122.14 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 3.5:96.5).

[00278] ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz): δ 2.33 (3H, s, Ar-C$\underline{H}_3$), 3.70 (3H, d, J 11.72 Hz, P-OC$\underline{H}_3$), 6.50 (1H, d, J 16.84 Hz, CH=CHCN), 7.34 (1H, dd, J 1.95Hz, J 8.79 Hz), 7.57 (1H, d, J

8.56 Hz), 7.62-7.79 (3H, m), 7.82-7.85 (1H, m ó d con J 13.43Hz), 7.98 (1H, m), 13.02 (1H, s, CO_{2H}), 14.36 (1H, br-s, NH); ^{31}P RMN (d_6-DMSO,. 161.8 MHz): δ33.42*m/z* (ES+) 415 $(M+H)^+$.

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero requerido a partir del filtrado

[00279] La sal parcialmente resuelta (80.71 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 77:23) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (1.21 litros) y HCl 1N (1.21 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (1 litro), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido parcialmente resuelto como un sólido grisáceo (46.97 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 77:23)

Segunda resolución – utilizando la (-)-Cinconidina 2

[00280] El indol de ácido parcialmente resuelto (46.97 gramos, 113.24 milimoles, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 77:23) se suspendió en acetona (470 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (-)-Cinconidina **2** (33.34 gramos, 113.24 milimoles) en una porción y, después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de 1 hora adicional, se observó la precipitación de un sólido blanco, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales (total 4 horas). El sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con acetona (100 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 48.5 gramos del sólido (pureza

mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 97.5:2.5), y 33.7 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 39:61).

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero requerido a partir del filtrado

[00281] La sal parcialmente resuelta (48.5 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 97.5:2.5) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (728 mililitros) y HCl 1N (728 mililitros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (700 mililitros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (25.87 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 97.4:2.6)

[00282] ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz): δ 2.33 (3H, s, Ar-C$\underline{H}_3$), 3.70 (3H, d, J 11.72 Hz, P-OC$\underline{H}_3$), 6.50 (1H, d, J 16.84 Hz, CH=CHCN), 7.34 (1H, dd, J 1.95Hz, J 8.79 Hz), 7.57 (1H, d, J 8.56 Hz), 7.62-7.79 (3H, m), 7.82-7.85 (1H, m ó d con J 13.43Hz), 7.98 (1H, m), 13.02 (1H, s, CO_{2H}), 14.36 (1H, br-s, NH); ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 161.8 MHz): δ33.42;*m/z* (ES+) 415 $(M+H)^+$.

Recuperación

[00283] Por consiguiente, se recuperaron 25.87 gramos del enantiómero requerido a partir del filtrado.

Recuperación total del enantiómero de ácido requerido:-

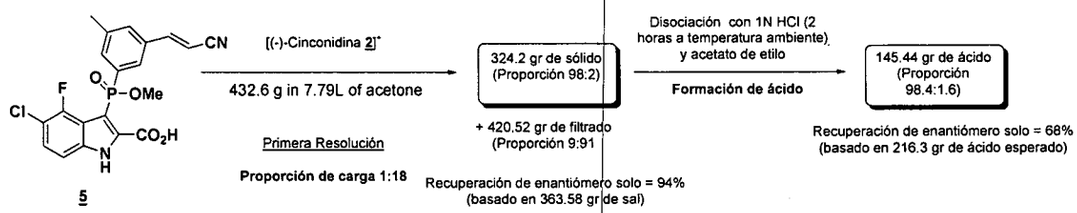
98.08 gramos + 25.87 gramos = 123.95 gramos (de los posibles 140.42 gramos a partir de 280.83 gramos del ácido racémico) = 88 por ciento de rendimiento.

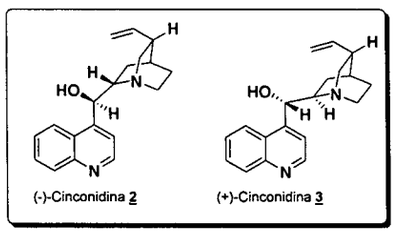
Ejemplo 3

Resolución química de los 3-fosfoindoles de la fórmula III/IV

[00284] La resolución del indol de ácido libre de la fórmula III/IV se llevó a cabo, por consiguiente, sobre 432.6 gramos del **5** utilizando la (-)-Cinconidina **2**. Este proceso se ilustra en el siguiente Esquema **17**.

Resolución inicial sobre una escala de 432.6 gramos del ácido racémico





Por consiguiente, se aísla **145.44 gr** de enantiómero ácido (68% de recuperación basada en 216.3 gr de acido)

-420.52 gr de sal de los filtrados combinados para tratarse además para recuperar más enantiómero de ácido requerido

Esquema 17

Procedimiento Experimental

1. Resolución inicial sobre una escala de 432.6 gramos del ácido racémico

Resolución – utilizando la (-)-Cinconidina 2

[00285] El indol de ácido libre 5 (432.6 gramos, 1.0 moles) se suspendió en acetona (7.79 litros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (-)-Cinconidina 2 (294.39 gramos, 1.0 moles) en una porción, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de este tiempo, el sólido (no se observó precipitación alguna, siempre estuvo presente una suspensión sobre esta escala) se aisló mediante filtración, y se lavó con acetona (300 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 343.2 gramos del sólido (pureza mediante análisis de

HPLC quiral, proporción = 98:2), y 420.52 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 9:91).

Disociación del ácido de la sal

[00286] La sal parcialmente resuelta del indol **5** (343.2 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 98:2) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (5.2 litros) y HCl 1N (5.2 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2.7 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (145.44 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 98.4:1.6).

[00287] ^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d_6-DMSO): 2.35 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.78 (3H, d, POC*H*$_3$), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.46 (2H, d, Ar-*H*), 7.66 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.69, 7.81 (2H, 2 x d, *H*-6, *H*-7), 7.77 (1H, s, Ar-*H*), 13.63 (1H, s, N-*H*), 15.70 (1H, br-s, COO*H*); ^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d_6-DMSO): 36.44 (1P, s); ^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d_6-DMSO): -114.27 (1F, s); *m/z* (ESI+): 433.0 (MH^+, 100 por ciento), 435.0 (MH^+, 35 por ciento).

Recuperación

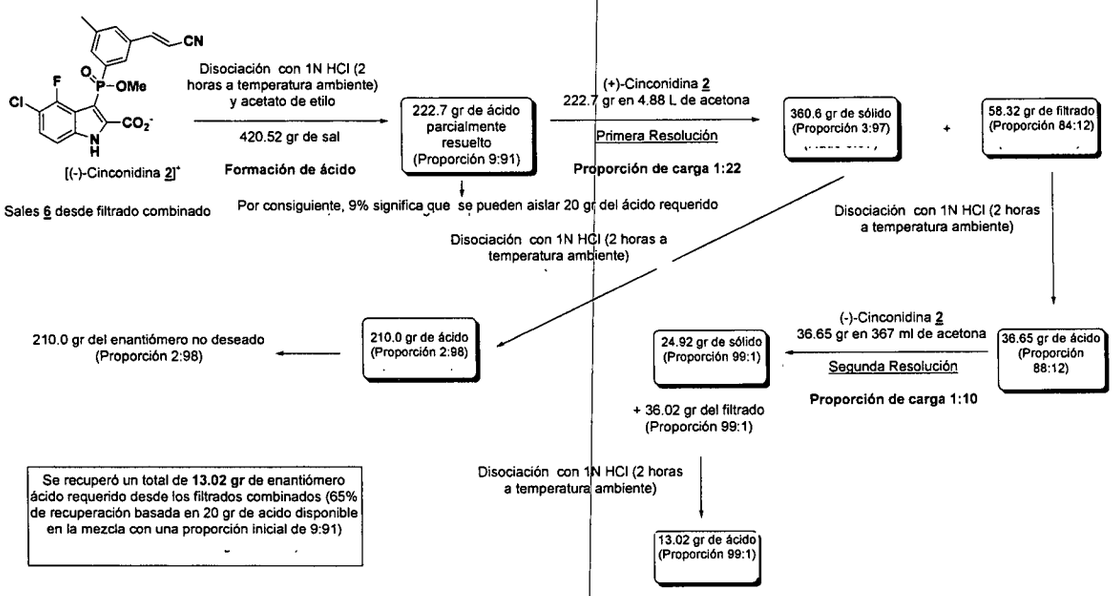
[00288] Por consiguiente, se aislaron 145.44 gramos del enantiómero del ácido requerido (68 por ciento de recuperación basándose en 216.3 gramos del enantiómero de ácido disponible a partir de 432.6 gramos del ácido racémico). 420.52 gramos adicionales de sal a partir del filtrado se trataron adicionalmente para recuperar más enantiómero requerido.

2. Recuperación a partir del filtrado

Disociación del ácido de la sal

[00289] La sal combinada parcialmente resuelta **4** (420.52 gramos) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (6.31 litros) y HCl 1N (6.31 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas (**Esquema 18**). Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (3 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido parcialmente resuelto como un sólido grisáceo (222.7 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 9:91)

Recuperación del enantiómero requerido a partir del filtrado



Esquema 18

Primera resolución – utilizando la (+)-Cinconina 3

[00290] El indol de ácido parcialmente resuelto (222.7 gramos, 409.25 moles, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 9:91) se suspendió en acetona (4.38 litros), y se

agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó (+)-Cinconina **3** (120.48 gramos, 409.25 milimoles) en una porción y, después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de 5 minutos adicionales, se observó la precipitación rápida de un sólido blanco, y la suspensión espesa requirió de acetona adicional (0.5 litros - volumen total de acetona utilizada = 4.88 litros), para permitir la agitación de la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 horas adicionales (total 4 horas). Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con acetona (400 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 360.6 gramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 3:97), y 58.32 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 84:12).

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero indeseado

[00291] La sal parcialmente resuelta (360.6 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 3:97) se suspendió en una mezcla de dicloro-metano (5.4 litros) y HCl 1N (5 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con dicloro-metano (2 litros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (210.0 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 2:98).

[00292] ^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d_6-DMSO): 2.35 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.78 (3H, d, POC*H*$_3$), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.46 (2H, d,

Ar-*H*), 7.66 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.69, 7.81 (2H, 2 x d, *H*-6, *H*-7), 7.77 (1H, s, Ar-*H*), 13.63 (1H, s, N-*H*), 15.70 (1H, br-s, COO*H*); ^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d_6-DMSO): 36.44 (1P, s); ^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d_6-DMSO): -114.27 (1F, s); *m/z* (ESI+): 433.0 (MH^+, 100 por ciento), 435.0 (MH^+, 35 por ciento).

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero requerido a partir del filtrado

[00293] La sal parcialmente resuelta (58.32 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 84:12) se suspendió en una mezcla de dicloro-metano (875 mililitros) y HCl 1N (875 mililitros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con dicloro-metano (400 mililitros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido parcialmente resuelto como un sólido grisáceo (36.65 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 88:12).

Segunda resolución – utilizando la (-)-Cinconidina 2

[00294] El indol de ácido parcialmente resuelto (36.65 gramos, 85.0 milimoles, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 88:12) se suspendió en acetona (367 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (-)-Cinconidina **2** (25.02 gramos, 85.0 milimoles) en una porción y, después de 1 hora, se observó una solución transparente. Después de 1 hora adicional, se observó la precipitación de un sólido blanco, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas adicionales (total 4 horas). El sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con acetona (100 mililitros).

El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 24.92 gramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 99:1), y 36.65 gramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 49:51).

Disociación del ácido de la sal para obtener el enantiómero requerido a partir del filtrado

[00295] La sal parcialmente resuelta (24.92 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 99:1) se suspendió en una mezcla de dicloro-metano (374 mililitros) y HCl 1N (374 mililitros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con dicloro-metano (200 mililitros), y los extractos orgánicos que contenían el producto se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido grisáceo (13.02 gramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 99:1).

[00296] ^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d_6-DMSO): 2.35 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.78 (3H, d, POC*H*$_3$), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.46 (2H, d, Ar-*H*), 7.66 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.69, 7.81 (2H, 2 x d, *H*-6, *H*-7), 7.77 (1H, s, Ar-*H*), 13.63 (1H, s, N-*H*), 15.70 (1H, br-s, COO*H*); ^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d_6-DMSO): 36.44 (1P, s); ^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d_6-DMSO): -114.27 (1F, s); *m/z* (ESI+): 433.0 (MH^+, 100 por ciento), 435.0 (MH^+, 35 por ciento).

Recuperación

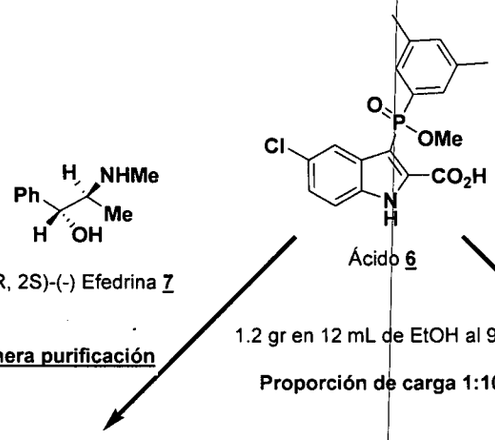
[00297] Por consiguiente, se recuperaron 13.02 gramos del enantiómero requerido a partir del filtrado.

Recuperación total del enantiómero de ácido requerido:-

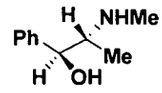
145.44 gramos + 13.02 gramos = 158.46 gramos (de los

posibles 216.3 gramos a partir de 432.6 gramos del ácido racémico) = 73 por ciento de rendimiento.

[00298] La resolución del ácido libre de 3-fosfoindol **6** se llevó a cabo sobre 1.02 gramos del compuesto utilizando (1R,2S)-Efedrina **7** y hemihidrato de (1S,2R)-Efedrina **8** en EtOH al 95 por ciento (**Esquema 19**). El principio de esta resolución es el mismo que aquél descrito anteriormente utilizando las bases de Cinconidina.



(1R, 2S)-(-) Efedrina **7**



(1R, 2S)-(+) Hemihidrato de efedrina **8**

1.2 gr en 12 mL de EtOH al 95%

Proporción de carga 1:10

Primera purificación

558 mg de sólido (+ 7.6 mg de filtrado)

Segunda purificación
(558 mg en 12mL de EtOH al 95%

Proporción de carga 1:20

236 mg de sólido (+ 197 mg de filtrado)

Disociación con 1N HCl (3 horas a temperatura ambiente) y acetato de etilo

106 mg de ácido resuelto

Señal HPCL a los 9.39 mins (99% puro)

$[\alpha]_D$ = -59.1°

Rendimiento total = 18%
(basado en posibles 0.6 gr de 1.2 gr de ácido racémico)

Primera purificación

618 mg de sólido (+ 840 mg de filtrado)

Segunda purificación
(618 mg en 12mL de EtOH al 95%

Proporción de carga 1:19

250 mg de sólido (+ 127 mg de filtrado)

Disociación con 1N HCl (3 horas a temperatura ambiente) y acetato de etilo

108 mg de ácido resuelto

Señal HPCL a los 13.11 mins (99% puro)

$[\alpha]_D$ = -59.2°

Rendimiento total = 18%
(basado en posibles 0.6 gr de 1.2 gr de ácido racémico)

Esquema 19

Ejemplo 4

1. **Primera resolución – utilizando la (1R,2S)-(-)-Efedrina 7**

[00299] El 3-fosfoindol de ácido libre **6** (1.2 gramos, 3.17 milimoles) se suspendió en etanol al 95 por ciento (12 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (1R,2S)-(-)-Efedrina **7** (0.52 gramos, 3.17 milimoles) en una porción y, después de 5 minutos, se observó una solución transparente. Después de 5 minutos adicionales, se observó la precipitación rápida de un sólido blanco, y se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con etanol al 95 por ciento (2 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 558 miligramos del sólido precipitado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 14:86), y 706 miligramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 74:26).

Segunda resolución

[00300] La sal parcialmente resuelta del **6** (558 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 14:86) se suspendió en etanol al 95 por ciento (12 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado durante 3 horas. Después de este tiempo, el sólido se aisló mediante filtración, y se lavó con etanol al 95 por ciento (2 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 236 miligramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 1:99), y 197 miligramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 25:75).

Disociación del ácido de la sal

[00301] La sal resuelta del **6** (236 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 1:99) se suspendió en una

mezcla de acetato de etilo (7 mililitros) y HCl 1N (7 mililitros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, (se requirieron acetato de etilo (3 mililitros) y HCl 1N (3 mililitros) adicionales para transferir el material desde el matraz), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (6 mililitros, 2 veces), y los extractos orgánicos se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido blanco (106 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 1:99, $[\alpha]_D$ = -59.1°).

[00302] ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz): δ 2.27 (6H, s, 2 x Ar-C<u>H</u>$_3$), 3.71 (3H, d, J 11.72 Hz, P-OC<u>H</u>$_3$), 7.2-7.30 (1H, m), 7.35-7.45 (m, 3H), 7.57-7.6 (m, 1H), 7.78-7.79 (m, 1H), 12.99 (1H, s, CO_{2H}), 14.73 (1H, br-s, NH); ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 161.8 MHz): δ35.41; *m/z* (ES+) 378 $(M+H)^+$.

2. Primera resolución – utilizando la (1S,2R)-(+)-Efedrina 8

[00303] El indol de ácido libre <u>6</u> (1.2 gramos, 3.17 milimoles) se suspendió en etanol al 95 por ciento (12 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado. Se agregó la (1S,2R)-(+)-Efedrina <u>8</u> (0.55 gramos, 3.17 milimoles) en una porción y, después de 5 minutos, se observó una solución transparente. Después de 5 minutos adicionales, se observó la precipitación rápida de un sólido blanco, y se continuó la agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, el sólido precipitado se aisló mediante filtración, y se lavó con etanol al 95 por ciento (0.5 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 618 miligramos del sólido precipitado (pureza mediante análisis de

HPLC quiral, proporción = 94:6), y 840 miligramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 25:75).

Segunda resolución

[00304] La sal parcialmente resuelta (618 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 94:6) se suspendió en etanol al 95 por ciento (12 mililitros), y se agitó a temperatura ambiente en un matraz sellado durante 3 horas. Después de este tiempo, el sólido se aisló mediante filtración, y se lavó con etanol al 95 por ciento (0.5 mililitros). El filtrado se concentró al vacío, y tanto el sólido precipitado como el residuo a partir del filtrado, se secaron durante la noche al vacío, para proporcionar 250 miligramos del sólido (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 100:0), y 127 miligramos del filtrado (pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 85:15).

Disociación del ácido de la sal

[00305] La sal resuelta del 6 (250 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral 100:0) se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (7 mililitros) y HCl 1N (7 mililitros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 3 horas. Después de este tiempo, la mezcla de reacción se transfirió a un embudo, (se requirieron acetato de etilo (3 mililitros) y HCl 1N (3 mililitros) adicionales para transferir el material desde el matraz), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (6 mililitros, 2 veces), y los extractos orgánicos se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron al vacío, para proporcionar el ácido resuelto como un sólido blanco (108 miligramos, pureza mediante análisis de HPLC quiral, proporción = 100:0, $[\alpha]_D$ = +59.2°)

[00306] ^{1}H RMN (d_6-DMSO, 400 MHz): δ 2.27 (6H, s, 2 x Ar-C$\underline{H}_3$), 3.71 (3H, d, J 11.72 Hz, P-OC$\underline{H}_3$), 7.2-7.30 (1H, m), 7.35-

7.45 (m, 3H), 7.57-7.6 (m, 1H), 7.78-7.79 (m, 1H), 12.99 (1H, s, CO_{2H}), 14.73 (1H, br-s, NH); ^{31}P RMN (d_6-DMSO, 161.8 MHz): δ35.41;. *m/z* (ES+) 378 $(M+H)^+$.

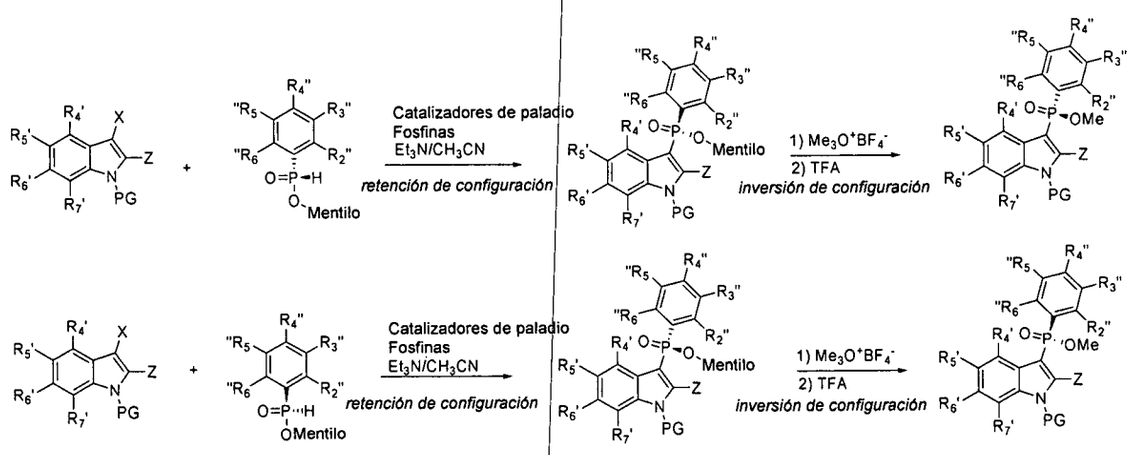
Recuperación

[00307] La recuperación total es del 18 por ciento a partir del ácido racémico **6** utilizando ya sea la (1R,2S)-efedrina **7** o bien el hemihidrato de (1S,2R)-Efedrina **8** pero sin optimización alguna del proceso.

Ejemplo 5

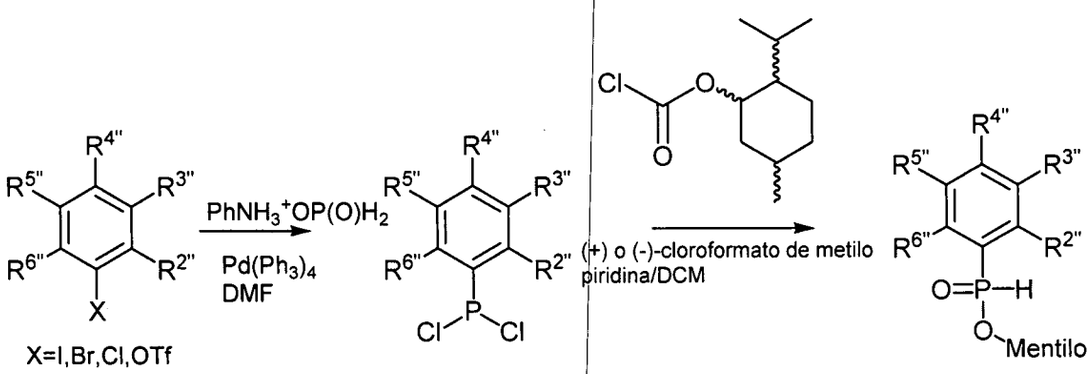
Síntesis quiral de los 3-Fosfoindoles

[00308] Síntesis con intermediarios ópticamente puros, en donde el centro quiral se conserva completamente o se invierte completamente. En este caso, la base utilizada para el acoplamiento cruzado (por ejemplo, Et_3N) no es suficientemente fuerte para permitir que se presente la racemización del fosfinato H-P de partida (contrariamente al proceso de resolución cinética dinámica). La reacción de acoplamiento cruzado procede con retención de la configuración. La disociación del fosfinato de mentilo utilizando la sal de trialquil-oxonio, seguida por tratamiento ácido, proceden con inversión de la configuración (J. Org. Chem 1975, 1523-1525). Este proceso se ilustra en el Esquema **20**.



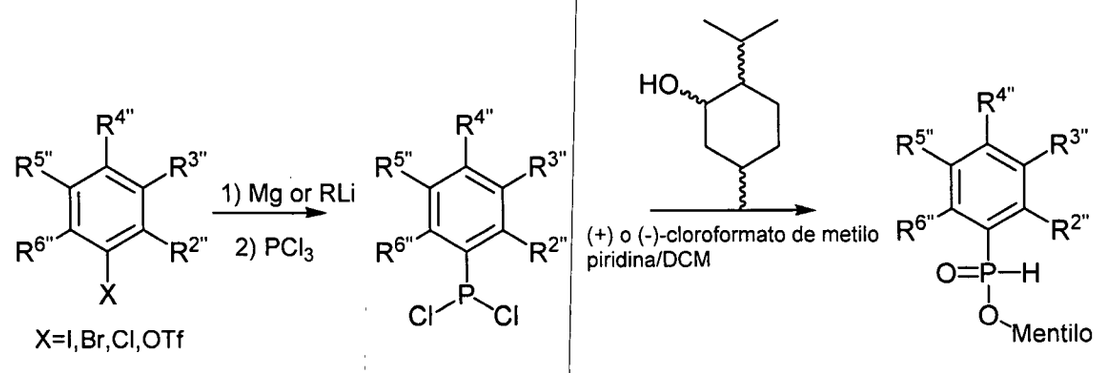
Esquema 20

[00309] La preparación del compuesto de fosfinato de mentilo se lleva a cabo en dos pasos a partir de haluros de arilo o triflatos (**Esquema 21**). El primer paso es la preparación del ácido H-fosfínico de acuerdo con los métodos descritos, tales como el trabajo de Montchamp y colaboradores, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*: 510-511 y Montchamp y colaboradores, *J. Organomet. Chem.* **2002**, *643-644*: 154-163. El segundo paso es una reacción de Hewitt, tal como se describe en *Tetrahedron Lett.* **2003**, 781-783.



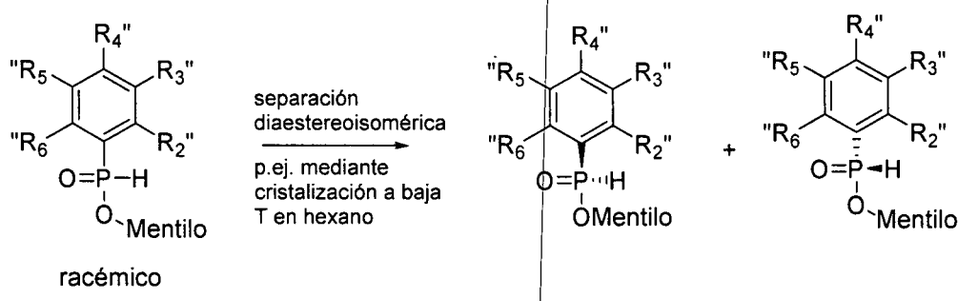
Esquema 21

[00310] Un segundo planteamiento para sintetizar el fosfinato de mentilo empieza también a partir de un haluro de arilo para producir el dicloro-fosfito, con el método disponible en la literatura (**Esquema 22**). Entonces, el ataque del (-) o (+)-mentol da el fosfinato de metilo como una mezcla diaestereomérica, como se describe en *J.Am.Chem.Soc.* **1967**, *90*, 3459-3465.



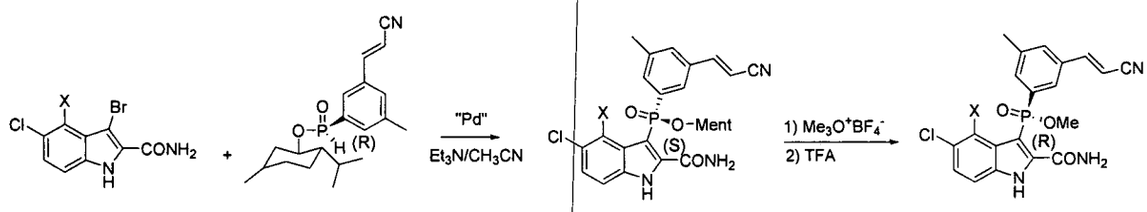
Esquema 22

[00311] La separación de los diaestereoisómeros se realiza mediante cristalización utilizando o adaptando las condiciones descritas en *J.Am.Chem.Soc.* **1970**, *92*, 5809-5810, *Heteroatom Chemistry* **1995**, 6, 365-70, *Russ.J.Gen.Chem.* **2005,** *75*, 656-657 (**Esquema 23**).

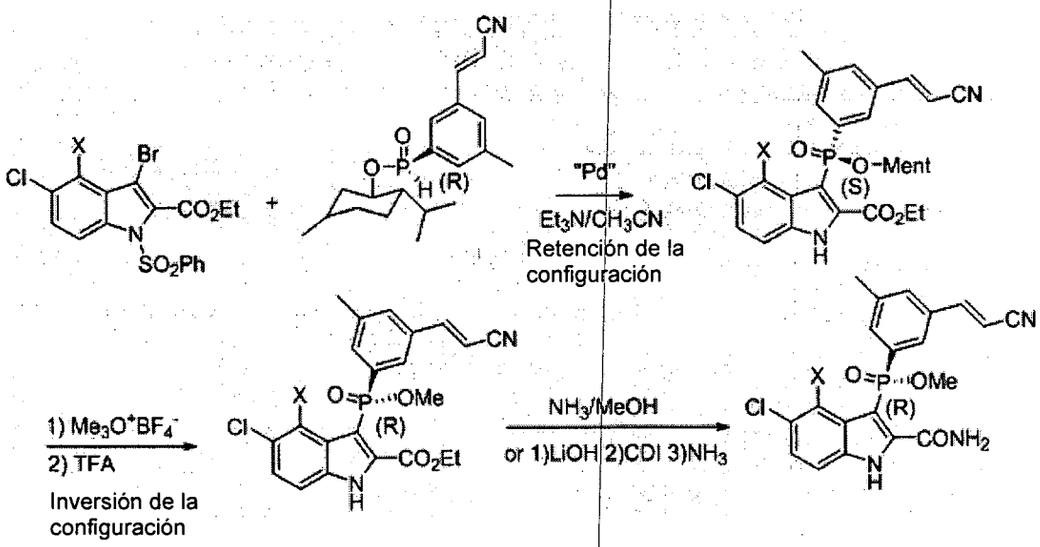


Esquema 23

[00312] Los **Esquemas 24** y **25** ilustran la síntesis quiral de los 3-fosfoindoles de las fórmulas I y III utilizando este planteamiento:



Esquema 24



Esquema 25

[00313] Para la separación analítica de los enantiómeros, las condiciones para el análisis de HPLC quiral son:

Columna: DAICEL CHIRALPAK® AD-H, 5 micras, 250 x 4.6 milímetros de diámetro interno

Fase móvil A: Metanol

Fase móvil B: IPA + ácido trifluoro-acético al 0.5 por ciento

Isocrática: A/B (25/75)

Velocidad de flujo: 0.4 mililitros/minuto

Detección: PDA max, gráfica 210-400 nanómetros

Enantiómero 1 RT = 13.4 minutos;

Enantiómero 2 RT = 19.6 minutos.

Método de preparación:

Inyección de 2 gramos de mezcla racémica (IM403):

Columna: DAICEL CHIRALPAK® AD 20 micras, 260 x 50 milímetros de diámetro

interno

Fase móvil:	50 etanol/50 metanol/0.1 dietil-amina (volumen/volumen /volumen)
Velocidad de flujo:	120 mililitros/minuto
Detección:	UV 320 nanómetros
Enantiómero 1	RT = 7.0 minutos;
Enantiómero 2	RT = 25.3 minutos.

Otro planteamiento para la síntesis de los 3-fosfoindoles enantioméricamente puros se ilustra en los Esquemas 49 y 50.

[00314] La determinación de la eficiencia del estereocontrol para cada paso se debe llevar a cabo mediante ^{31}P RMN y HPLC, con el objeto de confirmar si la retención o inversión predichas están completas, o si se observa mezcla de diaestereómeros. El paso más sensible podría ser la desprotección del borano, el cual requiere calor. A partir de esta etapa, la medición del exceso enantiómerico requiere del uso de una columna analítica de HPLC quiral.

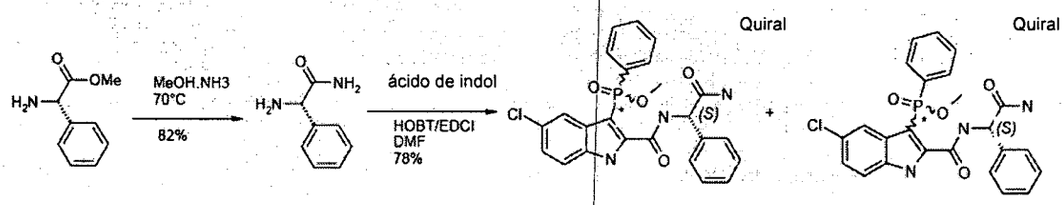
[00315] Si la configuración en el fósforo es controlada al 100 por ciento en cada paso, el precursor individual **4** puede conducir también a los dos diferentes enantiómeros **8** o **12**, dependiendo de la senda química seleccionada.

Ejemplo 6

Resolución de Intermediarios Diaestereoméricos

[00316] Un método adicional para la preparación de los 3-fosfoindoles enantioméricamente puros se apoya en la preparación de diaestereómeros mediante la funcionalización de los indoles con reactivos quirales. El uso de aminoácidos quirales para preparar los 3-fosfoindoles diaestereoméricos se ilustra en el Esquema **26**. La quiralidad-S en el átomo de carbono del

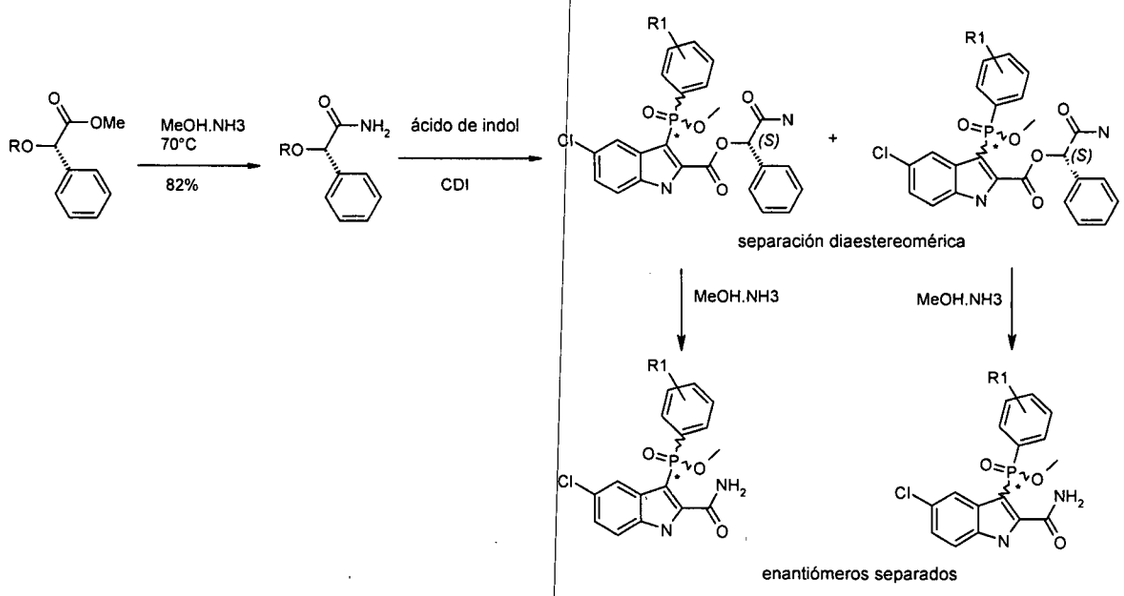
aminoácido-alfa queda sin cambios. La síntesis se hace como sigue:



Esquema 26

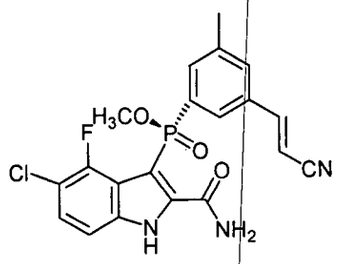
Los 2 diaestereómeros se separan utilizando una columna de sílice convencional.

[00317] Esta estrategia se puede aplicar para preparar otras amidas diaestereoméricas con bencil-aminas enantioméricamente puras, por ejemplo, o para preparar ésteres diaestereoméricos en lugar de las amidas que se podrían disociar después de la separación diaestereomérica para liberar el enantiómero separado. Este planteamiento se muestra en el siguiente Esquema **27**.

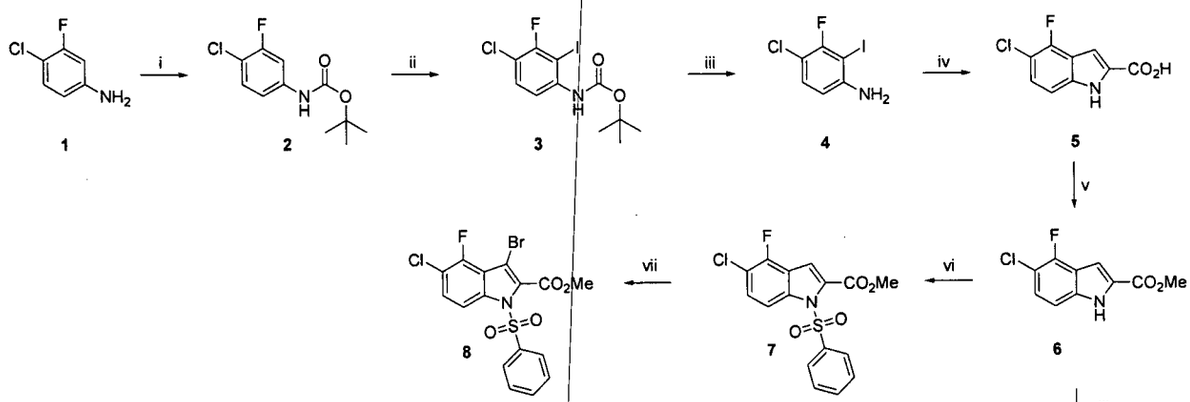


Esquema 27

Ejemplo 7



Preparación del Compuesto I

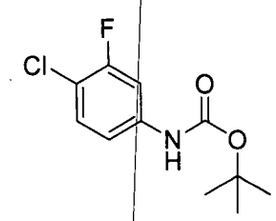


Condiciones:
i. Boc_2O 3.0eq, *n*-heptano, 90°C 4hr
ii. *n*-BuLi 3.1eq, I_2 3.5eq, -80°C < T < -75°C
iii. 1. c.HCl 6.0eq, 55°C; 2. 2M NaOH, 15°C
iv. DABCO, Ácido pirúvico, $Pd(OAc)_2$
v. 1. CDI, DMF; 2. MeOH or EtOH
vi. 1. NaH, DMF; 2. $PhSO_2Cl$
vii. Br_2, DCM
viii. DBDMH, THF
ix. 1. NaH, DMF; 2. $PhSO_2Cl$

Etil ester alternativo

Parte A: Síntesis del intermediario de 3-bromo-indol

Compuesto 102



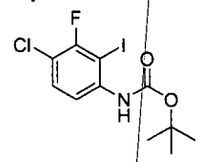
[00318] La 4-cloro-3-fluoro-anilina (250.3 gramos, 1.719

moles) se agregó a un matraz de fondo redondo, de 4 cuellos, de 5 litros, equipado con agitador superior, condensador de reflujo, manto de calentamiento, controlador de temperatura, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargaron en el matraz heptano normal (2,000 mililitros), y dicarbonato de diterbutilo (450.3 gramos, 2.064 moles). La mezcla se agitó bajo argón a temperatura ambiente durante 15 minutos, permitiendo la disolución de la mayoría de los sólidos. La mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas bajo argón (precaución: generación of CO_2). El análisis de la mezcla de reacción mediante el método de HPLC, Prueba 20 (THF:MeCN, 1:1) indicó una conversión completa del material de partida (R_t 4.57 minutos) hasta un producto (R_t 6.17 minutos).

[00319] La reacción se dejó enfriar a 50-55°C y se transfirió en dos porciones a un matraz de fondo redondo de un cuello, de 3 litros. Se removió un total de 1,500 mililitros del destilado mediante concentración al vacío a 45°C, para dar una solución color durazno con cristales blancos. La pasta acuosa se dejó enfriar a temperatura ambiente, con agitación durante 1.5 horas. El matraz se guardó a 4°C durante 15 horas, después de cuyo tiempo, los cristales se filtraron al vacío, y se lavaron con heptano normal frío (400 mililitros).

[00320] Después de secarse a 35°C al vacío durante 7 horas, se obtuvieron cristales blancos muy finos del **compuesto 102** (393.1 gramos, 93 por ciento de rendimiento). **Compuesto 102:** $C_{11}H_{13}ClFNO_2$ 245.68gmol^{-1}. Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN): R_t 6.16 minutos; pureza del 99 por ciento @ 254 nanómetros. **p.f.**: 103-104°C. ^{1}H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 1.51 (9H, s, 3 x C*H*$_3$), 6.56 (1H, br-s, N-*H*), 6.94, 7.25, 7.35 (3 x 1H, 3 x m, 3 x Ar-*H*).

Compuesto 103



[00321] El **compuesto 102** (80.2 gramos, 0.326 moles), se agregó a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 3 litros, equipado con agitador superior, una sonda de temperatura interna, embudo de adición de 500 mililitros, y una entrada de argón. Se cargó tetrahidrofurano anhidro (640 mililitros) al matraz, y se enfrió utilizando un baño de hielo seco más nitrógeno líquido, asegurando una temperatura interna de -80°C < T < -75°C en todos los tiempos durante la reacción. El n-butil-litio (405 mililitros, 1.011 moles) se transfirió por medio de cánula al embudo llenado con argón, y se le agregan por goteo a la solución con salpicado mínimo durante 2 horas. Después de añejar durante 40 minutos, se agregó por goteo una solución de yodo (289.9 gramos, 1.142 moles) en tetrahidrofurano anhidro (430 mililitros + 100 mililitros de enjuague), a la mezcla de reacción fría, asegurando una temperatura interna de -80°C < T < -75°C durante 3 horas.

La mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a -30°C durante 14 horas, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (la muestra se apagó con $NaHSO_3$ acuoso, se diluyó con MeCN, y entonces la capa de MeCN se diluyó con MeOH) indicó la conversión casi completa del material de partida (Rt 6.17 minutos, 1.6 por ciento @ 254 nanómetros) hasta un producto (Rt 6.73 minutos).

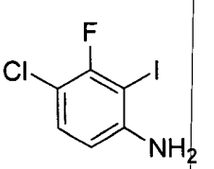
[00322] Se agregó gradualmente una solución de NH_4Cl (41.6 gramos en 160 mililitros de agua), seguida por una solución de $NaHSO_3$ (184.8 gramos en 560 mililitros de agua) asegurando una T < -10°C. La mezcla apagándose se dejó calentar a 10°C con

agitación durante 1.5 horas.

[00323] Después de transferir la mezcla a un matraz de un cuello, se removieron 1,370 mililitros del destilado de tetrahidrofurano, y se agregó agua (500 mililitros). La mezcla se agitó vigorosamente a 4°C durante 15 horas, y se filtró. Después de lavar con agua (400 mililitros) se obtuvo un sólido color beige con un filtrado incoloro el cual no contenía producto de acuerdo con la HPLC.

[00324] El sólido se disolvió en etanol caliente (65°C) (700 mililitros), y se filtró mientras estaba caliente para remover el material insoluble (3.5 gramos, ningún producto de acuerdo con la HPLC). El filtrado obtenido se concentró a 45°C al vacío hasta 150 mililitros, en cuyo punto, los sólidos empezaron a precipitarse. Se agregó por goteo agua (32 mililitros) a la mezcla, la cual entonces se enfrió lentamente a 4°C durante 1.5 horas. La filtración al vacío, el lavado con etanol:agua 2:1 a 4°C (250 mililitros), y el secado al vacío a 40°C, dieron el **compuesto 103** como un sólido amarillo pálido (114.1 gramos, 94 por ciento de rendimiento). **Compuesto 103:** $C_{11}H_{12}ClFINO_2$ 371.57gmol^{-1}. Análisis de HPLC **(Prueba 20, MeOH):** R_t 6.73 minutos; pureza del 99 por ciento @ 272 nanómetros. **p.f.**: 66-67°C. **^{1}H RMN** δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 1.45 (9H, s, 3 x C*H*$_3$), 7.27 (1H, dd, Ar-*H*), 7.55 (1H, t, Ar-*H*), 8.70 (1H, s, CON-*H*). **^{13}C RMN** δ_C (100 MHz, $CDCl_3$): 28.04 (C(*C*H$_3$)$_3$), 79.73 (*C*(CH$_3$)$_3$), 86.23, 86.49 (*C*-I), 115.11, 115.32 (*C*-Cl), 122.35, 122.38 (*C*-N), 129.89 (*C*-H), 140.99, 141.02 (*C*-H), 152.94 (*C*=O), 155.47, 157.87 (*C*-F).

Compuesto 104



[00325] El **compuesto 103** (110.0 gramos, 0.296 moles) se

agregó a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 3 litros, equipado con agitador superior, condensador de reflujo, baño de agua, embudo de adición de 250 mililitros, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargó etanol (900 mililitros) en el matraz, y se enfrió a 5°C. Se agregó por goteo ácido clorhídrico (37 por ciento, 145.9 mililitros), manteniendo la temperatura interna debajo de 15°C.

[00326] La mezcla se calentó a 50-55°C durante 2 horas, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeOH) indicó una conversión completa del material de partida (Rt 6.73 minutos) hasta un producto (Rt 5.44 minutos). La reacción se enfrió a 5°C, y se agregó gradualmente una solución de **NaOH** (preparada como 80.0 gramos en 1,000 mililitros de agua, se agregaron 865 mililitros), manteniendo la temperatura debajo de 15°C, monitoreando el pH hasta quedar neutro. La mezcla se transfirió a un matraz de un cuello, y se almacenó a 4°C durante 15 horas.

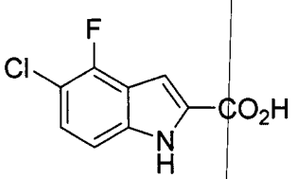
[00327] Se removió un total de 970 mililitros del destilado mediante concentración al vacío a 35°C, para dar una solución incolora con sólidos precipitados. La pasta acuosa se dejó enfriar a 4°C durante 1 hora, después de cuyo tiempo, el sólido se filtró al vacío y se lavó con etanol:agua 1:4 a 4°C (200 mililitros). Después de secar a 35°C al vacío durante 72 horas, se obtuvo el **compuesto 104** impuro (80 gramos, 99 por ciento de rendimiento, pureza del 95 por ciento a 254 nanómetros).

[00328] El sólido se disolvió en etanol caliente (60°C) (450 mililitros), y se filtró mientras estaba caliente para remover el material fino insoluble. El filtrado obtenido se concentró a 35°C al vacío hasta 175 mililitros, en cuyo punto, se agregó por goteo agua (70 mililitros) a la mezcla durante 3 a 4 horas, la cual entonces se enfrió lentamente a 4°C y se agitó durante 0.5 horas

adicionales. La filtración al vacío, el lavado con etanol:agua 3:2 a 4°C (100 mililitros), y el secado al vacío a 35°C, dieron el **compuesto 104** como agujas color naranja (70.5 gramos, 88 por ciento de rendimiento, pureza del 98 por ciento @ 272 nanómetros). Se obtuvo una segunda cosecha del material a partir del licor madre como un sólido amarillo pálido (4.6 gramos, 5 por ciento, pureza del 98 por ciento a 272 nanómetros). Rendimiento combinado=93 por ciento. **Compuesto 104:** C_6H_4ClFIN 271.45gmol^{-1}.

Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN): R_t 5.44 minutos; pureza del 98 por ciento @ 272 nanómetros. **p.f.:** 80.5-81°C. **ESI +ve**: *m/z* 271.9 $[M+H]^+$ 65 por ciento; 312.9 $[M+MeCN+H]^+$ 100 por ciento. **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 5.69 (2H, s, 2 x N-*H*), 6.55 (1H, d, Ar-*H*), 7.18 (1H, t, Ar-*H*). **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 70.97, 71.24 (*C*-I), 104.03, 104.25 (*C*-Cl), 110.14, 110.17 (*C*-H), 129.90 (*C*-H), 150.09, 150.14 (*C*-N), 155.45, 157.82 (*C*-F). **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -91.60 (1F, d).

Compuesto 105



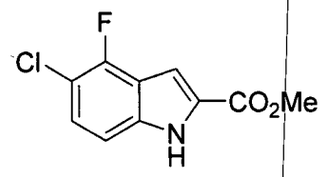
[00329] El **compuesto 104** (74.5 gramos, 0.275 moles) se agregó a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 2 litros, equipado con agitador superior, condensador de reflujo, manto de calentamiento, controlador de temperatura, embudo de adición de 250 mililitros, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargó *N*,*N*-dimetil-formamida (575 mililitros) al matraz a temperatura ambiente. Se agregó DABCO (95.5 gramos, 0.851 moles) en una porción y la temperatura interna bajó

hasta 15°C. La mezcla se agitó durante 20 minutos para efectuar la disolución, y la solución se desgasificó mediante burbujeo de argón a través de ella vigorosamente durante 10 minutos. Se agregó ácido pirúvico (57.33 mililitros, 0.824 moles), a la solución color café durante 10 minutos y la temperatura interna se elevó hasta 36°C. La solución se desgasificó nuevamente con argón durante 10 minutos, y se agregó acetato de paladio (678 miligramos, 0.0030 moles) en una porción.

[00330] La mezcla se calentó a 100°C durante 3 horas, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeCN, filtrado) indicó una conversión completa del material de partida (Rt 5.44 minutos) hasta un producto (Rt 3.64 minutos). La reacción se enfrió a temperatura ambiente durante 15 horas, y subsiguientemente a 5°C. Se agregó gradualmente una solución del ácido clorhídrico (1.15N, 575 mililitros, y luego 0.115N, 280 mililitros), manteniendo la temperatura debajo de 10°C, monitoreando el "pH" hasta un pH = 3.5. Se precipitó un sólido bronceado a partir de la solución, y la mezcla se agitó durante 0.5 horas adicionales a 5°C. El sólido se filtró al vacío y se lavó con agua a 10°C (200 mililitros, 3 veces). Después de secarse a 40°C al vacío durante 36 horas, se obtuvo el **compuesto 105** (55.9 gramos, 95 por ciento de rendimiento). **Compuesto 105:** $C_9H_5ClFNO_2$ 213.59gmol^{-1} **Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN):** R_t 3.63 minutos; pureza del 99 por ciento @ 272 nanómetros **ESI -ve:** *m/z* 212.1 $[M-H]^-$ 10 por ciento; 168.1 $[M-COOH]^-$ 100 por ciento **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 7.10, 7.11 (1H, d, Ar-*H*), 7.25-7.32 (2H, m, 2 x Ar-*H*), 12.30, 13.33 (2 x 1H, 2 x s, N-*H*, COO-*H*) **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 102.45 (*C*-3), 108.76, 108.92 (*C*-9), 110.20, 110.24 (*C*-6), 116.88, 117.09 (*C*-5), 125.46 (*C*-7), 130.34 (*C*-2), 137.90, 138.00 (*C*-8), 149.76, 152.25 (*C*-4), 162.12 (*C*=O) **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -

121.35 (1F, d).

Compuesto 106

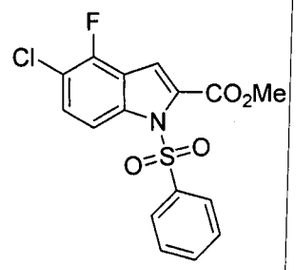


[00331] El **compuesto 105** (55.9 gramos, 0.262 moles) se agregó a un matraz de fondo redondo, de 4 cuellos, de 5 litros, equipado con agitador superior, embudo de adición, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargó *N*,*N*-dimetil-formamida (695 mililitros) al matraz a temperatura ambiente bajo argón, agitando durante 20 minutos, para obtener una solución color café. Se agregó carbonil-di-imidazol (51.0 gramos, 0.314 moles) en una porción, dando una suspensión color café. La mezcla se agitó durante 1 hora bajo argón a temperatura ambiente, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeOH para dar el éster de Me, filtrado) indicó una conversión incompleta del material de partida (Rt 3.64 minutos, 0.5 por ciento) hasta el producto mayor (Rt 5.48 minutos) más intermediario (Rt 4.77 minutos). Se agregaron carbonil-di-imidazol (0.43 gramos, 0.0026 moles) y *N*,*N*-dimetil-formamida (45 mililitros) adicionales, y la reacción se agitó durante 2 horas adicionales, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeOH para dar el éster de Me, filtrado) indicó una conversión completa del material de partida (Rt 3.64 minutos) hasta el producto (Rt 5.48 minutos). Se agregó metanol (297 mililitros, 7.34 moles) a la mezcla de reacción agitada bajo argón a 24°C, para dar una suspensión color café nebulosa. Después de 3 horas, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeCN, filtrado) indicó un producto (Rt 5.48 minutos). La mezcla de reacción se enfrió utilizando un baño de

hielo, y se agregó agua (2,000 mililitros) durante 0.5 horas, manteniendo la temperatura interna a 15-20°C, para precipitar un sólido bronceado. El sólido se filtró al vacío y se lavó con agua a 5°C (400 mililitros, 2 veces). Después de secar al aire, el sólido se absorbió en dicloro-metano (800 mililitros), y acetato de etilo (1600 mililitros), y se secó con sulfato de sodio anhidro (400 gramos). La filtración a través de Celite, y la elución con dicloro-metano (1,000 mililitros) proporcionó una solución color naranja transparente. La solución se concentró al vacío a 30°C dejando una pasta acuosa de cristales en el acetato de etilo restante (160 mililitros). La pasta acuosa se enfrió a 5°C con un baño de hielo durante 15 minutos. La filtración al vacío, el lavado con acetato de etilo:*n*-heptano 1:1 a 4°C (100 mililitros, 2 veces), y luego 1:3 (100 mililitros), y el secado al vacío a 35°C, dieron el compuesto 6 como agujas blancas largas (37.3 gramos, rendimiento del 63 por ciento, pureza del 99 por ciento @ 272 nanómetros). Se obtuvo una segunda cosecha del material a partir del licor madre como agujas menos blancas (5.3 gramos, 9 por ciento, pureza del 98 por ciento a 272 nanómetros). Rendimiento combinado = 72 por ciento. **Compuesto 106:** $C_{10}H_7ClFNO_2$ 227.62 $gmol^{-1}$ **Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN):** R_t 5.48 minutos; pureza del 99 por ciento @ 272 nanómetros.

p.f.: 216.5-218°C **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 3.88 (3H, s, C*H*$_3$), 7.16 (1H, s, Ar-*H*), 7.27-7.35 (2H, m, 2 x Ar-*H*), 12.48 (1H, s, N-*H*) **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 52.15 (CO_2CH_3), 102.90 (*C*-3), 108.97, 109.12 (*C*-9), 110.27, 110.31 (*C*-6), 116.77, 116.98 (*C*-5), 125.84 (*C*-7), 128.82 (*C*-2), 138.00, 138.09 (*C*-8), 149.77, 152.26 (*C*-4), 161.05 (*C*=O) **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -121.11 (1F, d).

Compuesto 107

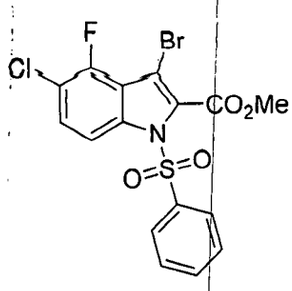


[00332] El **compuesto 106** (46.5 gramos, 0.204 moles) se agregó a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 2 litros, equipado con agitador superior, baño de hielo, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargó N,N-dimetil-formamida anhidra (450 mililitros) al matraz a temperatura ambiente bajo argón, agitando para obtener una solución color naranja. Se agregó hidruro de sodio (95 por ciento, 7.30 gramos, 0.290 moles) en porciones durante 45 minutos, manteniendo la temperatura interna debajo de 5°C. No se observó ningún desprendimiento de gas adicional. Se agregó por goteo cloruro de fenil-sulfonilo (35.8 mililitros, 0.280 moles) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura interna debajo de 10°C. La reacción se agitó durante 1 hora, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeCN) indicó una conversión incompleta del material de partida (Rt 5.48 minutos, 4 por ciento a 272 nanómetros) hasta el producto (Rt 6.42 minutos). Se agregaron porciones adicionales de hidruro de sodio (95 por ciento, 1.1 gramos) y cloruro de fenil-sulfonilo (4.0 mililitros), y la mezcla se agitó durante 1.5 horas adicionales. El análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (MeCN) indicó una conversión incompleta del material de partida (Rt 5.48 minutos, 3 por ciento a 272 nanómetros) hasta el producto (Rt 6.43 minutos). La reacción se procesó mediante la adición lenta de agua (770 mililitros) durante 25 minutos, asegurando que la temperatura

interna permaneciera debajo de 20°C, permitiendo la precipitación de un sólido amarillo. El sólido se filtró al vacío, se lavó con agua a 5°C (770 mililitros), y se secó a 37°C durante 15 horas. El sólido se absorbió en etanol (700 mililitros), y se calentó a 55°C con agitación durante 1 hora. La suspensión caliente se concentró al vacío a 40°C, removiendo 350 mililitros del destilado, entonces se dejó enfriar a 5°C durante 0.5 horas. La filtración al vacío, el lavado con etanol a 4°C (150 mililitros), y el secado al vacío a 40°C, dieron el **compuesto 107** como un sólido amarillo pálido (68.5 gramos, 91 por ciento de rendimiento). **Compuesto 107:** $C_{16}H_{11}ClFNO_4S$ 367.78 $gmol^{-1}$ **Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN):** R_t 6.43 minutos; pureza del 98 por ciento @ 272 nanómetros **p.f.:** 163°C expandido, 166-167°C fundido.

^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO): 3.88 (3H, s, C*H*$_3$), 7.51 (1H, s, Ar-*H*), 7.62-7.68 (3H, m, 3 x Ar-*H*), 7.77 (1H, t, Ar-*H*), 7.92 (1H, d, Ar-*H*), 8.04 (2H, d, Ar-*H*) **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 53.21 (CO_2CH_3), 110.60 (*C*-3), 112.30, 112.34 (*C*-6), 114.02, 114.17 (*C*-9), 117.93, 118.14 (*C*-5), 127.14 (2 x Ar-C), 128.78 (*C*-7), 129.85 (2 x Ar-C), 132.29 (*C*-2), 135.24 (*C*-para), 136.82 (*C*-ipso), 136.88, 136.96 (*C*-8), 149.37, 151.89 (*C*-4), 160.51 (*C*=O) **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -119.42 (1F, d)

Compuesto 108



[00333] El **compuesto 107** (68.4 gramos, 0.186 moles) se agregó a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 2

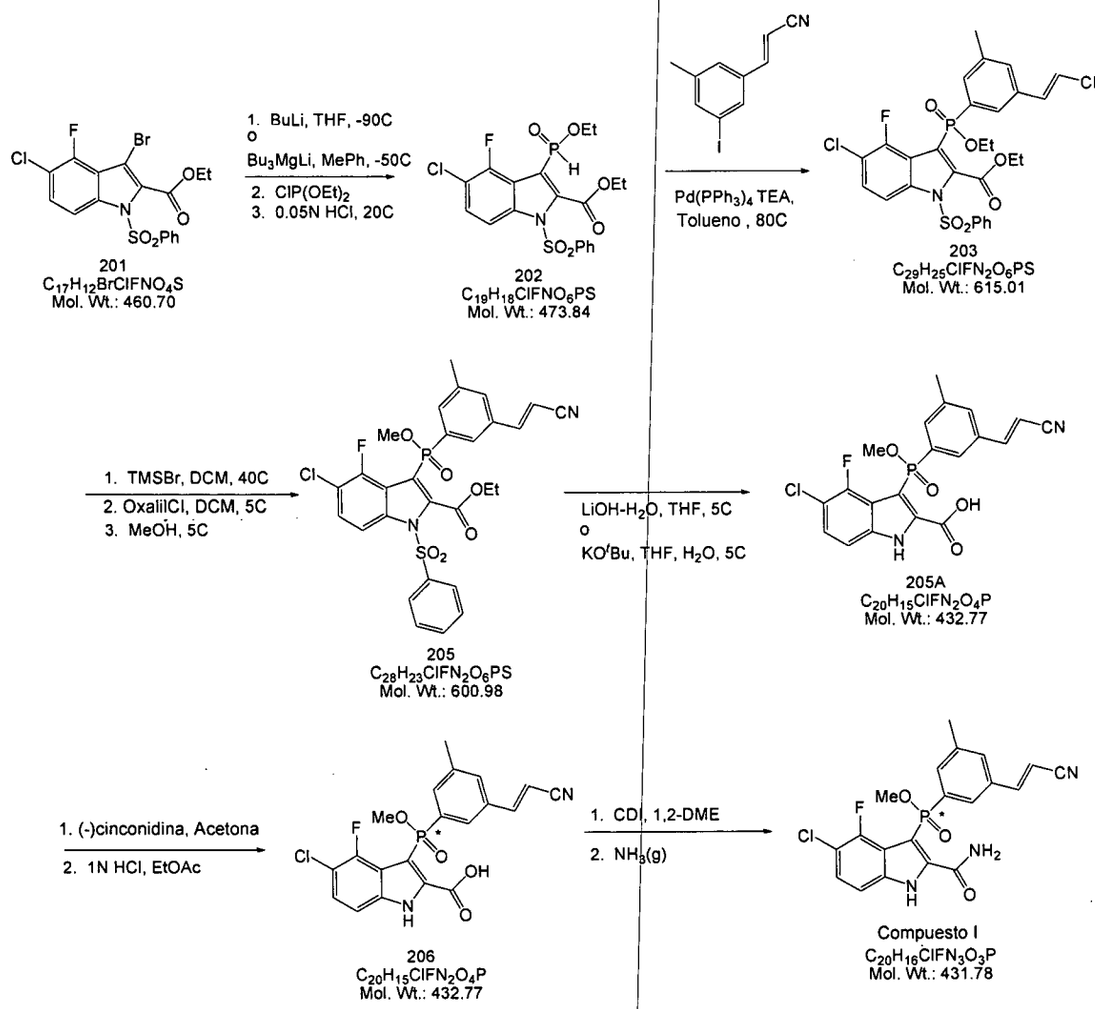
litros, equipado con agitador superior, embudo de adición, baño de hielo, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se cargó dicloro-metano anhidro (685 mililitros) al matraz a temperatura ambiente bajo argón, agitando para obtener una suspensión parcial. Se agregó por goteo bromo (11.5 mililitros, 0.223 moles) durante 20 minutos, manteniendo la temperatura interna debajo de 10°C, dando una mezcla color rojo profundo. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente durante 1 hora, después de cuyo tiempo, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (la muestra se apagó con $NaHSO_3$ acuoso, se diluyó con metanol, entonces el metanol se filtró, y se diluyó con MeCN) indicó una conversión incompleta del material de partida (Rt 6.43 minutos, 78 por ciento @ 272 nanómetros) hasta un producto menor (Rt 6.76 minutos). Se agregó bromo adicional (12.4 mililitros) en porciones durante el transcurso de las siguientes 6 horas, y la reacción se dejó agitándose a temperatura ambiente durante 14 horas, en cuyo punto, el análisis mediante el método de HPLC, Prueba 20 (la muestra se apagó con $NaHSO_3$ acuoso, se diluyó con metanol, entonces el metanol se filtró, y se diluyó con MeCN) indicó una conversión completa del material de partida (Rt 6.43 minutos) hasta un producto mayor (Rt 6.76 minutos). La reacción se apagó mediante la adición por goteo de una solución de $NaHSO_3$ (132 gramos en 400 mililitros de agua) asegurando una T < 15°C durante 30 minutos. Las capas se separaron, y la capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso saturado (400 mililitros, 2 veces). Las capas acuosas se extrajeron con dicloro-metano (400 mililitros), y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1,000 mililitros), y se secaron con sulfato de sodio anhidro (500 gramos). La filtración y la concentración al vacío a 28°C dieron un sólido amarillo crudo (78 gramos). El sólido se trituró en etanol caliente (650 mililitros)

a 50°C durante 1 hora. La suspensión caliente se concentró al vacío a 40°C, removiendo 450 mililitros del destilado, y entonces se dejó enfriar a 5°C durante 0.5 horas. La filtración al vacío, el lavado con etanol a 4°C (150 mililitros), y el secado al vacío a 25°C dieron el **compuesto 108** como un polvo amarillo pálido (72.6 gramos, 88 por ciento de rendimiento, pureza del 93 por ciento a 272 nanómetros). Este sólido se disolvió en acetato de etilo caliente (500 mililitros) a 50°C durante 1 hora. Se agregó lentamente etanol (200 mililitros) a 50°C, y se agitó durante 15 minutos. Empezó la precipitación, y la suspensión caliente se concentró al vacío a 40°C, removiendo 475 mililitros del destilado, y entonces se dejó enfriar a 5°C durante 0.5 horas. La filtración al vacío, el lavado con etanol a 4°C (150 mililitros), y el secado al vacío a 25°C, dieron el **compuesto 108**, 3-bromo-5-cloro-4-fluoro-1-bencen-sulfonil-indol-2-carboxilato de metilo, como un polvo amarillo pálido (57.4 gramos, 69 por ciento de rendimiento, pureza del 97 por ciento a 272 nanómetros). Se obtuvo una segunda cosecha del material a partir del licor madre como un sólido amarillo (9.6 gramos, 12 por ciento). Rendimiento combinado = 81 por ciento. 3-bromo-5-cloro-4-fluoro-1-bencen-sulfonil-indol-2-carboxilato de metilo. **Compuesto 108:** $C_{16}H_{10}BrClFNO_4S$ 446.68 $gmol^{-1}$ **Análisis de HPLC (Prueba 20, MeCN):** R_t 6.76 minutos; pureza del 97 por ciento @ 272 nanómetros **ESI +ve:** *m/z* 447.8 $[M+H]^+$ 90 por ciento; 464.8 $[M+NH_4]^+$ 100 por ciento

ESI -ve: *m/z* 445.9 $[M-H]^-$ 100 por ciento **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 3.99 (3H, s, C*H*$_3$), 7.66 (3H, t, 3 x Ar-*H*), 7.78 (1H, t, Ar-*H*), 7.90 (1H, d, Ar-*H*), 7.98 (2H, d, 2 x Ar-*H*) **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 53.88 (CO_2CH_3), 96.66 (*C*-3), 111.87, 111.90 (*C*-6), 115.36, 115.51 (*C*-9), 117.29, 117.45 (*C*-5), 127.16 (2 x Ar-C), 129.40 (*C*-7), 130.15 (2 x Ar-C), 130.45 (*C*-2), 134.63,

134.69 (*C*-8), 135.46 (*C*-para), 135.81 (*C*-ipso), 149.31, 151.85 (*C*-4), 160.30 (*C*=O) **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -124.00 (1F, d)

Parte B: Síntesis del Compuesto I



Compuesto 202

[00334] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 201** (57 gramos, 0.12 moles), y tetrahidrofurano (570 mililitros). La solución resultante se heló de -90°C a -100°C bajo nitrógeno, utilizando un baño viscoso de LN_2 / IPA, entonces se trató con n-butil-litio (2.5M en hexanos, 52 mililitros, 0.13 moles) agregado durante 10 minutos. A esto se le agregó cloro-fosfito de dietilo (20.5 gramos, 0.13 moles) durante 10 minutos. La HPLC (Método

001, RT = 17.7 minutos) no mostró material de partida, y mostró aproximadamente el 70 por ciento del producto. La reacción entonces se diluyó con acetato de etilo (570 mililitros), y se dejó calentar a -40°C. La mezcla se trató entonces con ácido clorhídrico (0.5M, 400 mililitros), y se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó durante 30 minutos. Las capas resultantes se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (500 mililitros). Los orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera (500 mililitros), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron hasta obtener un aceite. AUC de HPLC del 78 por ciento (Método 20, RT = 5.6 minutos) >100 por ciento de rendimiento debido a las impurezas y al solvente. Se utilizó como estaba en el siguiente paso. Datos para el C-2-metil-éster: **#2x:** $C_{18}H_{16}ClFNO_6PS$ 459.81 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 460.0 (MH^+, 100 por ciento), 462.0 (MH^+, 35 por ciento).

Compuesto 203

[00335] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 202** (56 gramos, estimado 0.10 moles), yodo-cinamo-nitrilo (27 gramos, 0.10 moles), trietil-amina (17 mililitros, 0.12 moles), y tolueno (475 mililitros). La mezcla resultante se desgasificó mediante burbujeo con una corriente de nitrógeno durante 10 minutos a temperatura ambiente, después de cuyo tiempo, se agregó tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (6.0 gramos, 0.005 moles). La mezcla se burbujeó durante 5 minutos adicionales, y entonces se calentó a 80°C durante 2 horas. La HPLC (Método 20, RT = 6.2 minutos) mostró una reacción completa. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, y se filtró a través de Celite, y se lavó con acetato de etilo (1,000 mililitros). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (500 mililitros, 2 veces), entonces se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron hasta obtener un volumen de 170 mililitros. El

concentrado se enfrió a 0°C, y se agitó durante 1 hora, durante cuyo tiempo, el producto se cristalizó. Los sólidos se filtraron y se lavaron con hexano:tolueno (2:1, 150 mililitros). Se secaron para dejar 54 gramos, AUC DE HPLC 85 por ciento (Método 20).

[00336] El sólido crudo entonces se purificó mediante cromatografía en columna eluida con acetato de etilo al 25 por ciento en cloruro de metileno. Las fracciones puras se recolectaron y se combinaron para dar los compuestos **203**, 41 gramos, 67 por ciento de rendimiento, AUC de HPLC del 96 por ciento (método: Prueba 20, RT = 6.2 minutos).

[00337] Datos para el C-2-etil-éster: **#3:** $C_{29}H_{25}ClFN_2O_6PS$ 615.01gmol^{-1} **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$):** 1.35 (3H, t, $PO_2CH_2CH_3$), 1.52 (3H, t, $CO_2CH_2CH_3$), 2.40 (3H, s, Ar-CH_3), 4.08-4.20 (2H, m, $PO_2CH_2CH_3$), 4.61 (2H, q, $CO_2CH_2CH_3$), 5.90 (1H, d, CH=CHCN), 7.33-7.37 (3H, m, 2 x Ar-*H*, C*H*=CHCN), 7.55 (2H, a-t, 2 x Ar-*H*), 7.67 (1H, a-t, Ar-*H*), 7.74-7.79 (3H, m, 3 x Ar-*H*), 8.13 (2H, d, 2 x Ar-*H*)

[00338] Datos para el C-2-metil-éster: **#3x:** $C_{28}H_{23}ClFN_2O_6PS$ 600.98 gmol^{-1}

***m/z* (ESI+):** 601.1 (MH^+, 100 por ciento), 603.0 (MH^+, 35 por ciento) **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 1.18 (3H, t, CH_3CH_2OP), 2.34 (3H, s, Ar-CH_3), 4.02 (5H, m, CH_3CH_2OP, CO_2CH_3), 6.47 (1H, d, CH=CHCN), 7.54 (1H, d, Ar-*H*), 7.62 (1H, t, Ar-*H*), 7.72 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.70-7.76 (4H, m, 4 x Ar-*H*), 7.82 (1H, t, Ar-*H*), 7.91 (1H, d, Ar-*H*), 8.13 (2H, d, 2 x Ar-*H*). Múltiples valores δ_C indican la división de la señal de carbono debido a F y/o P. **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 15.97, 16.03 (CH_3CH_2OP), 20.79 (Ar-CH_3), 53.88 (CO_2CH_3), 61.73, 61.79 (CH_3CH_2OP), 98.39 (CH=CHCN), 107.50, 107.54 (*C*), 108.95, 108.99 (*C*), 111.37, 111.42 (*C*), 115.47, 115.63 (*C*), 116.82, 116.91, 117.01, 117.10 (*C*), 118.43 (*C*N), 127.44 (SO_2Ph, 2 x C_{orto}), 127.91, 128.02 (*C*-H), 128.67 (*C*-

H), 130.27 (SO_2Ph, 2 x C_{meta}), 131.21, 131.41 (*C*-H), 132.68 (*C*), 133.29, 133.40 (*C*-H), 134.12, 134.27 (*C*), 134.55, 134.63, 134.72 (*C*), 135.49 (SO_2Ph, C_{ipso}), 136.09 (SO_2Ph, CPA_{ra}), 139.10, 139.25 (*C*), 149.06, 151.60 (*C*-4), 149.51 (*C*H=CHCN), 161.10 (*C*=O). **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -112.36 (1F, d). **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 23.49 (1P, s)

Compuesto 204

[00339] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 203** (41 gramos, 0.067 moles) y cloruro de metileno (175 mililitros). La solución resultante se enfrió a 0°C, y se trató con bromo-trimetil-silano (46 gramos, 0.30 moles) agregado durante 15 minutos. La reacción entonces se calentó a 40°C durante 1.5 horas. La HPLC (Método 20, RT = 4.3 minutos) indicó una reacción completa. El exceso de TMSBr se desprendió al vacío (40 – 45°C), y el sólido pegajoso resultante se volvió a suspender en dicloro-metano (200 mililitros), y se enfrió a 0°C. Se agregó cloruro de oxalilo (12 mililitros, 0.13 moles) durante 15 minutos, seguido por N,N-dimetil-formamida (1.0 mililitros), ambos agregados a 0°C. Se observó desprendimiento de gas durante la adición de la N,N-dimetil-formamida. Después de 1 hora al ambiente, la HPLC (Método 20, RT = 6.0 minutos, muestra apagada con metanol antes de la inyección) mostró una reacción completa. Los solventes se desprendieron nuevamente para remover el cloruro de oxalilo residual, y la mezcla se volvió a suspender en cloruro de metileno (100 mililitros). La solución se heló a 0°C - 5°C, y entonces se trató con metanol (300 mililitros), y se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de dos horas, la HPLC indicó una reacción completa (Método de HPLC 20, RT = 6.0 minutos). Los solventes se desprendieron, y el sólido crudo se utilizó como estaba en el siguiente paso. **Compuesto 204:** 48 gramos, AUC de HPLC del 91 por ciento, >100 por ciento de rendimiento debido a

los solventes e impurezas.

[00340] Datos para el C-2-etil-éster: **204:** $C_{28}H_{23}ClFN_2O_6PS$ 600.98 $gmol^{-1}$ **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$):** 1.53 (3H, t, $CO_2CH_2CH_3$), 2.40 (3H, s, Ar-CH_3), 3.79 (3H, d, $POCH_3$), 4.61 (2H, q, $CO_2CH_2CH_3$), 5.90 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.33-7.37 (3H, m, 2 x Ar-*H*, C*H*=CHCN), 7.55 (2H, a-t, 2 x Ar-*H*), 7.67 (1H, a-t, Ar-*H*), 7.73-7.79 (3H, m, 3 x Ar-*H*), 8.13 (2H, d, 2 x Ar-*H*)

[00341] Datos para el C-2-metil-éster: **204x:** $C_{27}H_{21}ClFN_2O_6PS$ 586.96 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 587.1 (MH^+, 100 por ciento), 589.0 (MH^+, 35 por ciento) **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 2.33 (3H, s, Ar-CH_3), 3.66 (3H, d, $POCH_3$), 4.02 (3H, s, CO_2CH_3), 6.47 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.53 (1H, d, Ar-*H*), 7.61 (1H, dd, Ar-*H*), 7.70 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.68-7.76 (4H, m, 4 x Ar-*H*), 7.82 (1H, t, Ar-*H*), 7.90 (1H, d, Ar-*H*), 8.13 (2H, d, 2 x Ar-*H*). Múltiples valores δ_C indican la división de la señal de carbono debido a F y/o P. **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 20.81 (Ar-CH_3), 52.07, 52.13 (CH_3OP), 53.99 (CO_2CH_3), 98.46 (CH=*C*HCN), 106.99 (*C*), 108.41 (*C*), 111.45 (*C*-H), 115.51, 115.67 (*C*), 116.77, 116.86, 117.07 (*C*), 118.48 (*C*N), 127.51 (SO_2Ph, 2 x C_{orto}), 127.92, 128.04 (*C*-H), 128.71 (*C*-H), 130.32 (SO_2Ph, 2 x C_{meta}), 131.56 (*C*-H), 132.20 (*C*), 133.35, 133.46 (*C*-H), 134.19, 134.34 (*C*), 134.55, 134.63, 134.72 (*C*), 135.47 (SO_2Ph, C_{ipso}), 136.16 (SO_2Ph, CPA_{ra}), 139.20, 139.35, 139.39, 139.54 (*C*), 149.09, 151.63 (*C*-4), 149.51 (CH=CHCN), 161.15 (*C*=O). **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -113.93 (1F, d). **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 25.42 (1P, s).

Compuesto 205

[00342] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 204** (48 gramos, aproximadamente 0.072 moles), y tetrahidrofurano (800 mililitros). La solución resultante entonces se enfrió a 5°C y se trató con monohidrato de hidróxido de litio (12 gramos, 028 moles), y se agregó agua (180 mililitros) durante 15 minutos. La

reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, durante cuyo tiempo, se aclaró el color. Después de la agitación durante la noche, la HPLC indicó una reacción completa (Método: Prueba 20, producto RT = 4.5, impureza mayor RT = 3.7). La reacción se enfrió a 5°C y se acidificó con ácido clorhídrico (5N, 300 mililitros). El exceso de tetrahidrofurano se removió por evaporación bajo presión reducida, y los sólidos pegajosos resultantes se formaron en una pasta en acetona (200 mililitros). La mezcla se calentó a 40°C durante 30 minutos, y entonces se dejó enfriar a temperatura ambiente. Los sólidos se dejaron granular durante 2 horas, y entonces se filtraron y se lavaron con acetona / agua (2:1, 100 mililitros). Se secaron para dejar el **compuesto 205**, 21 gramos, 67 por ciento de rendimiento. AUC de HPLC 93 por ciento (método: Prueba 20). Se utilizó como estaba en el siguiente paso.

Compuesto 206 (resolución quiral)

[00343] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 205** (432.6 gramos, 1.0 moles), y acetona (7.79 litros). Se agregó la **(-)-Cinconidina** (294.39 gramos, 1.0 moles) en una porción, y la suspensión resultante se agitó durante cuatro horas. Los sólidos se aislaron mediante filtración, y se lavaron con acetona (300 mililitros), para dejar 343.2 gramos de la sal después de secar al vacío. Análisis de HPLC quiral: proporción = 98:2.

[00344] La sal se suspendió en una mezcla de acetato de etilo (5.2 litros) y HCl 1N (5.2 litros), y se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de este tiempo, las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2.7 litros), y los extractos orgánicos se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron bajo presión reducida, para proporcionar el compuesto resuelto **206** como un sólido blanco. 145.44 gramos, 68

por ciento de rendimiento total, Análisis de HPLC quiral, proporción = 98.4:1.6. Se utilizó como estaba en el siguiente paso. **#6:** $C_{20}H_{15}ClFN_2O_4P$ 432.77 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 433.0 (MH^+, 100 por ciento), 435.0 (MH^+, 35 por ciento).

^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO): 2.35 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.78 (3H, d, POC*H*$_3$), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.46 (2H, d, Ar-*H*), 7.66 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.69, 7.81 (2H, 2 x d, *H*-6, *H*-7), 7.77 (1H, s, Ar-*H*), 13.63 (1H, s, N-*H*), 15.70 (1H, br-s, COO*H*). **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -114.27 (1F, s). **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 36.44 (1P, s).

Compuesto I

[00345] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 206** (0.63 gramos, 0.0014 moles) y 1,2-dimetoxi-etano (10 mililitros). La mezcla se trató con 1,1-carbonil-di-imidazol (0.47 gramos, 0.0028 moles) agregado en una porción, y la mezcla se dejó agitándose a temperatura ambiente hasta que cesó el desprendimiento de gas (aproximadamente 1.5 horas). La solución entonces se enfrió a 5°C, y se burbujeó con gas de amoníaco durante 5 minutos. La HPLC (Método 20, producto RT = 5.0 minutos) mostró una reacción completa después de una hora a temperatura ambiente. La reacción se apagó mediante la adición de 10 gramos de hielo triturado, y se concentró bajo presión reducida para remover el DME. La pasta acuosa resultante se agitó durante una hora a 5°C para granular el producto. Los sólidos se filtraron y se secaron para dejar el compuesto I puro (metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico). 0.56 gramos, 89 por ciento de rendimiento. HPLC (Método 20), pureza química del 98.5 por ciento. Pureza quiral del 97 por ciento.

[00346] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 206** (10 gramos, 0.024 moles) y 1,2-dimetoxi-etano (150 mililitros). La

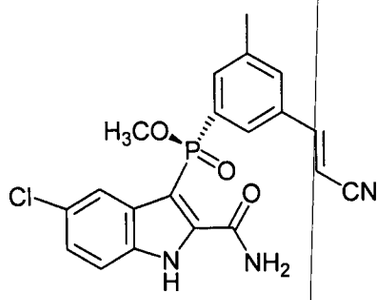
mezcla se trató con 1,1-carbonil-di-imidazol (7.8 gramos, 0.048 moles) agregado en una porción, y la mezcla se dejó agitándose a temperatura ambiente hasta que cesó el desprendimiento de gas. La solución entonces se enfrió a 5°C, y se burbujeó con gas de amoníaco durante 5 minutos. La HPLC (Método 20, producto RT=5.0 minutos) mostró una reacción completa después de una hora. La reacción se apagó mediante la adición de 100 gramos de hielo triturado, y se concentró bajo presión reducida para remover el DME. El sólido oleoso resultante (en agua) se diluyó con metanol (20 mililitros), y se agitó durante una hora a 5°C para granular el producto. Los sólidos se filtraron y se secaron para dejar el compuesto I puro (metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico). 9.8 gramos, 98 por ciento de rendimiento.

HPLC (Método 20), pureza química del 99.5 por ciento. Pureza quiral del 94.3 por ciento. Sólido blanco,

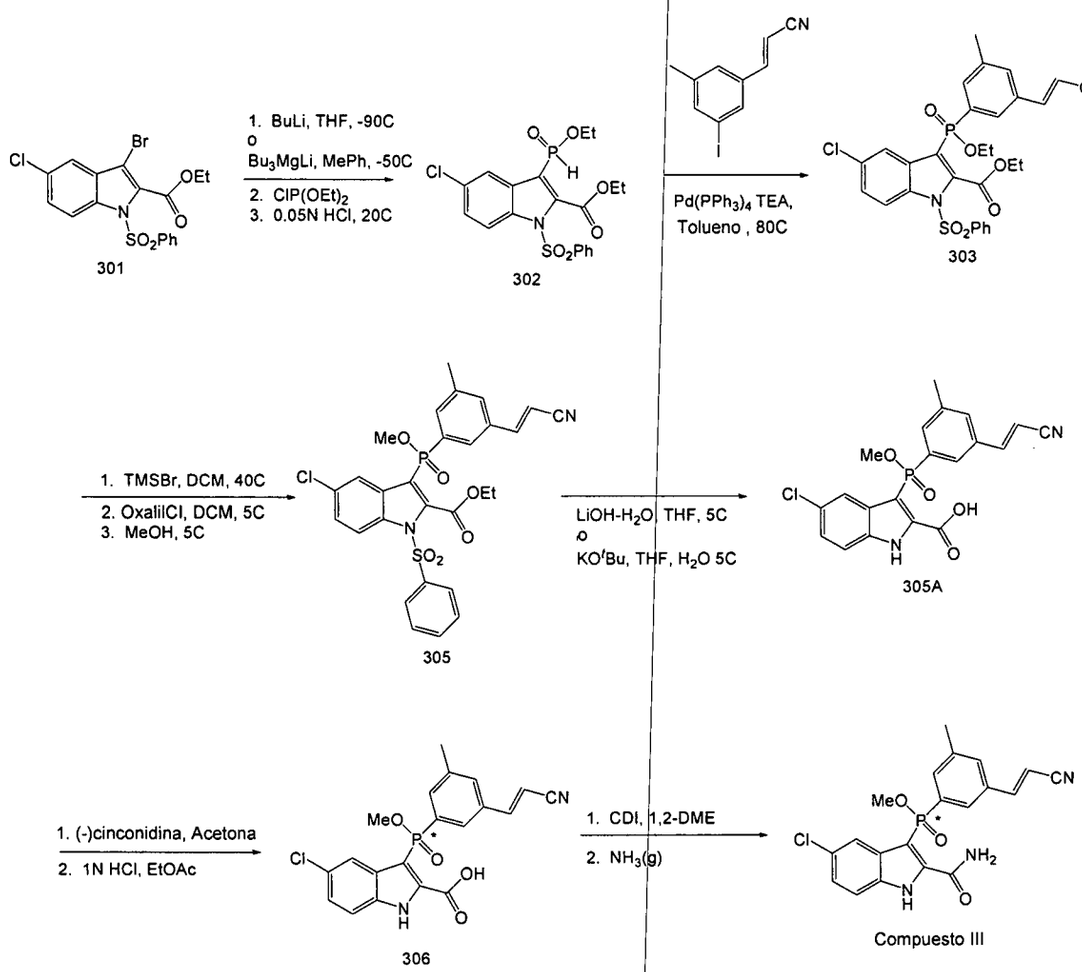
[00347] Compuesto I: $C_{20}H_{16}ClFN_3O_3P$ 431.78 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 432.1 (MH^+, 100 por ciento), 434.0 (MH^+, 35 por ciento) **ν_{max} (KBr disco)** (cm^{-1}) 1619.0 (amida I), 1672.5 (amida II), 2218.4 (CN), 3063.0, 3286.0 (N-H) **$[\alpha]_D^{20}$** : +33.42 (*c*, 10.04 $mgml^{-1}$ en $CHCl_3$) **p.f.:** 177°C destella, 181°C se reblandece, 183-185°C se funde. **Análisis elemental:** $C_{20}H_{17}ClN_3O_3P$ calculado C 55.63 por ciento, H 3.73 por ciento, N 9.73 por ciento, Cl 8.21 por ciento, F 4.40 por ciento, P 7.17 por ciento. Encontrado C 55.56 por ciento, H 3.74 por ciento, N 9.72 por ciento, Cl 8.24 por ciento, F 4.21 por ciento, P 7.11 por ciento **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 2.32 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.70 (3H, d, C*H*$_3$OP), 6.49 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.37 (1H, dd, *H*-6), 7.43 (1H, dd, *H*-7), 7.54 (1H, d, *H*-6'), 7.66 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.69 (1H, d, *H*-2'), 7.73 (1H, s, *H*-4'), 8.05, 10.63 (2 x 1H, 2 x s, N*H*$_2$), 13.02 (1H, s, N-*H*) Múltiples valores δ_C indican la división de la señal de carbono debido a F

y/o P. **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 20.77 (Ar-CH_3), 51.70, 51.76 (CH_3OP), 96.03, 96.07, 97.52, 97.56 (*C*-3), 98.29 (CH=CHCN), 110.70 (*C*-7), 111.66, 111.83 (*C*-5), 118.04, 118.13, 118.22, 118.32 (*C*-9), 118.56 (*C*N), 125.84 (*C*-6), 127.11, 127.22 (*C*-2'), 131.05 (*C*-4'), 132.57, 132.67 (*C*-6'), 132.96, 134.50 (*C*-1'), 134.03, 134.18 (*C*-3'), 136.40, 136.51, 136.61 (*C*-8), 138.95, 139.10 (*C*-5'), 141.71, 141.91 (*C*-2), 149.19, 151.70 (*C*-4), 149.65 (CH=CHCN), 160.46 (*C*=O). **^{19}F RMN δ_F (376 MHz, d6-DMSO):** -113.11 (1F, d). **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 33.39 (1P, s).

Ejemplo 8



Preparación del Compuesto III



Compuesto 302

[00348] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 301** (100 gramos, 0.23 moles), y tetrahidrofurano (1 litro). La solución resultante se heló entre -90°C y -100°C bajo nitrógeno, utilizando un baño viscoso de LN_2 / IPA, y entonces se trató con n-butil-litio (2.5M en hexanos, 99 mililitros, 0.25 moles) agregado durante 10 minutos. A esto se le agregó cloro-fosfito de dietilo (37.1 gramos, 0.24 moles) durante 10 minutos. La HPLC (Método 001, RT = 18.9 minutos) mostró que no había material de partida, y que había aproximadamente el 85 por ciento del producto. La reacción entonces se diluyó con acetato de etilo (1 litro), y se dejó calentar a -40°C. La mezcla se trató entonces con ácido clorhídrico (0.5M, 590 mililitros), se dejó calentar a temperatura ambiente, y se agitó

durante 30 minutos. Las capas resultantes se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (500 mililitros). Los orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera (500 mililitros), se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron hasta obtener un aceite. AUC de HPLC del 88 por ciento (Método 20, RT = 5.8 minutos) 115 gramos, >100 por ciento de rendimiento debido a las impurezas y al solvente. Se utilizó como estaba en el siguiente paso.

Compuesto 303

[00349] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 302** (111 gramos, estimado 0.18 moles), yodo-cinamo-nitrilo (47.1 gramos, 0.175 moles), trietil-amina (29.3 mililitros, 0.21 moles), y tolueno (800 mililitros). La mezcla resultante se desgasificó mediante burbujeo con una corriente de nitrógeno durante 10 minutos a temperatura ambiente, después de cuyo tiempo, se le agregó tetraquis-(trifenil-fosfina)-paladio(0) (10.1 gramos, 0.0088 moles). La mezcla se burbujeó durante 5 minutos adicionales, y entonces se calentó a 80°C durante 2 horas. La HPLC (Método 20, RT = 6.5 minutos) mostró una reacción completa. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de Celite, y se lavó con acetato de etilo (400 mililitros). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (500 mililitros, 2 veces), entonces se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron, y se concentraron hasta un volumen de 350 mililitros. El concentrado se enfrió a 0°C, y se agitó durante 1 hora, durante cuyo tiempo, el producto se cristalizó. Los sólidos se filtraron y se lavaron con hexano:tolueno (2:1, 150 mililitros). Se secaron para dejar 95 gramos, 90 por ciento de rendimiento. AUC de HPLC del 98 por ciento (Método 20). Se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

[00350] **303:** $C_{29}H_{26}ClN_2O_6PS$ 597.02 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 597.0

(MH^+, 100 por ciento), 599.0 (MH^+, 35 por ciento) **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$):** 1.38, 1.48 (2 x 3H, 2 x t, $COOCH_2CH_3$, $POOCH_2CH_3$), 2.41 (3H, s, Ar-CH_3), 4.09-4.16 (2H, m, $POOCH_2CH_3$), 4.52 (2H, q, $COOCH_2CH_3$), 5.93 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.33-7.38 (3H, m, C*H*=CHCN, 2 x Ar-*H*), 7.52 (2H, t, 2 x Ar-*H*), 7.64 (1H, t, Ar-*H*), 7.74, 7.77 (2 x 1H, 2 x d, 2 x Ar-*H*), 7.85 (1H, d, Ar-*H*), 7.94 (1H, dd, Ar-*H*), 8.08 (2H, d, 2 x Ar-*H*) **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 1.26, 1.33 (2 x 3H, 2 x t, $COOCH_2CH_3$, $POOCH_2CH_3$), 2.34 (3H, s, Ar-CH_3), 3.95-4.10 (2H, m, $POOCH_2CH_3$), 4.40 (2H, q, $COOCH_2CH_3$), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.52 (1H, dd, Ar-*H*), 7.60-7.84 (8H, m, C*H*=CHCN, 7 x Ar-*H*), 8.07 (3 x 1H, m, 3 x Ar-*H*).

Compuesto 304

[00351] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 303** (537 gramos, 0.90 moles) y cloruro de metileno (2.0 litros). La solución resultante se enfrió a 0°C, y se trató con bromo-trimetil-silano (450 gramos, 2.9 moles) agregado durante 15 minutos. La reacción entonces se calentó a 40°C durante 1.5 horas. La HPLC (Método 20, RT = 4.4 minutos) indicó una reacción completa. El exceso de TMSBr se desprendió al vacío (40°C – 45°C), y el sólido pegajoso resultante se volvió a suspender en dicloro-metano (2.5 litros), y se enfrió a 0°C. Se agregó cloruro de oxalilo (156 mililitros, 1.8 moles) durante 15 minutos, seguido por N,N-dimetil-formamida (13.7 mililitros, 0.18 moles), ambos agregados a 0°C. Se observó desprendimiento de gas durante la adición de la N,N-dimetil-formamida. Después de 1 hora, la HPLC (Método 20, RT = 6.2 minutos, muestra apagada con metanol anhidro antes de la inyección) mostró una reacción completa. Los solventes se desprendieron nuevamente para remover el cloruro de oxalilo residual, y la mezcla se volvió a suspender en metanol helado (3.0 litros) a 0°C - 5°C, y entonces se dejó calentar a temperatura

ambiente. Después de dos horas, la HPLC indicó una reacción completa (Método de HPLC 20, RT = 6.2 minutos). La solución se concentró hasta un volumen de 1.5 litros, y la pasta acuosa delgada resultante se enfrió a 0°C, y se diluyó con una solución acuosa de bicarbonato de sodio (126 gramos, 3 litros de agua). Después de 2 horas a 5°C, el producto se filtró y se lavó con agua fría / metanol (2:1, 1.5 litros), y entonces se secó para dejar 500 gramos del **compuesto 304**. HPLC (Método 20), pureza del 92 por ciento, se utilizó como estaba.

Compuesto 305

[00352] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 304** (aproximadamente 280 gramos, 0.48 moles), y tetrahidrofurano (2.8 litros). La solución resultante entonces se enfrió a 5°C y se trató con monohidrato de hidróxido de litio (45 gramos, 1.07 moles) agregado en una porción. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, durante cuyo tiempo, se aclaró el color, y se formó un precipitado blanco. Después de la agitación durante la noche, la HPLC indicó una reacción incompleta (Método 20, producto RT = 4.3, parcialmente desprotegido RT = 5.1, impureza mayor RT = 3.8). Se agregó un 10 por ciento adicional de LiOH-H_2O, pero después de 10 horas, el intermediario parcialmente desprotegido permaneció en el 5 por ciento, y el pico de impurezas a los 3.8 minutos había aumentado hasta aproximadamente el 25 por ciento. La reacción se enfrió a 5°C y se acidificó con ácido clorhídrico (5N, 280 mililitros), y entonces se diluyó con acetato de etilo (2 litros). Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (500 mililitros). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (1 litro), se secaron con sulfato de sodio, y entonces se concentraron para dejar un sólido oleoso crudo, **Compuesto 305**. Aproximadamente 300 gramos, AUC de HPLC del 57 por ciento.

[00353] El producto crudo se absorbió en acetonitrilo (1.2 litros) a 40°C y el producto se trituró con agua (1.2 litros). La pasta acuosa resultante se enfrió a 5°C, y se dejó granular durante 30 minutos, después de cuyo tiempo, el producto se filtró y se lavó con ACN:H_2O (1:1, 100 mililitros). Aproximadamente 103 gramos, 88 por ciento mediante HPLC. El producto entonces se recristalizó a partir de 360 mililitros de ACN a 40°C y 360 mililitros de agua como antes. Se filtró, se lavó, y se secó para dejar 75 gramos del **compuesto 305**. AUC de HPLC del 97 por ciento. Se utilizó como estaba en el siguiente paso.

Compuesto 306 (resolución quiral)

[00354] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 305** (280 gramos, 0.66 moles), y acetona (4.2 litros). La pasta acuosa delgada resultante se trató entonces con (-)-cinconidina (199 gramos, 0.66 moles) agregada en una porción. Después de una hora, se había formado una solución, y después de una hora adicional, se precipitó un sólido blanco, y la mezcla se dejó agitándose durante dos horas adicionales (cuatro horas en total), después de cuyo tiempo, los sólidos se filtraron, se lavaron con acetona (200 mililitros), y se secaron para dejar 199 gramos del compuesto crudo **306, sal de cinconidina**. La HPLC mostró una proporción de isómeros de 96:4.

[00355] La sal cruda entonces se formó en una pasta en acetato de etilo (3 litros) y ácido clorhídrico (1N, 3 litros). La solución en dos fases se agitó vigorosamente durante 2 horas a temperatura ambiente. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 litros). Los orgánicos se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, y se concentraron, para dejar la base libre del **compuesto 306**, 107 gramos, 95:5 mediante HPLC quiral.

[00356] El compuesto crudo **306** se suspendió entonces en

acetona (1.07 litros), y se trató con (-)-cinconidina (76 gramos, 0.26 moles). Después de un tiempo de agitación total de 4 horas (como anteriormente), los sólidos se filtraron, se lavaron con acetona (200 mililitros), y se secaron, para dejar 199 gramos de la sal. HPLC 98.6:1.4.

[00357] La sal se descompuso mediante su disolución en acetato de etilo (3 litros) y ácido clorhídrico (1N, 3 litros). La solución en dos fases se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Las capas se separaron, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 litros). Los orgánicos se combinaron, se secaron con sulfato de sodio, y se concentraron, para dejar la base libre del **compuesto 306,** 98 gramos, 98.6:1.4 mediante HPLC quiral. 70 por ciento de recuperación del isómero deseado, 35 por ciento de rendimiento a partir del compuesto racémico **306**. **#6:** $C_{20}H_{16}ClN_2O_4P$ 414.78 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 415.1 (MH^+, 100 por ciento), 417.0 (MH^+, 35 por ciento) **$[\alpha]_D^{25}$:** -47.51 (*c*, 10.66 $mgml^{-1}$ en EtOAc).

[Enantiómero opuesto **$[\alpha]_D^{25}$:** +47.26 (*c*, 9.60 $mgml^{-1}$ in EtOAc)] **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 2.33 (3H, s, Ar-CH_3), 3.71 (3H, d, CH_3OP), 6.50 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.36 (1H, dd, *H*-6), 7.57 (1H, d, *H*-7), 7.66-7.71 (2H, m, *H*-4, Ar-H_{orto}), 7.67 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.84 (1H, d, Ar-H_{orto}), 7.98 (1H, s, Ar-H_{para}), 12.97 (1H, s, N-*H*), 14.38 (1H, br-s, COO*H*) Múltiples valores δ_C indican la división de la señal de carbono debido a P. **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 20.68 (Ar-*C*H_3), 51.70 (*C*H_3OP), 98.15 (CH=*C*HCN), 102.33, 103.85, 114.98, 120.91 (3 x *C*), 118.47 (*C*N), 125.39 (*C*), 126.78 (*C*), 127.74, 127.86 (*C*-H_{orto}), 129.78, 129.88 (*C*), 131.25 (*C*), 132.06 (*C*), 133.44, 133.55 (*C*), 133.89, 134.05 (*C*), 134.62, 134.75 (*C*), 135.47, 135.66 (*C*), 138.78, 138.91 (*C*), 149.62 (*C*H=CHCN), 160.40 (*C*=O) **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 33.50 (1P, s).

Compuesto III

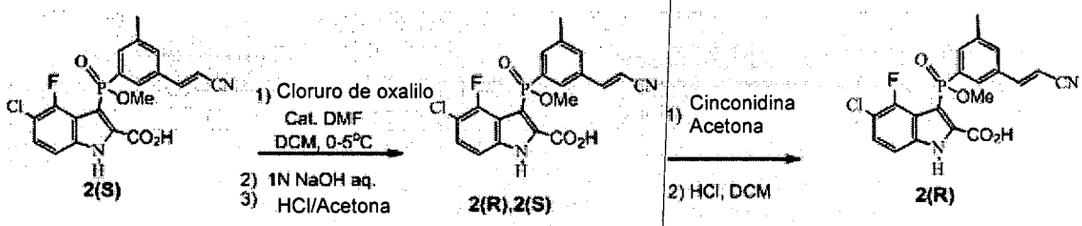
[00358] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 306** (0.63 gramos, 0.0014 moles) y 1,2-dimetoxi-etano (10 mililitros). La mezcla se trató con 1,1-carbonil-di-imidazol (0.47 gramos, 0.0028 moles) agregado en una porción, y la mezcla se dejó agitándose a temperatura ambiente hasta que cesó el desprendimiento de gas (aproximadamente 1.5 horas). La solución entonces se enfrió a 5°C, y se burbujeó con gas de amoníaco durante 5 minutos. La HPLC (Método 20, producto RT = 5.0 minutos) mostró una reacción completa después de una hora a temperatura ambiente. La reacción se apagó mediante la adición de 10 gramos de hielo triturado, y se concentró bajo presión reducida para remover el DME. La pasta acuosa resultante se agitó durante una hora a 5°C para granular el producto. Los sólidos se filtraron y se secaron para dejar el compuesto puro III (metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico) como un sólido blanco, 0.56 gramos, 89 por ciento de rendimiento. HPLC (Método 20), pureza química del 98.5 por ciento. Pureza quiral del 97 por ciento.

[00359] Un reactor adecuado se cargó con el **compuesto 306** (10 gramos, 0.024 moles) y 1,2-dimetoxi-etano (150 mililitros). La mezcla se trató con 1,1-carbonil-di-imidazol (7.8 gramos, 0.048 moles) agregado en una porción, y la mezcla se dejó agitándose a temperatura ambiente hasta que cesó el desprendimiento de gas. La solución entonces se enfrió a 5°C, y se burbujeó con gas de amoníaco durante 5 minutos. La HPLC (Método 20, producto RT = 5.0 minutos) mostró una reacción completa después de una hora. La reacción se apagó mediante la adición de 100 gramos de hielo triturado, y se concentró bajo presión reducida para remover el DME. El sólido oleoso resultante (en agua) se diluyó con metanol

(20 mililitros), y se agitó durante una hora a 5°C para granular el producto. Los sólidos se filtraron y se secaron para dejar el compuesto puro **III** (metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico). 9.8 gramos, 98 por ciento de rendimiento. HPLC (Método 20), pureza química del 99.5 por ciento. Pureza quiral del 94.3 por ciento. **Compuesto III:** $C_{20}H_{17}ClN_3O_3P$ 413.79 $gmol^{-1}$ ***m/z* (ESI+):** 414.1 (MH^+, 100 por ciento), 416.1 (MH^+, 35 por ciento) **ν_{max} (KBr disco)** (cm^{-1}) 1620.0 (amida I), 1670.6 (amida II), 2218.7 (CN), 3125.5, 3291.9 (N-H) **$[\alpha]_D^{20}$** : -75.08 (*c*, 9.04 $mgml^{-1}$ en $CHCl_3$) **p.f.:** 144-148°C transición hasta un semi-sólido opaco, 209-210°C se funde. **Análisis elemental:** $C_{20}H_{17}ClN_3O_3P$ calculado C 58.05 por ciento, H 4.14 por ciento, N 10.15 por ciento, Cl 8.57 por ciento, P 7.49 por ciento. Encontrado C 58.13 por ciento, H 4.08 por ciento, N 10.16 por ciento, Cl 8.69 por ciento, P 7.44 por ciento **^{1}H RMN δ_H (400 MHz, d6-DMSO):** 2.32 (3H, s, Ar-C*H*$_3$), 3.74 (3H, d, C*H*$_3$OP), 6.52 (1H, d, CH=C*H*CN), 7.30 (1H, dd, *H*-6), 7.53-7.58 (3H, m, *H*-4, *H*-7, *H*-6'), 7.68 (1H, d, C*H*=CHCN), 7.73 (1H, s, *H*-4'), 7.75 (1H, d, *H*-2'), 8.02, 10.15 (2 x 1H, 2 x s, N*H*$_2$), 12.80 (1H, s, N-*H*) Múltiples valores δ_C indican la división de la señal de carbono debido a P. **^{13}C RMN δ_C (100 MHz, d6-DMSO):** 20.77 (Ar-*C*H$_3$), 51.75, 51.81 (*C*H$_3$OP), 98.39, 98.91 (*C*-3), 98.44 (CH=*C*HCN), 115.05 (*C*-7), 118.53 (*C*N), 119.96 (*C*-4), 124.73 (*C*-6), 126.68 (*C*-5), 127.15, 127.26 (*C*-2'), 129.25, 129.35 (*C*-9), 131.37 (*C*-4'), 132.45, 134.04 (*C*-1'), 132.69, 132.80 (*C*-6'), 133.92 (*C*-8), 134.30, 134.44 (*C*-3'), 139.33, 139.46 (*C*-5'), 139.96, 140.17 (*C*-2), 149.55 (*C*H=CHCN), 160.65 (*C*=O) **^{31}P RMN δ_P (162 MHz, d6-DMSO):** 33.72 (1P, s)

Ejemplo 9

Reciclaje del enantiómero S del compuesto I - ácido 2-carboxílico 2(S):

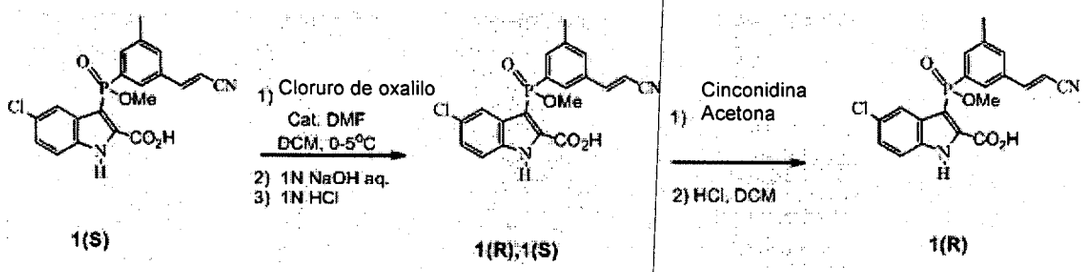


[00360] A una solución fría (0-5°C) del enantiómero de partida **2(S)** (50.0 gramos, 120.8 milimoles) en dicloro-metano anhidro (300 mililitros), se le agregó por goteo cloruro de oxalilo (15.2 mililitros, 174.2 milimoles, 1.5 equivalentes) durante un período de 5 minutos. Se agregó la N,N-dimetil-formamida anhidra (1.43 mililitros, 18.5 milimoles), utilizando una jeringa durante un período de 2 minutos. Se observó desprendimiento de gas. La solución amarilla resultante se mantuvo agitándose bajo una atmósfera de argón a 0-5°C. Después de 60 minutos, el resultado de la HPLC de la alícuota de reacción apagada con metanol indicó que solamente el 10 por ciento del ácido de partida quedó sin reaccionar. Después de agitar durante 10 minutos más, la mezcla de reacción se diluyó con dicloro-metano frío (0-5°C) (300 mililitros). La mezcla diluida se transfirió rápidamente a un embudo de adición, y se agregó a una solución acuosa de NaOH en agitación (1N, 695 mililitros) durante un período de 7 minutos. La temperatura de la mezcla apagándose subió (desde 26.5°C, temperatura inicial del NaOH acuoso) hasta 33°C cuando se completó la adición. Después de la agitación continua durante 3 minutos adicionales, se decantó el líquido de la capa superior. La capa inferior (que contenía la sal precipitada) se concentró bajo presión reducida para remover el dicloro-metano. El residuo se absorbió en acetona (300 mililitros), y se acidificó utilizando HCl 1N (se agregaron 275 mililitros en total) hasta un pH de 4. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El producto sólido se recolectó mediante filtración, y se

lavó el sólido con 1:1 de acetona/agua desionizada (100 mililitros). El sólido obtenido se secó en un horno al vacío a 45°C durante 18 horas. Peso neto de este material de la primera cosecha = 31.4 gramos. Pureza química del 98.4 por ciento mediante HPLC (AUC). El resultado de la HPLC quiral indicó una mezcla de **2(R)** (51.7 por ciento), y **2(S)** (47.5 por ciento). El espectro de ^{1}H-RMN indicó un producto limpio con trazas de dicloro-metano.

[00361] Recuperación del producto de la segunda cosecha a partir del licor madre del producto de la primera cosecha: Estuvieron presentes dos capas en el licor madre. Las capas se separaron. La capa superior se extrajo con dicloro-metano (400 mililitros). La capa inferior del licor madre de la primera cosecha (aceite color café, principalmente el producto de acuerdo con la HPLC) se absorbió en tolueno (30 mililitros), y se lavó con una mezcla de HCl 1N (5 mililitros), y salmuera (15 mililitros). La capa de tolueno se combinó con el extracto de dicloro-metano, se lavó con agua desionizada (400 mililitros), y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. Los solventes se removieron bajo presión reducida. El material de la segunda cosecha se secó bajo un alto vacío durante 16 horas. Peso neto = 15.1 gramos. Pureza química del 90 por ciento de acuerdo con la HPLC (AUC). El resultado de la HPLC quiral indicó una mezcla de **2(R)** (91.4 por ciento), y **2(S)** (8.6 por ciento). El espectro de ^{1}H-RMN indicó principalmente el producto con un residuo de tolueno (5.3 por ciento en peso), y trazas de impurezas menores. Recuperación total del ácido libre (mezcla de 2 enantiómeros) = 92 por ciento.

Reciclaje del enantiómero S del compuesto III - ácido 2-carboxílico 1(S):

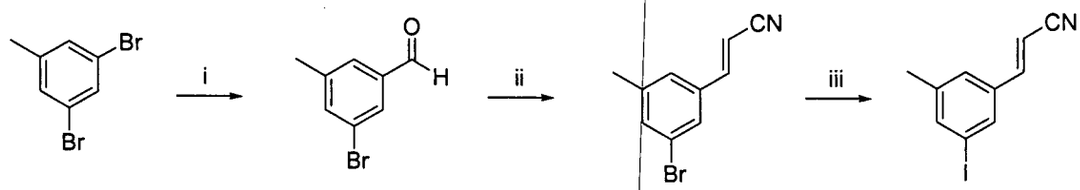


[00362] A una solución turbia fría (de 0°C a 5°C) del enantiómero de partida **1(S)** (50.0 gramos, 120.8 milimoles) en dicloro-metano anhidro (300 mililitros), se le agregó por goteo cloruro de oxalilo (15.7 mililitros, 180 milimoles, 1.5 equivalentes) durante un período de 5 minutos. Se agregó la N,N-dimetil-formamida anhidra (1.45 mililitros, 18.8 milimoles) utilizando una jeringa durante un período de 2 minutos. Se observó desprendimiento de gas. La solución amarilla resultante se mantuvo agitándose bajo una atmósfera de argón a 0-5°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción entonces se diluyó con dicloro-metano (300 mililitros), y se transfirió rápidamente a un embudo de adición. La mezcla diluida de reacción se agregó a una solución acuosa de NaOH en agitación (1N, 725 mililitros) durante un período de 6 minutos. La temperatura de la mezcla apagándose subió (desde 24.5°C, temperatura inicial del NaOH acuoso) hasta 33°C cuando se completó la adición. Después de la agitación continua durante 5 minutos adicionales, la mezcla apagada se colocó sobre un baño de hielo. Se agregó HCl 1N (365 mililitros) a través de un embudo de adición durante 2 minutos. La mezcla acidificada resultante (pH = 2) se agitó durante 5 minutos. Las capas se separaron utilizando un embudo de separación. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con dicloro-metano (200 mililitros, 2 veces). Se combinaron la capa orgánica y los extractos de dicloro-metano. Se lavó con agua desionizada (200 mililitros), y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El dicloro-metano se removió bajo presión reducida. El material crudo se

secó en un horno al vacío durante 42 horas. Peso neto = 52.4 gramos. Pureza química del >97 por ciento mediante HPLC (AUC). El resultado de la HPLC quiral indicó una mezcla de **1(R)** (64.1 por ciento), y **1(S)** (35.9 por ciento). El espectro de ^{1}H-RMN indicó un producto limpio con dicloro-metano residual (4.3 por ciento en peso), y trazas de N,N-dimetil-formamida. Recuperación del ácido libre (mezcla de 2 enantiómeros) = 100 por ciento.

Ejemplo 10

Preparación del yodo-cinamo-nitrilo



2 **3** **4** **1**

3-bromo-5-metil-benzaldehído (3)

[00363] Se agregó tolueno anhidro (365 mililitros) a un matraz de fondo redondo de cuatro cuellos, de 3 litros, equipado con agitador superior, un embudo de 250 mililitros, y un embudo de adición de un litro, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. El matraz se sumergió en un baño de hielo/metanol, con el objeto de mantener la temperatura interna en la región de -15°C. Se agregó n-butil-litio (2.5M en hexano, 232 mililitros, 0.581 moles) al matraz mediante una jeringa, bajo argón, a una velocidad de agitación moderada. Se introdujo cloruro de n-butil-magnesio (2.0M en tetrahidrofurano, 145 mililitros, 0.290 moles, solución color café claro) en el embudo de adición de 250 mililitros mediante una jeringa, bajo argón. La adición de esta solución se llevó a cabo por goteo durante 22 minutos, durante cuyo tiempo, la temperatura interna se elevó desde –16°C hasta –13°C, y la mezcla cambió desde transparente hasta un color amarillo claro opaco. La solución se agitó durante

0.5 horas adicionales a –13°C.

[00364] Una solución de 3,5-dibromo-tolueno (196 gramos, 0.784mol; Aldrich) en tolueno anhidro (1,458 mililitros) se preparó en un matraz de fondo redondo de un cuello, de 2 litros, bajo argón. Esta solución color amarillo pálido se transfirió en dos porciones al embudo de adición de 1 litro. La adición de esta solución se llevó a cabo por goteo durante 50 minutos, durante cuyo tiempo, la temperatura interna se mantuvo entre –13°C y –17°C, y la mezcla llegó a ser de un color naranja-café opaco más oscuro. La suspensión se agitó durante 2.75 horas adicionales entre –13°C y –17°C bajo argón. Se tomó una muestra de HPLC después de 2 horas, y se preparó mediante la adición de 2 gotas de metanol, seguido por remoción del solvente bajo presión reducida. Método de HPLC: La Prueba 20 indicó que no hubo ningún material de partida restante (R_t 6.64 minutos), y una mezcla de intermediarios (R_t 4.94 minutos, 6.15 minutos, 7.40 minutos). Esta suspensión se etiquetó como la '**Mezcla A**'.

[00365] Durante la adición del 3,5-dibromo-tolueno, se agregó la N,N-dimetil-formamida anhidra (78.7 mililitros, 1.016 moles) mediante una jeringa a un matraz de fondo redondo, de 4 cuellos, de 5 litros, equipado con agitador superior, un embudo de adición de 1 litro, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. El matraz se sumergió en un baño de hielo/metanol, con el objeto de mantener la temperatura interna en la región de -15°C. Se agregó tolueno anhidro (91ml) al matraz mediante una jeringa, bajo argón a una velocidad de agitación moderada. Esta solución se etiquetó como la 'Mezcla B'.

[00366] La Mezcla A se transfirió en dos porciones (950 mililitros, 2 veces) al embudo de adición de 1 litro del matraz de 5 litros que contenía la Mezcla B. El embudo de adición se envolvió con lámina de aluminio para evitar el influjo de calor excesivo. La

adición de la Mezcla A se llevó a cabo por goteo durante 38 minutos, durante cuyo tiempo, la temperatura interna de la reacción se mantuvo entre −16°C y −12°C, y la reacción se convirtió en una solución color naranja. La solución se agitó durante 1 hora adicional entre −13°C y −16°C bajo argón, después de cuyo tiempo, se preparó una muestra de HPLC mediante la remoción del tolueno bajo presión reducida, la disolución en metanol, y la filtración de cualquier material insoluble. Método de HPLC: La Prueba 20 indicó un producto mayor (R_t 5.42 minutos).

[00367] La reacción se consideró completa y lista para apagarse.

[00368] Una solución preparada del ácido cítrico (341.54 gramos) en agua (650 mililitros), en un matraz cónico de 1 litro, se agregó lentamente durante 20 minutos a la mezcla de reacción en porciones de 50 mililitros, manteniendo la temperatura interna debajo de 0°C. Esta solución amarilla se agitó a 0°C durante 20 minutos adicionales.

[00369] Después de este tiempo, la mezcla de reacción apagada se transfirió a un embudo de separación de 4 litros, y las dos fases se separaron. La capa orgánica se lavó con agua (650 mililitros) y salmuera saturada (550 mililitros) antes de secarse mediante la adición de sulfato de sodio anhidro (500 gramos). El agente de secado se removió mediante filtración al vacío. La capa orgánica seca se transfirió en dos porciones a un matraz de fondo redondo de 3 litros, y los solventes se removieron bajo un alto vacío a 35°C. Se obtuvo un aceite color rojo-naranja de baja viscosidad del 3-bromo-5-metil-benzaldehído (159.1 gramos, 102 por ciento de rendimiento). C_8H_7BrO 199.04 $gmol^{-1}$; HPLC: R_t 5.42 minutos; pureza del 96 por ciento @ 272 nanómetros; ^1H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 2.41 (3H, s, C*H*$_3$), 7.58, 7.60, 7.81 (3 x 1H, 3 x s, 3 x Ar-*H*), 9.92 (1H, s, C*H*O); ^{13}C RMN δ_C (100 MHz, $CDCl_3$):

21.17 (CH_3), 123.27 (*C*-3), 129.15, 129.93 (*C*-2, *C*-6), 138.06 (*C*-1), 138.11 (*C*-4), 141.33 (*C*-5), 191.20 (*C*HO).

3-bromo-5-metil-cinamo-nitrilo (4)

[00370] Se agregó hidruro de sodio (dispersión al 60 por ciento en aceite mineral, 39.2 gramos, 0.980 moles) a un matraz de fondo redondo, de 4 cuellos, de 5 litros, equipado con agitador superior, embudo de adición de 250 mililitros, una sonda de temperatura interna, y una entrada de argón. Se agregó tetrahidrofurano anhidro (2.6 litros) al matraz bajo argón, y comenzó la agitación a una velocidad moderada, para dar una suspensión blanca opaca. Se introdujo ciano-metil-fosfonato de dietilo (152.1 mililitros, 0.941 moles, líquido amarillo pálido ligeramente viscoso) en un embudo de adición de 250 mililitros, bajo argón. La adición del fosfonato se llevó a cabo por goteo durante 56 minutos, durante cuyo tiempo, la temperatura interna se elevó desde 21°C hasta 29°C, y la mezcla se convirtió en una suspensión color amarillo muy pálido menos opaco. La solución se agitó durante 1 hora adicional, durante cuyo tiempo, la temperatura interna cayó desde 29°C hasta 22°C, y la mezcla se convirtió en una solución transparente color amarillo pálido.

[00371] El 3-bromo-5-metil-benzaldehído (159 gramos, 0.784 moles, se asumió como cuantitativo, aceite rojo) se transfirió desde su matraz de fondo redondo de 3 litros hasta el embudo de adición de 250 mililitros mediante vertido. El matraz se enjuagó con tetrahidrofurano anhidro (5 mililitros, 3 veces). Los tres enjuagues también se vertieron en el embudo de adición, el cual entonces se inundó con argón. La adición del aldehído se llevó a cabo por goteo bajo argón, durante 71 minutos, durante cuyo tiempo, la temperatura interna se elevó desde 20°C hasta 33°C, y la mezcla se convirtió en una solución color naranja oscuro.

[00372] La solución se agitó durante 2 horas adicionales,

durante cuyo tiempo, la temperatura interna cayó desde 32°C hasta 19°C. Se preparó una muestra de HPLC de la solución color café oscuro en 1 hora mediante dilución con tetrahidrofurano. Método de HPLC: La Prueba 20 indicó una conversión completa del material de partida (R_t 5.42 minutos) hasta un producto mayor con una mezcla de 10:1 de isómeros *E*:*Z* (272 nanómetros, R_t 5.76 minutos *Z*; R_t 5.83 minutos *E*).

[00373] Se mezclaron ácido clorhídrico (6N, 21.66 mililitros) y agua (2578.33 mililitros) en un matraz cónico de 4 litros, para dar una solución acuosa de HCl 0.05M (2.6 litros).

[00374] La mezcla de reacción se diluyó con terbutil-metil-éter (0.5 litros), y se apagó con HCl acuoso 0.05M (0.5 litros), después de lo cual, la temperatura interna se elevó hasta 22°C. La mezcla de reacción parcialmente apagada se transfirió a un embudo de separación de 22 litros. El residuo a partir del recipiente de reacción se transfirió al embudo de separación mediante el enjuague consecutivo con terbutil-metil-éter (1.5 litros), HCl acuoso 0.05M (1.0 litros), terbutil-metil-éter (2.0 litros), HCl acuoso 0.05M (1.1 litros), y terbutil-metil-éter (1.2 litros). Las capas se agitaron durante 30 segundos, permitiendo que los gases escaparan periódicamente, y la capa acuosa se separó en un matraz de 22 litros. La capa orgánica se lavó con agua (2.0 litros), y las capas acuosas se combinaron. La capa orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (500 gramos) durante 10 minutos, y el agente de secado entonces se filtró al vacío. Los solventes se removieron bajo presión reducida, para dar un sólido amarillo pálido, el cual se secó durante la noche al vacío a 30°C. El material crudo resultante (200.2 gramos) fue un sólido amarillo polvoso pero ligeramente pegajoso.

[00375] El sólido amarillo crudo (200 gramos), en un matraz de fondo redondo, de tres cuellos, de 2 litros, equipado con sonda

de temperatura interna, embudo de adición de 500 mililitros, y agitador superior, se disolvió en metanol (700 mililitros) mediante inmersión en un baño de agua a 50°C. Después de la disolución, el sólido amarillo se convirtió en una solución color rojo-naranja. El baño de agua se removió, y se introdujo agua (250 mililitros) en el embudo de adición de 500 mililitros. La adición del agua se llevó a cabo por goteo a una velocidad de agitación moderada durante 3 horas, durante cuyo tiempo, la temperatura interna cayó desde 50°C hasta 25°C. Se empezó a precipitar un sólido amarillo hacia fuera de la solución color rojo-naranja después de cinco minutos, y la adición de 50 mililitros de agua. El licor madre se verificó periódicamente mediante HPLC para determinar la proporción de los isómeros *E*:*Z* todavía en solución. Después de agregar 250 mililitros de agua la proporción de *E*:*Z* fue de 1:1.2 y se determinó como favorable. La suspensión se enfrió en un baño de hielo durante 10 minutos, permitiendo que la temperatura interna cayera hasta 17°C, antes de filtrarse a través de un embudo de vidrio sinterizado de 3 litros bajo presión reducida. El sólido resultante se lavó con una solución fría de metanol:agua (1:1, 50 mililitros, 2 veces, 5-10°C). El sólido se secó hasta obtener un peso constante en un horno al vacío a 35°C. Se obtuvo un sólido amarillo pálido del 3-bromo-5-metil-cinamo-nitrilo (144.1 gramos, 83 por ciento de rendimiento). Sin embargo, este material estaba contaminado con el aceite mineral sin remover, como se observó en los espectros de RMN de protones y de carbono. 3-bromo-5-metil-cinamo-nitrilo: $C_{10}H_8BrN$ 222.08 $gmol^{-1}$; HPLC: Isómero-E R_t 5.83 minutos; pureza del 97 por ciento @ 272 nanómetros. Isómero-Z R_t 5.76 minutos; aproximadamente 1.7 por ciento @ 272 nanómetros; ^1H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 2.36 (3H, s, C*H*$_3$), 5.86 (1H, d, $J_{H,\ H}$ 16.7, CH=C*H*CN), 7.17 (1H, s, Ar-*H*), 7.28 (1H, d, $J_{H,\ H}$ 16.7, C*H*=CHCN), 7.39 (2 x 1H, s, 2 x Ar-*H*); ^{13}C

RMN δ_C (100 MHz, $CDCl_3$): 21.23 (CH_3), 97.86 (CH=*C*HCN), 117.89 (*C*N), 123.19 (*C*-3), 127.03, 127.38 (*C*-4, *C*-6), 134.85 (*C*-2), 135.38 (*C*-1), 141.16 (*C*-5), 149.31 (*C*H=CHCN).

3-yodo-5-metil-cinamo-nitrilo (1)

[00376] Tres matraces de presión, sellables, de tapa de rosca, de 500 mililitros (etiquetados como A, B y C) se equiparon individualmente con un agitador magnético y se arreglaron sobre baños de aceite calentados a 115°C. Por separado, se agregaron en secuencia a cada matraz: 3-bromo-5-metil-cinamo-nitrilo (3 x 47.5 gramos, 3 x 0.214 moles); *m*-xileno (3 x 171 mililitros), dando una solución color naranja; dimetil-éter de dietilenglicol (3 x 43 mililitros); yoduro de sodio (3 x 64.12 gramos, 3 x 0.428 moles); yoduro de cobre (I) (3 x 4.08 gramos, 3 x 0.0214 moles); y finalmente *N*,*N*'-dimetil-etilen-diamina (3 x 4.60 mililitros, 3 x 0.0427 moles), en cuyo punto, el color se hizo verde oscuro-negro. La tapa de rosca de cada matraz se enjuagó con *m*-xileno (3 x 1 mililitro). El yoduro de sodio sólido insoluble endurecido se movilizó con una espátula, mientras que la solución se desgasificaba: Se burbujearon corrientes continuas de argón a través de las soluciones de cada matraz durante 10 minutos.

[00377] Los tres matraces se sellaron bajo una atmósfera de argón, y se bajaron hasta sus baños de aceite respectivos a 115°C, asegurando una velocidad de agitación moderada en cada una. Las reacciones se dejaron agitándose a 115°C, detrás de un escudo de explosión durante 14 horas, durante la noche.

[00378] Después de este tiempo, se encontró que el Matraz C había detenido la agitación. Los matraces se dejaron enfriar en aire durante 5 minutos antes de abrirse. Las muestras de HPLC de las tres reacciones se prepararon mediante la remoción del *m*-xileno bajo presión reducida y la disolución en MeCN. El análisis se llevó a cabo utilizando el Método de HPLC: Prueba 20.

Matraz A: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 2.5 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

Matraz B: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 1.0 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

Matraz C: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 20 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

[00379] Los tres matraces se desgasificaron mediante burbujeo de corrientes continuas de argón a través de las mezclas de reacción respectivas durante 10 minutos. Los tres matraces se sellaron bajo una atmósfera de argón, y se bajaron hasta sus baños de aceite respectivos a 120°C, asegurando una velocidad de agitación moderada en cada una. Las reacciones se dejaron agitándose a 120°C, detrás de un escudo de explosión durante 2 horas.

[00380] Después de este tiempo, los matraces se dejaron enfriar en aire durante 5 minutos antes de abrirse. Las muestras de HPLC de las tres reacciones se prepararon mediante la remoción del *m*-xileno bajo presión reducida y la disolución en MeCN. El análisis se llevó a cabo utilizando el Método de HPLC: Prueba 20.

Matraz A: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 1.9 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

Matraz B: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 0.9 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

Matraz C: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 7.5 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

Las reacciones A y B se consideraron completas y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. El Matraz C se desgasificó nuevamente mediante burbujeo de una corriente continua de argón a través de la mezcla de reacción durante 10 minutos. El matraz se selló bajo una atmósfera de argón y se bajó

hasta el baño de aceite a 125°C, asegurando una velocidad de agitación moderada. La reacción se dejó agitándose a 125°C, detrás de un escudo de explosión, durante 4 horas adicionales.

[00381] Después de este tiempo, el Matraz C se dejó enfriar en aire durante 5 minutos antes de abrirse. Se preparó una muestra de HPLC de la reacción mediante la remoción del *m*-xileno bajo presión reducida y la disolución en MeCN. El análisis se llevó a cabo utilizando el Método de HPLC: Prueba 20.

Matraz C: Producto mayor (R_t 5.97 minutos), 2.0 por ciento de material de partida (R_t 5.83 minutos).

La Reacción C se consideró completa y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

[00382] El Matraz A se diluyó con terbutil-metil-éter (150 mililitros, 2 veces), y la mezcla se filtró al vacío, para remover los materiales insolubles, a través de un embudo de vidrio sinterizado de 3 litros que contenía Celite (1.5 litros), previamente lavado con el terbutil-metil-éter.

Los Matraces B y C se diluyeron de una manera similar y se filtraron a través del mismo embudo sinterizado de Celite, combinando los tres filtrados A, B y C en un matraz cónico de 12 litros. Los matraces se enjuagaron, y el Celite se eluyó con terbutil-metil-éter (3 litros).

[00383] Los filtrados combinados se volvieron a filtrar al vacío a través de un embudo de vidrio sinterizado limpio de 3 litros que contenía Celite fresco (1.5 litros), previamente lavado con terbutil-metil-éter, para remover los particulados nebulosos restantes. La elución se llevó a cabo con terbutil-metil-éter (4 litros). El filtrado color rojo-café transparente resultante fue estable al almacenamiento a 4°C durante 48 horas.

[00384] El filtrado se concentró bajo presión reducida a 40°C y entonces se removieron los solventes de alto punto de ebullición

bajo un alto vacío a 45°C. La co-evaporación con metanol (50 mililitros, 2 veces) proporcionó un sólido crudo color café (203 gramos).

[00385] El sólido crudo color café (200 gramos), en un matraz de fondo redondo, de tres cuellos, de 2 litros, equipado con sonda de temperatura interna, embudo de adición de 500 mililitros, y agitador superior, se disolvió en metanol (700 mililitros) mediante inmersión en un baño de agua a 53°C. Después de la disolución, el sólido color café se convirtió en una solución color rojo-café. El baño de agua se removió, y se introdujo agua (300 mililitros) en el embudo de adición de 500 mililitros. La adición del agua se llevó a cabo por goteo a una velocidad de agitación moderada durante 3 horas, durante cuyo tiempo, la temperatura interna cayó desde 50°C hasta 24°C. Se empezó a precipitar un sólido color amarillo-café hacia fuera de la solución color rojo-café después de diez minutos, y la adición de 80 mililitros de agua. El licor madre se verificó periódicamente mediante HPLC para determinar la proporción de los isómeros E:Z todavía en solución. Después de agregar 300 mililitros de agua la proporción de E:Z fue de 1:1.1, y se determinó como favorable. La suspensión se enfrió durante 14 horas, permitiendo que la temperatura interna cayera hasta 4°C, antes de filtrarse a través de un embudo de vidrio sinterizado de 3 litros bajo presión reducida. El sólido resultante se lavó con una solución fría de metanol: agua (1:4, 100 mililitros, y luego 200 mililitros, 5°C). El sólido se secó hasta obtener un peso constante en un horno al vacío a 35°C. Se obtuvo un sólido pálido color café del 3-yodo-5-metil-cinamo-nitrilo (149.4 gramos, 86 por ciento de rendimiento). Sin embargo, este material estaba contaminado con el aceite mineral sin remover, como se observó en los espectros de RMN de protones y de carbono.

[00386] El sólido color café ligeramente pegajoso (148.8 gramos), en un matraz cónico de 2 litros, se disolvió en acetonitrilo (1.5 litros), para dar una solución color naranja oscuro-café con glóbulos insolubles de aceite mineral. Esta mezcla se filtró por gravedad a través de un papel filtro (Whatman, 541) removiendo la mayor parte del aceite mineral (10.6 gramos). El filtrado se transfirió a un embudo de separación de 4 litros, y se lavó con heptano (0.5 litros). La capa de heptano se extrajo con acetonitrilo (250 mililitros), y se concentró bajo presión reducida, para dar más aceite mineral (3.2 gramos). Las capas de acetonitrilo se combinaron, se concentraron bajo presión reducida, y se secaron en un horno al vacío a 35°C, proporcionando el 3-yodo-5-metil-cinamo-nitrilo (132.5 gramos, 77 por ciento de rendimiento) como un sólido color café claro. Se observó que este material estaba libre de todo el aceite mineral, mediante los espectros de RMN de protones y de carbono. 3-yodo-5-metil-cinamo-nitrilo: $C_{10}H_8IN$ 269.08 $gmol^{-1}$; P.F.: 98°C se reblandece, 99-100°C se funde; HPLC (Acetonitrilo): Isómero-E R_t 5.97 minutos; pureza del 97 por ciento @ 272 nanómetros (3-bromo-5-metil-cinamo-nitrilo, Isómero-E R_t 5.83 minutos; aproximadamente el 1.4 por ciento @ 272 nanómetros.); ^1H RMN δ_H (400 MHz, $CDCl_3$): 2.33 (3H, s, C*H*$_3$), 5.85 (1H, d, $J_{H,\,H}$ 16.7, CH=C*H*CN), 7.20 (1H, s, Ar-*H*), 7.25 (1H, d, $J_{H,\,H}$ 16.7, C*H*=CHCN), 7.59, 7.60 (2 x 1H, 2 x s, 2 x Ar-*H*); ^{13}C RMN δ_C (100 MHz, $CDCl_3$): 21.09 (*C*H$_3$), 94.93 (*C*-3), 97.70 (CH=CHCN), 117.91 (*C*N), 127.61 (*C*-6), 133.37 (*C*-2), 135.44 (*C*-1), 140.81 (*C*-4), 141.15 (*C*-5), 149.18 (*C*H=CHCN).

Ejemplo 11

Configuración absoluta del compuesto III metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico

[00387] 5 miligramos del compuesto III se suspendieron en 50 mililitros de anisol. Se formaron cristales adecuados para el análisis de rayos-X de un solo cristal después de 2 días. Los cristales fueron monoclínicos con a grupo de espacio de P21 y dimensiones celulares unitarias de: a = 13.0983 Å, b = 10.9625 Å, c = 16.4266 Å, α = 90°, β = 103.6063°, y γ = 90°. En el cristal, la unidad asimétrica contenía dos moléculas independientes del compuesto III (molécula A y molécula B), y una sola molécula, parcialmente ocupada, (aproximadamente el 86 por ciento) de anisol como el solvente. El parámetro de Flack se determinó como de -0.04(7) para la molécula A y 1.04(7) para la molécula B. Con base en la determinación anterior, se asignó la estereoquímica absoluta, y los centros quirales en P1A y P1B están ambos en la configuración R. La Figura 2A proporciona una vista de la molécula A incluyendo la estereoquímica en P1A, y la Figura 2B proporciona una vista de la molécula B, incluyendo la estereoquímica en P1B.

Ejemplo 12

Farmacología del Compuesto I

Metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-4-fluoro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico

y

Compuesto III

Metil-éster del ácido (2-carbamoil-5-cloro-1H-indol-3-il)-[3-((E)-2-ciano-vinil)-5-metil-fenil]-(R)-fosfínico

[00388] Las siguientes Tablas muestran la actividad anti-VIH in vitro de los 3-fosfoindoles enantioméricamente puros de los compuestos I y III en los ensayos, incluyendo el análisis de resistencia a los fármacos probados. La Tabla 1 muestra la actividad de los compuestos contra un panel de enzimas de transcriptasa inversa de VIH-1 mutante. La actividad antiviral de

los compuestos de 3-fosfoindol del compuesto I y el compuesto III se compara con la actividad de los compuestos de control del compuesto EFV (efavirenz, 6-cloro-4-ciclopropil-etinil-4-trifluoro-metil-1,4-dihidro-2H-3,1-benzoxazin-2-ona) con varios virus.

[00389] Como se muestra en la Tabla 1, el compuesto I inhibió la enzima de transcriptasa inversa (RT) de VIH-1 (subtipo B, cepa BH10) con valores medios de la concentración inhibidora del 50 por ciento (IC_{50}) en el intervalo de 0.366 ± 0.251 μM (transcriptasa inversa de tipo silvestre) a 1.411 ± 0.873 μM (K103N/Y181C). De una manera similar, las IC_{50}s del compuesto III estuvieron en el intervalo de 0.343 ± 0.083 μM (transcriptasa inversa de tipo silvestre) a 1.614 ± 0.279 μM (K103N/Y181C). El compuesto I y el compuesto III no fueron inhibidores para las polimerasas humanas alfa (IC_{50}s ≥ 145 μM), beta (IC_{50}s ≥ 422 μM) o gamma (IC_{50}s ≥ 60 μM) como se ve en la Tabla 5, demostrando la selectividad de los compuestos de prueba. Los estudios cristalográficos con el compuesto I y el doble mutante K103N/Y181C de transcriptasa inversa de VIH revelaron que el compuesto I se enlaza a la buchaca de NNRTI hidrofóbica conocida en la enzima.

[00390] En los ensayos de cultivo celular de VIH-1, utilizando células MT-4 y un VIH-1 subtipo B (cepa BH-10), el compuesto I y el compuesto III inhibieron la producción de VIH con valores medios de la concentración efectiva del 50 por ciento (EC_{50}) de 1 nM y 1.2 nM, respectivamente (véase la Tabla 6). en los ensayos llevados a cabo en células mononucleares de sangre periférica humanas, el compuesto I y el compuesto III inhibieron la producción de VIH-1 con una EC_{50} media de 0.4 nM (cepa BH-10) o de 1.5 nM (cepa NL4-3). Contra 3 diferentes cepas virales de VIH-1 en 5 diferentes líneas celulares humanas hospederas, el intervalo de EC_{50} determinado para el compuesto I fue de 0.5 a

2.0 nM, y para el compuesto III fue de 0.5 a 1.7 nM. El compuesto I y el compuesto III fueron activos contra un panel de 9 diferentes subtipos de VIH-1 con intervalos de potencia respectivos de 0.25 a 3.2 nM, y de 0.2 a 2.14 nM. Las actividades del compuesto I y del compuesto III se redujeron 24.8 y 19.5 veces, respectivamente, en la presencia de la glicoproteína de ácido alfa-1 y suero humano al 45 por ciento.

[00391] En la prueba de citotoxicidad de 4 días en 6 líneas celulares hospederas humanas de VIH-1, el compuesto I y el compuesto III mostraron valores medios de la concentración citotóxica del 50 por ciento (CC_{50}) de 16.6 a 32.9 µM, y de 14.8 a 50.0 µM, respectivamente. En las células mononucleares de sangre periférica, se determinaron los valores CC_{50} de 52.6 (Compuesto I), y 66.9 µM (Compuesto III). En la prueba de 9 a 12 días en las líneas celulares HeLa, HuH7 y HepG2, los valores CC_{50} del compuesto I y del compuesto III estuvieron en el intervalo de 23.5 a 31.5 µM. Basándose en las proporciones de CC_{50}/EC_{50} determinadas en células MT-4, se calcularon los valores de Índice de Selectividad (SI) de >22,000 y >18,000 para el compuesto III y el compuesto I, respectivamente.

[00392] En la prueba de resistencia cruzada utilizando una variedad de líneas celulares y cepas de VIH-1, el compuesto I y el compuesto III retuvieron una buena potencia contra los virus resistentes a NNRTI portadores de las mutaciones K103N, Y181C o K103N/Y181C (los valores EC_{50} respectivos permanecieron debajo de 4.5 y 14.5 nM), mientras que el EFV mostró una resistencia considerable contra el doble mutante en particular (valores EC_{50} de 36 a 116 nM).

[00393] El perfil de resistencia del compuesto I y del compuesto III se examinó a mayor profundidad utilizando 3 paneles diferentes de virus en la prueba llevada a cabo por

Monogram BioSciences (anteriormente ViroLogic): un panel de rastreo de virus con resistencia baja a moderada a EFV; un panel de 8 virus altamente resistentes a EFV, y un panel de amplio espectro de 64 virus incluyendo 40 virus resistentes a NNRTI con mutantes de resistencia a NNRTI individuales, dobles, y triples. El compuesto I y el compuesto III fueron altamente activos contra un sub-panel de mutantes portadores de las mutaciones NRTI y PI. El compuesto I y el compuesto III fueron superiores a EFV contra esencialmente todos los virus resistentes a EFV, incluyendo los virus con mutantes dobles y triples. El compuesto I fue de 2 a 3 veces más potente que el compuesto III contra los virus resistentes a EFV con mutantes dobles y triples.

[00394] En una serie de estudios de interacción *in vitro*, no se observó ninguna interacción negativa entre el compuesto I y el compuesto III y los 7 NRTIs o los 6 PIs aprobados para la terapia de VIH-1 en la clínica.

FARMACODINÁMICA PRIMARIA

Lista de abreviaturas

IIIB	Cepa de laboratorio de VIH-1 comúnmente utilizada
A98	Alanina en la posición 98 de la transcriptasa inversa
AAG	Glicoproteína de ácido alfa-1
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
AZT	Zidovudina
BH10	Cepa del virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 adaptada en el laboratorio
CC_{50}	Concentración citotóxica del 50 por ciento
CPE	Efecto citopático
ADN	Ácido desoxirribonucleico
DSA	Ensayo de susceptibilidad a fármacos
E138K	Cambio de glutamato a lisina en la posición 138 de la

	transcriptasa inversa
EC_{50}, EC_{50}s	Concentración efectiva del 50 por ciento
EFV	Efavirenz
ELISA	Ensayo inmunosorbente enlazado con enzimas
F227F/L	Fenilalanina/leucina en la posición 227 de la transcriptasa inversa
FBS	Suero bovino fetal
G190A	Cambio de glicina a alanina en la posición 190 de la transcriptasa inversa
G190A/G	Cambio de glicina/alanina en la posición 190 de la transcriptasa inversa
G190S	Cambio de glicina a serina en la posición 190 de la transcriptasa inversa
GLP	Buenas prácticas de laboratorio
H9	Línea de células-T humana derivada de un paciente con linfoma de células-T
HepG2	Línea celular de hepatoma humano
HeLa	Línea celular humana aislada a partir de un paciente con adenocarcinoma
HIV, HIV-1	Virus de inmunodeficiencia humana tipo 1
HIV-2	Virus de inmunodeficiencia humana tipo 2
HS	Suero humano
HuH7	Línea celular de hepatoma humano
IC_{50}, IC_{50}s	concentración inhibidora del 50 por ciento
IND	Solicitud de Nuevo Fármaco de Investigación
K101E	Cambio de lisina a glutamato en la posición 101 de la transcriptasa inversa
K103N	Cambio de lisina a asparagina en el residuo 103 de la transcriptasa inversa
K103R	Cambio de lisina a arginina en el residuo 103 de la

	transcriptasa inversa
K103S	Cambio de lisina a serina en la posición 103 de la transcriptasa inversa
L100I	Cambio de leucina a isoleucina en la posición 100 de la transcriptasa inversa
M184V	Cambio de metionina a valina en la posición 184 de la transcriptasa inversa
mg	Miligramos
MOLT-4	Células-T humanas aisladas a partir de un paciente con leucemia
MT-2	Línea de células-T humana aislada a partir de un paciente con leucemia de células-T de adultos
MT-4	Línea de células-T humana aislada a partir de un paciente con leucemia de células-T de adultos
MTS	(3-(4,5-dimetil-tiazol-2-il)-5-(3-carboxi-metoxi-fenil)-2-(4-sulfo-fenil)-2H-tetrazolio, sal interna)
MTT	bromuro de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolio
NAM	Mutación asociada con nucleósidos
NL4-3, 4595	Cepa de laboratorio de VIH-1 comúnmente utilizada
nM	Nanomolar
NNRTI, NNRTIs	Inhibidores de transcriptasa inversa que no son nucleósidos
NRTI	Inhibidor de transcriptasa inversa de nucleósidos/nucleótidos
P225H	Cambio de prolina a histidina en el residuo 225 de la transcriptasa inversa
P227L	Cambio de prolina a leucina de la posición 227 de la transcriptasa inversa
P236L	Cambio de prolina a leucina en la posición 236 de la

	transcriptasa inversa
p24	HIV p24 proteína de núcleo
p28	SIV p28 proteína de núcleo
PI	Inhibidor de proteasa
PBMC	Células mononucleares de sangre periférica
RC	Capacidad de réplica
ROD	Cepa de laboratorio de VIH-2 comúnmente utilizada
RT	Transcriptasa inversa
SD	Desviación estándar
SI	Índice de selectividad
SIV	Virus de inmunodeficiencia de simio
U937	Línea celular de monocitos humana aislada a partir de un paciente con linfoma
V106A	Cambio de valina a alanina en la posición 106 de la transcriptasa inversa
V106M	Cambio de valina a metionina en la posición 106 de la transcriptasa inversa
V108I	Cambio de valina a isoleucina en la posición 108 de la transcriptasa inversa
V179D	Cambio de valina a ácido aspártico en el residuo 179 de la transcriptasa inversa
WT, W.T., wt	Tipo silvestre
Y181C	Cambio de tirosina a cisteína en el residuo 181 de la transcriptasa inversa
Y181V	Cambio de tirosina a valina en la posición 181 de la transcriptasa inversa
Y188L	Cambio de tirosina a leucina en la posición 188 de la transcriptasa inversa
µg	Microgramos
µM	Micromolar

Actividad antiviral *in vitro* contra la enzima de transcriptasa inversa de VIH

[00395] Los perfiles de actividad del compuesto I, el compuesto III, y EFV contra la transcriptasa inversa de VIH se determinaron utilizando un panel de ensayos de transcriptasa inversa (RT) de VIH *in vitro*, como se muestra en la Tabla 1. Estos estudios emplearon la enzima de transcriptasa inversa de VIH de tipo silvestre derivada a partir de VIH subtipo B (cepa BH-10), junto con un panel estándar de enzimas mutantes resistentes a NNRTI dirigidas al sitio con las sustituciones K103N e Y181C solas o en combinación.

[00396] Cuando se probó *in vitro*, el compuesto I inhibió la transcripción inversa de VIH con los valores IC_{50} en el intervalo de 0.366 ± 0.251 µM (transcriptasa inversa de tipo silvestre) a 1.411 ± 0.873 µM (K103N/Y181C). De una manera similar, las IC_{50}s derivadas del compuesto III estuvieron en el intervalo de 0.343 ± 0.083 µM (transcriptasa inversa de tipo silvestre) a 1.614 ± 0.279 µM (K103N/Y181C). EFV proporcionó el perfil de inhibición *in vitro* esperado exhibiendo actividad de tipo silvestre contra la enzima Y181C, pero una actividad fuertemente deteriorada contra las enzimas mutantes K103N y K103N/Y181C.

Tabla 1

Actividad contra la Transcriptasa Inversa de VIH-1 en el Ensayo Enzimático

Compuesto	N	Promedio de Valores IC_{50} (µM) ± Desviación Estándar			
		W.T.[a]	Y181C[b]	K103N[b]	Y181C/ K103N[b]
I	4	0.366 ± 0.251	0.526 ± 0.285	0.782 ± 0.801	1.411 ± 0.873

III	5	0.343 ± 0.083	0.361 ± 0.086	2.203 ± 1.259	1.614 ± 0.279
EFV	4	0.055 ± 0.019	0.0765 ± 0.047	1.7973 ± 0.19	1. 4313 ± 0.31

IC_{50} = Concentración del inhibidor que reduce la actividad enzimática por el 50 por ciento.

N = El número de experimentos de réplica realizados.

[a] Enzima de Transcriptasa Inversa de VIH de tipo silvestre en la estructura base de BH10.

[00397] La actividad relativa de los agentes de prueba y de comparación contra los diferentes virus se puede ver a partir de los datos de veces de resistencia presentados en la Tabla **2**.

Tabla 2

Compuesto	**Veces de Cambio**			
	W.T.	**Y181C**	**K103N**	**Y181C/K103N**
I	1	1.6 ± 0.7	3.2 ± 3.5	5.0 ± 3.4
III	1	3.2 ± 1.1	1.2 ± 0.4	12.7 ± 4.3
EFV	1	2.3 ± 1.5	34.3 ± 17.5	36.8 ± 20.5

Veces de Cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividido por la EC_{50} para el virus de VIH de tipo silvestre.

Se calculó la proporción de veces de cambio como el promedio de las veces de cambio probadas en paralelo.

[00398] Las concentraciones de fármaco calculadas requeridas para bloquear el 50 por ciento de la enzima (IC_{50}), y los datos mostrados en las Tablas 1 a 4 se midieron en la presencia de detergente (el cual aumenta el valor IC_{50}); sin embargo, en términos generales, se obtuvieron valores más bajos en ausencia de detergente.

Actividad antiviral *in vitro* contra enzimas de transcriptasa inversa de VIH adicionales

[00399] Los Compuestos I y III se probaron contra un panel más amplio de enzimas de transcriptasa inversa portadoras de las mutaciones de resistencia a NNRTI comunes. Los datos de eficacia se muestran en la Tabla **3** y las veces de cambio correspondientes se resumen en la Tabla **4**. Los estudios se resumen en el texto que sigue.

Tabla 3

Actividad antiviral in vitro contra enzimas de transcriptasa inversa de VIH-1 mutante dirigida al sitio

Promedio de Valores IC50 (μM) ± Desviación Estándar				
Mutación RT	**N**	**Comp. I**	**Comp. III**	**EFV**
W.T.[b]	10	0.23 ± 0.05	0.21 ± 0.02	0.04 ± 0.006
L1001[c]	3	0.16 ± 0.03	0.13 ± 0.06	0.26 ± 0.09
V106M[c]	3	0.23 ± 0.06	0.20 ± 0.06	0.37 ± 0.07
V1081[c]	3	1.20 ± 0.71	0.83 ± 0.35	0.30 ± 0.05
E138K[c]	3	4.67 ± 0.91	2.99 ± 0.18	0.6 ± 0.16
M184V[d]	4	0.29 ± 0.08	0.17 ± 0.08	0.02 ± 0.00
Y188L[c]	3	1.25 ± 0.38	1.15 ± 0.36	1.73 ± 0.22
L1001/ K103N[c]	4	0.43 ± 0.33	0.40 ± 0.26	>2
Intervalo de actividad promedio		**0.16 – 4.67**	**0.13 – 2.99**	**0.02 - >2**

(μM)				

IC_{50}-= Concentración del inhibidor que reduce la actividad enzimática por el 50 por ciento

[a]: Número de experimentos de réplica realizados por enzima, excepto en donde se indique de otra manera.

[b]: Enzima de Transcriptasa Inversa de VIH-1 de tipo silvestre en la estructura base de BH10.

[c]: Enzimas de Transcriptasa Inversa derivadas de BH10 con mutaciones de resistencia a fármacos NNRTI dirigidas al sitio.

[d]: Enzima de Transcriptasa Inversa derivada de BH10 con mutaciones de resistencia a fármacos NNRTI dirigidas al sitio.

[e]: 2 conjuntos de datos utilizados para los cálculos de la IC_{50}.

[00400] Como se puede ver a partir de los datos, el compuesto III y el compuesto I retuvieron una eficacia sustancial *in vitro* contra las enzimas de transcriptasa inversa de VIH con sustituciones en los codones 100, 106, 184, y 134. La única pérdida de eficacia significativa se vio para los mutantes en los codones 108, 138 y 188.

Tabla 4

Veces de resistencia contra un panel de transcriptasa inversa de VIH-1 mutante dirigida al sitio

Promedio de Veces de Cambio ± Desviación Estándar					
Mutación RT	**N**	**Comp. I**	**Comp. III**	**EFV**	
W.T.[b]	10	1	1	1	

Promedio de Veces de Cambio ± Desviación Estándar					
Mutación RT	**N**	**Comp. I**	**Comp. III**	**EFV**	
L1001[c]	3	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.6	3.3 ± 4.0	
V106M[c]	3	1.2 ± 0.5	1.0 ± 0.3	13.4 ± 8.2	
V1081[c]	3	4.0 ± 5.3	3.8 ± 3.8	3.7 ± 2.3	
E138K[c]	3	15.5 ± 6.8	13.7 ± 1.9	7.6 ± 7.5	
M184V[d]	4	1.7 ± 0.5	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.4	
Y188L[c]	3	6.0 ± 1.7	7.0 ± 5.9	59.6 ± 25.8	
L1001/ K103N[c]	4	2.4 ± 1.2	1.8 ± 0.8	>101 ± 43.2	
Intervalo de actividad promedio (µM)		**0.5 – 15.5**	**0.6 -13.7**	**0.8 - 101**	

Veces de resistencia = IC_{50} para la Transcriptasa Inversa de VIH-1 mutante dividida por la IC_{50} para la enzima de tipo silvestre en el ensayo correspondiente.

Se calculó el promedio de veces de cambio como la media de veces de cambio individuales probadas en paralelo.

N = Número de conjuntos de réplica de los experimentos realizados, excepto en donde se indique al pie de página.

[a]: Dos conjuntos de datos utilizados para el cálculo del promedio

de veces de cambio.

[00401] Sobre todo, los compuestos I y III dieron cambios de veces en el intervalo de 0.5 ± 0.2 a 1.50 ± 6.8.

Efecto sobre las polimerasas alfa, beta y gamma de ADN humano

[00402] La transcriptasa inversa de VIH, como otra polimerasa viral, comparte una homología estructural limitada con las polimerasas de ADN celulares responsables de la síntesis y reparación del ADN nuclear y mitocondrial normales. Esto presenta la posibilidad formal de que los inhibidores de transcriptasa inversa de VIH puedan inhibir las polimerasas celulares, dando como resultado toxicidad celular. En particular, la inhibición de la polimerasa gamma tiene el potencial para dar como resultado toxicidad mitocondrial. Se evaluó la capacidad del compuesto I y del compuesto III para inhibir las polimerasas de ADN celulares utilizando ensayos *in vitro* convencionales (Tabla 5).

[00403] Cuando se probaron *in vitro*, el compuesto III, el compuesto I, y EFV no alcanzaron una IC_{50} con la polimerasa alfa o beta de ADN celular humano en concentraciones en el intervalo de 100 a >450 µM. De una manera similar, los datos preliminares (n = 1) mostraron que las IC_{50}s del compuesto I y EFV fueron >100 µM contra la actividad de la polimerasa gamma de ADN humano *in vitro*, mientras que el compuesto III tuvo una IC_{50} de 60.1 µM contra esta enzima.

Tabla 5

Actividad *in vitro* contra polimerasas alfa, beta y gamma dependientes de ADN celular humano

Compuesto	N	Promedio de valores IC_{50} (μM) ± Desviación Estándar		
		ADN Pol Alfa[a]	ADN Pol Beta[b]	ADN Pol Gamma[c]
I	4/4/1	145.7 ± 44.5	≥422.2 ± 149.6	**118.5**
III	4/4/1	159.3 ± 84.3	≥479.0 ± 41.9	**60.1**
EFV	4/4/1	108.6 ± 40.9	314.2 ± 177.2	**116.3**
Act.D	**4/4/1**	**16.1 ± 11.2**	**23.0 ± 10.4**	**16.9**

IC_{50} = Concentración efectiva que inhibe la actividad enzimática por el 50 por ciento *in vitro*.

N = Número de experimentos de réplica realizados para cada polimerasa.

Act. D = Actinomicina D utilizada como un control de ensayo positivo.

[a]: Polimerasa alfa de ADN humano.

[b]: Polimerasa beta de ADN humano.

[c]: Polimerasa gamma de ADN humano; datos preliminares a partir de un solo experimento.

Demostración directa de enlace a la transcriptasa inversa de VIH

[00404] Se llevó a cabo la determinación estructural de la transcriptasa inversa de VIH del doble mutante K103N/Y181C (la misma enzima de la cepa BH-10 utilizada en los ensayos de actividad) co-cristalizada con los compuestos I y III.

[00405] Los NNRTIs normalmente son pequeños y tienen una fuerte afinidad por una buchaca hidrofóbica localizada cerca del sitio catalítico de la transcriptasa inversa. El enlace del inhibidor restringe la flexibilidad de la enzima e interfiere con la síntesis apropiada del ADN (Clavel y Hance, HIV drug resistance. N Engl J Med; 350: 1023-35 (2004)).

[00406] Se llevó a cabo la cristalización de la proteína mutante K103N/Y181C en la presencia del compuesto I. La proteína de transcriptasa inversa K103N/Y181C de VIH-1 recombinante se concentró en la presencia del compuesto I, y entonces se utilizó en los experimentos de micro-siembra de cristal sucesivos, para proporcionar cristales de proteína de un tamaño suficiente para permitir la recopilación de datos de rayos-X. Se utilizó un solo cristal para la difracción y modelación de rayos-X. En 3Å, el esquema muestra el compuesto I enlazado a la buchaca del NNRTI de la transcriptasa inversa de VIH-1.

[00407] En la Figura **1A** se muestra la estructura de cristal de rayos-X del compuesto I en un co-complejo con la enzima del doble mutante de VIH-1 K103N/Y181C enzimáticamente activa, y en la Figura **1B** se muestra un esquema. La estructura muestra el compuesto I enlazándose a la buchaca del NNRTI en la transcriptasa de VIH, de una manera similar al fármaco aprobado efavirenz (Bacheler y colaboradores, J Virol; 75: 4999-5008 (2001)). El anillo de indol del compuesto I se puede ver en estrecha proximidad a los codones 101 y 103 de la transcriptasa inversa de VIH-1.

Actividad celular

[00408] Esta sección resume los perfiles de actividad antiviral del compuesto I y del compuesto III contra el VIH-1 y el VIH-2 en sistemas de cultivo celular. Estas actividades se midieron con una amplia variedad de ensayos y puntos finales, utilizando múltiples

cepas de VIH y tipos de células humanas que soportan la réplica del VIH.

Ejemplo 13

Actividad contra VIH-1 cepa BH10

[00409] El ensayo basado en células de VIH estándar es un ensayo de 4 días en células MT-4 con una lectura de p24 ELISA. Se determinó la actividad anti-VIH-1 *in vitro* (valor EC_{50}) del IDX12899 en un ensayo basado en células convencional de susceptibilidad a fármacos (DSA) esencialmente como se describe en Devine D, Mathews N, Kinchington D (2000), Antiviral Meth and Prot. Human Press Inc., Totowa, NJ. 185-199. El virus de prueba de VIH-1 es de origen del subtipo B, cepa BH10. El panel de prueba estándar incluyó el virus de tipo silvestre, así como los derivados mutantes dirigidos al sitio Y181C, K103N, y K103N/Y181C. Los datos a partir de este ensayo se resumen en la Tabla **6** más adelante. Contra el virus BH-10 de tipo silvestre, las actividades inhibidoras del compuesto I y del compuesto III, y de EFV fueron todas muy similares a las EC_{50}s de alrededor de 1 nM. Los valores de control estuvieron en buen acuerdo con los resultados previamente publicados (Young y colaboradores, 1995, Antimicrob Agents Chemother: 39(12): 2602-5; Andries y colaboradores, 2004, Antimicrob Agents Chemother; 48(12): 4680-6; Janssen y colaboradores, 2004, J Med Chem; 48(6): 1901-9; Boone 2006, Curr. Opin Investig drugs; 7(2): 128-35), y los obtenidos utilizando el ensayo FenoScreen^{MR}.

Tabla 6

Promedio de valores IC50 (µM) ± Desviación Estándar				
Compuesto	**N**	**ADN Pol Alfa[a]**	**ADN Pol Beta[b]**	**ADN Pol Gamma[c]**

Promedio de valores IC50 (μM) ± Desviación Estándar				
Compuesto	**N**	**ADN Pol Alfa[a]**	**ADN Pol Beta[b]**	**ADN Pol Gamma[c]**
I	4	245.7 + 44.5	422.2 + 149.6	118.5
II	4	159.3 + 84.3	>479.0 + 41.9	>95.2 + 9.5
EFV	4	108.5 + 40.9	314 + 177.2	>100
Act. D	4	16.1 + 11.2	23.0 + 10.4	11.8 + 1.9
ddCTP	4	N/A	N/A	1.5 + 0.6

IC_{50} = Concentración efectiva que inhibe la actividad enzimática por el 50 por ciento *in vitro*.

N = Número de experimentos de réplica realizados para cada polimerasa.

Act. D = Actinomicina D utilizada como un inhibidor de control de ensayo positivo.

ddCTP = Trifosfato de didesoxicitidina utilizado como un inhibidor de control positivo en el ensayo de polimerasa gamma de ADN.

N/A = No aplicable.

[a]: Polimerasa alfa de ADN humano.

[b]: Polimerasa beta de ADN humano.

[c]: Polimerasa gamma de ADN humano.

[d]: Se observaron precipitados visibles.

[00410] Contra los virus mutantes, el EFV exhibió el perfil antiviral esperado; éste inhibió eficientemente el crecimiento del virus Y181C (EC_{50} = 2.5 nM) pero fue significativamente menos activo contra los virus mutantes K103N o Y181C/K103N (valores

EC_{50} promedio de 41 a 42 nM).

[00411] Las actividades de los diferentes artículos de prueba contra los virus mutantes son evidentes a partir de los valores de veces de resistencia correspondientes resumidos en la Tabla **7.** Todos los 5 compuestos mostraron una actividad similarmente reducida contra el mutante Y181C (las veces de cambio promedio estuvieron en el intervalo de 2.3 a 3.7). Mientras que el EFV mostró un promedio de 34.3 veces de cambio contra el virus K103N, los compuestos restantes mostraron una actividad esencialmente sin cambios (de 0.8 a 1.2 veces).

Tabla 7

Veces de resistencia de los compuestos contra el virus de VIH-1 BH10

Compuesto	Veces de Cambio			
	W.T.	Y181C	K103N	K103N/Y181C
Comp. I	1	3.4 ± 1.7	0.9 ± 0.4	4.5 ± 2.5
Comp. III	1	3.2 ± 1.1	1.2 ± 0.4	12.7 ± 4.3
EFV	1	2.3 ± 1.5	34.3 ± 17.5	36.8 ± 20.5

Veces de cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividida por la EC_{50} del virus de VIH tipo silvestre.

El promedio de veces de cambio se calculó como la media de veces de cambio individuales probadas en paralelo.

[00412] La actividad de los compuestos también se evaluó con el mismo tipo de virus y célula utilizando una lectura de ensayo diferente, basándose en el efecto citopático (CPE). Este ensayo mide la viabilidad celular en seguida de la infección por VIH-1 en lugar de la producción de proteína de capsida, y también difiere del ensayo estándar en términos del establecimiento y la ejecución del ensayo, y por consiguiente, proporciona una

corroboración útil de los resultados obtenidos mediante el último método. Los datos de 5 experimentos independientes se resumen en la siguiente Tabla 8.

Tabla 8

Actividad contra el virus de VIH-1 BH10 en el ensayo de células MT-4 por el efecto citopático

Com-puesto	N [a]	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar			
		W.T. [b]	Y181C [b]	K103N [b]	K103N/ Y181C [b]
Comp. I	5	0.0003 ± 0.0001	0.0018 ± 0.0003	0.0003 ± 0.0001	0.0035 ± 0.0015
Comp. III	5	0.0002 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0006	0.0001 ± 0.0001	0.0066 ± 0.0010
EFV	5	0.0006 ± 0.0001	0.0016 ± 0.0001	0.0410 ± 0.0130	0.0530 ± 0.0120

[a] = Número de experimentos de réplica realizados.

[b] = Virus BH10 mutantes de tipo silvestre y dirigidos al sitio adaptados en el laboratorio.

Tabla 9

Veces de resistencia

Compuesto	Veces de cambio			
	W.T.	Y181C	K103N	K103N/Y181C
Comp. I	1	6.5 ± 0.9	1.0 ± 0.3	12.7 ± 5.0
Comp. III	1	11.9 ± 4.7	1.1 ± 0.3	55.6 ± 21.8

EFV	1	2.7 ± 0.7	66.8 ± 14.8	88.0 ± 20.5

Veces de cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividida por la EC_{50} para el virus de VIH de tipo silvestre.

El promedio de veces de cambio se calculó como la media de veces de cambio individuales probadas en paralelo.

[00413] En el ensayo del efecto citopático, la réplica del virus BH10 de tipo silvestre fue potentemente inhibida por el compuesto I, el compuesto III, y el EFV, como se muestra por los valores EC_{50} medios subnanomolares (intervalo de 0.1 a 0.7 nM).

[00414] Los virus del panel de BH10: Y181C, K103N y K103N/Y181C fueron inhibidos efectivamente por el compuesto I y el compuesto III con valores EC_{50} medios en el intervalo desde 0.1 hasta un máximo de 6.6 nM. Como se esperaba, el EFV inhibió eficientemente el crecimiento del virus Y181C pero fue mucho menos activo contra los otros virus mutantes (valores EC_{50} de 41 a 53 nM). Los valores de control estuvieron de acuerdo con los resultados anteriormente descritos (Young y colaboradores, 1995, Antimicrob Agents Chemother: 39(12): 2602-5; Andries y colaboradores, 2004, Antimicrob Agents Chemother; 48(12): 4680-6; Janssen y colaboradores, 2004, J Med Chem; 48(6): 1901-9; Boone 2006, Curr. Opin Investig drugs; 7(2):128-35).

[00415] En términos de veces de cambio, comparándose con la cepa de tipo silvestre BH10, el compuesto I, el compuesto III, y EFV mostraron un intervalo de aumento de 2.7 a 11.9 veces contra el mutante Y181C, mientras que el compuesto I y el compuesto III no mostraron cambios (<1.8 veces) contra el mutante K103N. El mutante K103N/Y181C dio una mayor variabilidad y veces de cambio de 12.7 (Compuesto I) y de 55.6 (Compuesto III). El EFV mostró veces de cambio promedio

respectivos de 66.8 y 88.0 contra los mutantes K103N y K103N/Y181C, respectivamente.

Actividad contra la cepa NL4-3 del VIH-1

[00416] Las actividades del compuesto I y del compuesto III también se determinaron en un ensayo basado en células, empleando los virus de VIH-1 subtipo B, con una estructura base de NL4-3. Se ensayó el panel estándar de virus NL4-3 (tipo silvestre, Y181C, K103N y K103N/Y181C) como con los compuestos de prueba, como se describe para el panel de virus BH-10 anterior, utilizando la lectura ELISA. Los resultados de estos ensayos se resumen en la Tabla **10**.

[00417] Los resultados de este estudio son generalmente comparables a los que se ven con los virus BH10 virus. En el fondo de NL4-3, los compuestos son potentes contra el virus NL4-3 de tipo silvestre (las EC_{50}s estuvieron en el intervalo de 0.7 a 2.3 nM) y el virus Y181C (las EC_{50}s estuvieron en el intervalo de 0.7 a 2.3 nM).

Tabla 10

Actividad contra el virus de VIH-1 NL4-3

en ensayos de células MT-4

Com-puesto	N [a]	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar			
		W.T. [b]	Y181C [b]	K103N [b]	K103N/ Y181C [b]
Comp. I	5	0.0020 ± 0.0001	0.0039 ± 0.0016	0.0014 ± 0.0004	0.0028 ± 0.0008

Comp. III	5	0.0017 ± 0.0003	0.0036 ± 0.0020	0.0015 ± 0.0003	0.0065 ± 0.0023
EFV	5	0.0023 ± 0.0002	0.0057 ± 0.0019	0.0612 ± 0.0338	0.0619 ± 0.0183

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

[a] N = Número de experimentos de réplica realizados.

[b] Virus BH10 mutantes de tipo silvestre y dirigidos al sitio adaptados en el laboratorio.

Tabla 11

Veces de resistencia

Compuesto	**Veces de cambio**			
	W.T.	**Y181C**	**K103N**	**K103N/Y181C**
Comp. I	1	2.0 ± 0.8	0.7 ± 0.2	1.4 ± 0.4
Comp. III	1	2.1 ± 1.1	0.9 ± 0.2	3.9 ± 1.7
EFV	1	2.5 ± 0.7	34.6 ± 7.8	27.4 ± 8.6

Veces de cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividido por la EC_{50} para el virus de VIH de tipo silvestre.

El promedio de veces de cambio se calculó como la promedio de veces de cambios del individuo probadas en paralelo.

Actividad contra los aislados clínicos de VIH-1 en células MT-2.

[00418] La eficacia antiviral del compuesto I y del compuesto III, se midió después contra dos aislados clínicos de VIH-1 adaptados a la línea celular MT-2 junto con los fármacos de

comparación. El panel de prueba de virus consistió en mutantes aislados que expresaban Y181C (#3350) y K103N/Y181C (#5054) comparándose con un virus de tipo silvestre (WT) sensible. Los datos se resumen en la siguiente Tabla **12**.

Tabla 12

Actividad contra los aislados clínicos de VIH-1 en el ensayo de células MT-2

Compuesto	N	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar		
		W.T. (BH10) [a]	Y181C [b]	K103N/Y181C [c]
Comp. I	5	0.0009 ± 0.0006	0.0014 ± 0.0006	0.0020 ± 0.0003
Comp. III	5	0.0011 ± 0.0004	0.0015 ± 0.0005	0.0057 ± 0.0035
EFV	5	0.0008 ± 0.0002	0.0018 ± 0.0003	0.0724 ± 0.0217

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

[a] Cepa de tipo silvestre adaptada en el laboratorio.

[b] El aislado clínico 3350 es resistente a Nevirapina. Este mutante también posee una mutación M184V.

[c] Aislado clínico 5054.

Tabla 13

Veces de resistencia

Compuesto	Veces de cambio		
	W.T.	Y181C	K103N/Y181C
Comp. I	1	2.2 ± 1.3	3.2 ± 2.1
Comp. III	1	1.7 ± 0.9	6.2 ± 4.3
EFV	1	2.2 ± 0.6	93.1 ± 31.4

Veces de cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividido por la EC_{50} para el VIH de tipo silvestre. Se observa que las veces de cambio no se determinaron a partir de los valores EC_{50} promedio en la Tabla 12, sino que primero se calcularon para los experimentos individuales. Entonces se tomó el promedio de veces de cambio +/- SD a partir de todos los experimentos.

Actividad contra las cepas de VIH-1 de PBMC humanas

[00419] La actividad antiviral del compuesto I y el compuesto III y los comparadores se midió después contra un panel de VIH-1 en células de mononucleares de sangre periférica (PBMC). El panel de virus completo consiste en 3 mutantes aislados clínicos que expresan virus K103N (#4937 y #5002), y K103N/Y181C (#5004), junto con dos virus de tipo silvestre (WT) sensibles a NNRTI (BH10 y NL4-3). Los resultados a partir de cinco conjuntos de datos independientes se resumen en la Tabla **14**.

Tabla 14

Actividad contra los virus de VIH-1 en el ensayo celular de PBMC

Com-	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar

puesto	W.T. (BH10) [a]	W.T. (NL4-3) [a]	K103N [b]	K103N/ Y181C [c]
Comp. I	0.0004 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0007	0.0007 ± 0.0003	0.0027 ± 0.0016
Comp. III	0.0004 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0005	0.0009 ± 0.0004	0.0088 ± 0.0044
EFV	0.0009 ± 0.0003	0.0021 ± 0.0007	0.0414 ± 0.0369	0.0687 ± 0.0487

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción del virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

Los números representan los valores promedio +/- desviación estándar derivados a partir de 5 experimentos independientes.

[a] Cepa de virus tipo silvestre adaptada en el laboratorio.

[b] Los resultados utilizaron los aislados clínicos 4937 (n=3), y 5002 (n=2).

[c] Aislado clínico 5004.

[00420] Los 5 compuestos fueron extremadamente potentes contra el virus BH10 de tipo silvestre en las células mononucleares de sangre periférica, con valores de EC_{50} de 0.4 a 0.9 nM. Los agentes típicamente fueron de 2 a 4 veces menos eficaces contra el virus NL4-3 en las mismas células. El compuesto I y el compuesto III inhibieron la réplica del virus K103N efectivamente, con sólo de 1 a 2 veces menos actividad (contra el virus BH10), pero fueron menos de 6 a 22 veces menos inhibidoras para el aislado K103N/Y181C. En contraste, el EFV exhibió una actividad de aproximadamente 40 a 70 veces menor contra los aislados mutantes individuales o dobles, respectivamente. Los valores de los artículos de control y de prueba están de acuerdo con los resultados publicados

anteriormente (Young y colaboradores, 1995, Antimicrob Agents Chemother: 39(12): 2602-5; Andries y colaboradores, 2004, *Antimicrob Agents Chemother*; 48(12): 4680-6; Janssen y colaboradores, 2004, *J Med Chem*; 48(6): 1901-9), y con otros valores reportados en esta sección.

Actividad contra los virus VIH-1 IIIB en células MT-4 mediante el ensayo de efecto citopático (CPE)

[00421] Los artículos de prueba se perfilaron después contra un panel mutantes cultivados en el laboratorio de VIH-1 IIIB, como se resume en el texto más adelante. La eficacia antiviral se determinó por medio de un ensayo CPE con una lectura de MTS para la vitalidad celular. El virus probados en este ensayo incluyeron el IIIB w.t. estándar, así como los virus Y181C e Y181C/K103N seleccionados del cultivo, pero el K103N usual fue reemplazado por un mutante triple de K103R/V179D/P225H seleccionado, el cual se describe adicionalmente más adelante. El promedio de los datos de eficacia se muestran en la Tabla **15**.

Tabla 15

Actividad contra virus VIH-1 IIIB en células MT- 4 por CPE

Com-puesto	N[a]	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar			
		W.T. [b]	Y181C [b]	K103R/ V179D/P225 horas [b]	K103N/ Y181C [b]
Comp. I	5	0.0010 ± 0.0004	0.0028 ± 0.0003	0.0100 ± 0.0015	0.0047 ± 0.0009
Comp. III	5	0.0005 ± 0.0001	0.0021 ± 0.0003	0.0250 ± 0.0060	0.0091 ± 0.0019
EFV	5	0.0015 ± 0.0006	0.0069 ± 0.0020	>1.0	0.1120 ± 0.0330

[a] = Número de experimentos de réplica realizados.

[b] = Virus BH10 mutantes de tipo silvestre y dirigidos al sitio adaptados en el laboratorio.

Tabla 16

Veces de resistencia

Com-puesto	Veces de cambio			
	W.T.	Y181C	K103R/V179D/ P225H	K103N/ Y181C
Comp. I	1	2.9 ± 0.8	11.1 ± 4.1	4.8 ± 1.6
Comp. III	1	4.5 ± 1.0	53.5 ± 12.8	19.5 ± 4.3
EFV	1	4.6 ± 0.5	>711.7 ± 255.3	74.2 ± 17.2

Veces de cambio = EC_{50} para el VIH mutante dividida por la EC_{50} para el virus de VIH de tipo silvestre.

El promedio de veces de cambio se calculó como el promedio de veces de cambio individuales probadas en paralelo.

[00422] Se inhibió el virus IIIB de tipo silvestre efectivamente mediante los 5 fármacos con los valores EC_{50} promedio (en μM) en el intervalo de 0.0004 ± 0.0002 a 0.0017 ± 0.0004.

[00423] La réplica del virus IIIB Y181C seleccionado del cultivo también se inhibió efectivamente mediante cada fármaco con valores EC_{50} promedio (en μM) en el intervalo de 0.0021 ± 0.0003 a 0.0120 ± 0.0026. Estos valores están bien de acuerdo con los otros resultados presentados a través de esta sección.

[00424] El virus IIIB K103N/Y181C, en términos generales, se inhibió efectivamente mediante el compuesto I y el compuesto III, como se implica mediante los valores de EC_{50} promedio (en μM) en el intervalo de 0.0026 ± 0.0004 a 0.0099 ± 0.0016. Sin embargo, el EFV, sin embargo, fue mucho menos efectivo como se

ve mediante el valor EC_{50} promedio (en μM) de 0.1120 ± 0.0330.

[00425] El virus IIIB mutante triple K103R/V179D/P225H mostró resultados más variables y mucha más resistencia al EFV, aunque se mantuvo relativamente sensible al compuesto I y al compuesto III. Los valores EC_{50} promedio (en μM) fueron: 0.0100 ± 0.0015 (Compuesto I), 0.0250 ± 0.0060 (Compuesto III), y >1.0 (EFV). Observe que la enzima de transcriptasa inversa del mutante K103R no es resistente a NNRTI (no se muestran los datos).

[00426] En términos de veces de cambio en la susceptibilidad al fármaco para el panel mutante IIIB, los valores de veces de resistencia promedio para el compuesto I, el compuesto III, y EFV, en términos generales, se cambiaron un poco (2.9 ± 0.8 a 7.7 ± 2.8 veces) contra el virus Y181C. Las veces de resistencia contra el mutante K103N/Y181C fueron más variables, pero estuvieron dentro del intervalo de cambios que se ven totalmente en esta sección: las veces de cambio fueron 4.8 ± 1.6 (Compuesto I), y 19.5 ± 4.3 (Compuesto III). Los valores de veces de resistencia promedio que se ven para el mutante K103R/V179D/P225H fueron: 11.1 ± 4.1 (Compuesto I), 53.5 ± 12.8 (Compuesto III), y >711.7 ± 255.3 (EFV).

[00427] En resumen, estas pruebas en el ensayo CPE del virus IIIB, en términos generales, confirman los hallazgos presentados también en esta sección, con la excepción del virus mutante triple K103R/V179D/P225H. El compuesto I fue más activo contra este mutante (EC_{50} = 10 nM), seguido por el compuesto III con una actividad razonable (EC_{50} = 21 a 25 nM), mientras que el EFV fue esencialmente inactivo (EC_{50} > 1000 nM). Aunque el patrón genotípico mutante K103R/V179D/P225H no se reconoce comúnmente en muestras clínicas, se sabe que la combinación de K103R/V179D confiere grandes reducciones en la

susceptibilidad a los tres NNRTIs aprobados (Harrigan y colaboradores, 2005, *AIDS*; 19: 549-54; Parkin y colaboradores, 2006, *Antimicrob Agents Chemother*; 50(1):351-4).

Actividad contra varias cepas de VIH-1 en diferentes líneas celulares humanas.

[00428] Se examinó adicionalmente la dependencia del virus y la célula hospedera del compuesto I, del compuesto III y de los fármacos de control en los ensayos de susceptibilidad a fármacos realizados a través de 3 cepas de VIH-1 de tipo silvestre, subtipo B, y 5 líneas celulares diferentes. Las cepas de VIH-1 utilizadas fueron BH10, NL4-3 y IIIB: las líneas celulares fueron células U-937 (monocitos humanos derivados a partir de linfoma histiocítico); células MOLT-4 (una línea celular de leucemia linfoblástica T humana); células H-9 (células-T linfoblásticas humanas); y células T de leucemia humana MT-2 y MT-4.

[00429] Los valores EC_{50} promedio y las desviaciones estándar de tres experimentos independientes se resumen en la Tabla **17**. De acuerdo con las condiciones experimentales de este estudio, el compuesto I, el compuesto III, y EFV retuvieron potencias en gran parte sin cambios a través de cada combinación de virus de tipo silvestre y célula hospedera probada. Las actividades vistas estuvieron en el intervalo de 0.4 a 3.2 nM.

Tabla 17

Actividad contra Cepas de VIH-1 W.T. en líneas celulares de hospedero humano establecidas

Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar

Hospedero	Virus	Comp. I	Comp. III	EFV
U937	IIIB	0.0005 ± 0.0001	0.0005 ± 0.0001	0.0015 ± 0.0008
MOLT-4	IIIB	0.0007 ± 0.0001	0.0006 ± 0.0001	0.0009 ± 0.0002
H9	IIIB	0.0006 ± 0.0001	0.0005 ± 0.0002	0.0015 ± 0.0006
U937	BH10	0.0006 ± 0.0002	0.0013 ± 0.0006	0.0019 ± 0.0008
MT-2	BH10	0.0009 ± 0.0006	0.0011 ± 0.0004	0.0008 ± 0.0002
MT-4	BH10	0.0010 ± 0.0004	0.0012 ± 0.0006	0.0012 ± 0.0008
MT-4	NL4-3	0.0020 ± 0.0001	0.0017 ± 0.0003	0.0023 ± 0.0002
Intervalo de actividad promedio (μM)		0.0005 ± 0.0020	0.0005 ± 0.0017	0.0008 ± 0.0023

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

Los números representa los valores promedio +/- desviación estándar a partir de 3 experimentos independientes.

[00430] Los intervalos de actividad promedio que se ven para cada uno de los fármacos a través de cada una de las cepas del virus y de los tipos de células se resumen en la última fila de la tabla. El compuesto I y el compuesto III exhibieron una potente actividad antiviral *in vitro* (intervalo de 0.5 a 2 nM) a través de las tres cepas de VIH-1 y de las líneas celulares monocíticas y T humanas morfológicamente distintas. Los 5 compuestos mostraron una actividad regularmente comparable.

Actividad contra un panel de diferentes subtipos de VIH-1

[00431] En seguida se probaron las actividades de los compuestos de prueba y de control contra un panel de subtipos que cubre todos los subtipos o racimos principales de VIH-1 (A, B, C, D, F1, G, H, AE y AG). Este panel fue parte de un panel de 64 virus seleccionado a partir de la gran biblioteca de aislados químicos Monogram BioSciences (anteriormente ViroLogics). Cada uno de los subtipos del panel fue representado por 2 virus distintos, los cuales comparten muchas similitudes de secuencia, pero también algunas diferencias clave, y por consiguiente, podrían responder de una manera diferente a uno o más de los fármacos incluidos en este estudio.

[00432] A partir de la prueba PhenoSense^{MR} de los artículos de prueba del compuesto I, el compuesto III y el fármaco de control EFV, la actividad del compuesto I, del compuesto III y del EFV contra un panel de subtipos (18 virus) que comprendía 9 subtipos diferentes de VIH-1 (A, B, C, D, F1, G, H, AE, AG) estuvo en todos dentro de 2 veces los valores de actividad del tipo silvestre (no se muestran los datos).

[00433] Entre los diferentes subtipos, los intervalos de potencia globales fueron: Compuesto I, 0.25 a 3.20 nM;

Compuesto III = 0.2 a 2.14 nM; EFV = 0.40 a 3.10 nM. No es sorprendente que el intervalo de potencia fue un poco mayor a través de los subtipos (de 10 a 11 veces) que dentro de los subtipos, pero esta variabilidad se debió primordialmente a justamente dos aislados de virus: el aislado de VIH-1 del segundo subtipo C, a través del tablero, fue el menos susceptible a todos los fármacos probados; inversamente, los dos aislados del subtipo H parecieron ser altamente susceptibles a todos los fármacos (valores EC_{50} de 0.17 a 0.55 nM). Sin embargo, estos virus también tuvieron una capacidad de réplica reducida del 42 por ciento y del 10 por ciento, respectivamente, la cual podría contribuir a su hipersensibilidad aparente. Los virus de los subtipos restantes mostraron en general una divergencia de <2.5 veces en la potencia en relación con la cepa de referencia CNDO.

Actividad contra el VIH-2 ROD en células H9

[00434] Se determinó la susceptibilidad del VIH tipo 2 ROD en células H9 al compuesto I y al compuesto III contra zidovudina (AZT) como un control. Los datos promediados se derivaron a partir de dos experimentos de actividad antiviral independientes, y se muestran en la Tabla **18**.

[00435] El compuesto I y el compuesto III fracasaron para suprimir la réplica del VIH-2 ROD en la concentración más alta ensayada (1.25 µM), mientras que el control de AZT exhibió una actividad (0.1619 ± 0.0767 µM) comparable a los valores publicados (Witvrouw y colaboradores 2004, Antiviral Therapy 9:57-65).

Tabla 18

Actividad contra el VIH-2 ROD WT en el ensayo de células H9

Compuesto	Valores EC_{50} (μM)
Compuesto I	>1.25
Compuesto III	>1.25
AZT	0.1619 ± 0.0767

EC_{50} = concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

Los números representan los valores de promedio +/- desviación estándar a partir de 2 experimentos independientes.

Actividad contra el VIH-1 en la presencia de suero humano y la glicoproteína de ácido alfa-1

[00436] Los estudios anteriores típicamente midieron la EC_{50} de cada fármaco contra el VIH-1 cultivado en un cultivo celular en la presencia de suero bovino fetal al 10 por ciento (FBS). Con el fin de estimar una EC_{50} ajustada al suero para los artículos de prueba, se llevaron a cabo experimentos adicionales en la presencia de suero humano al 45 por ciento, o de 1 miligramo/mililitro de glicoproteína de ácido alfa-1, o ambos. Los resultados promediados de 3 a 7 experimentos de actividad antiviral se muestran en la Tabla **19**.

Tabla 19

Actividad anti-HIV-1 BH10 W.T. en la presencia de HS o AAG

Com-puesto	N	Promedio de valores EC_{50} (µM) ± Desviación Estándar			
		Suero bovino fetal al 10 por ciento	Suero bovino fetal al 10 por ciento + AAG [a]	Suero humano [b] al 45 por ciento	Suero humano 45 por ciento + AAG
Comp. I	5	0.0011 ± 0.0004	0.0029 ± 0.0012	0.0146 ± 0.0063	0.0190 ± 0.0017
Comp. III	5	0.0012 ± 0.0004	0.0028 ± 0.0004	0.0219 ± 0.0117	0.0326 ± 0.0073
EFV	7	0.0016 ± 0.0005	0.0050 ± 0.0023	0.0115 ± 0.0039	0.0116 ± 0.0074

EC_{50} = concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

[a] Glicoproteína del ácido α-1 a 1 miligramo/mililitro.

[b] Suero humano - AB+ carece de anticuerpos contra los antígenos de tipo de sangre A y B.

Tabla 20

Veces de resistencia

Com-puesto	N	Veces de cambio			
		Suero bovino fetal al 10 por ciento	Suero bovino fetal al 10 por ciento + AAG [a]	Suero humano al 45 por ciento	Suero humano al 45 por ciento + AAG
Comp. I	5	1	2.7 ± 0.7	15.9 ± 11.1	19.5 ± 7.6
Comp.	5	1	2.1 ± 0.5	17.0 ± 6.3	24.8 ± 3.8

Com-puesto	N	Veces de cambio			
		Suero bovino fetal al 10 por ciento	Suero bovino fetal al 10 por ciento + AAG [a]	Suero humano al 45 por ciento	Suero humano al 45 por ciento + AAG
III					
EFV	7	1	2.4 ± 0.8	8.4 ± 3.2	5.4 ± 3.2

Veces de cambio = La EC_{50} obtenida con suero bovino fetal + AAG, o suero humano +/- AAG dividido por la EC_{50} obtenida con suero bovino fetal solo. Se observa que las veces de cambio no se determinaron a partir de los valores EC_{50} promedio en la Tabla 19, sino que se calcularon primero para los experimentos individuales. Entonces el promedio de veces de cambio +/- desviación estándar se tomó a partir de todos los experimentos.

[a] Glicoproteína de ácido α-1 a 1 miligramo/mililitro.

[00437] Los 5 fármacos inhibieron la réplica del virus de tipo silvestre en la presencia de suero bovino fetal al 10 por ciento con las potencias anticipadas, con valores EC_{50} en el intervalo de 1.0 a 1.6 nM. La adición de 1 miligramo/mililitro de AAG en términos generales disminuyó la potencia del fármaco por 2 a 3 veces para cada fármaco, cambiando los valores de EC_{50} promedio hasta el intervalo de 2 a 5 nM.

[00438] Las potencias de los 5 fármacos se redujeron hasta un mayor grado mediante el suero humano al 45 por ciento (HS), conduciendo a valores EC_{50} promedio de 11.5 a 21.9 nM, y a cambios de veces de 8.4 a 17.0 veces. La presencia de suero humano al 45 por ciento + AAG en los experimentos de cultivo, dio resultados más variables y valores EC_{50} promedio (en nM) de 19.0 (Compuesto I), 32.6 (Compuesto III), y 11.6 (EFV). Los valores

que se ven para los controles estuvieron de acuerdo con los resultados publicados (Young y colaboradores, 1995, Antimicrob. Agents Chemother: 39(12): 2602-5; Andries y colaboradores, 2004, Antimicrob. Agents Chemother; 48(12): 4680-6; Janssen y colaboradores, 2004, J. Med. Chem.; 48(6): 1901-9; Boone 2006, Curr. Opin Investig Drugs; 7(2): 128-35). Las veces de cambios promedio correspondientes fueron de 19.5 (Compuesto I), 24.8 (Compuesto III), y 5.4 (EFV).

[00439] En resumen, no se observó ninguna interacción de enlace de proteína significativa con el AAG solo (<3 veces de cambio) para el compuesto I y el compuesto III. Se estimó una elevación moderada de la EC_{50} (de 16 a 25 veces de cambio) en HS o HS + AAG. Sobre todo, los datos sugieren que el enlace de proteína es un poco más alto para el compuesto I y el compuesto III que para el EFV.

Ejemplo 14

Citotoxicidad *In vitro*

[00440] Se utilizaron ensayos basados en células convencionales que utilizan células proliferantes, para evaluar la citotoxicidad del compuesto I y del compuesto III. Estos estudios de citotoxicidad de 3 a 12 días se enfocaron en las líneas celulares humanas que son cualquiera de: (i) susceptibles a infección con el virus de VIH-1 *in vitro* (por ejemplo, monocitos sanguíneos primarios; células-T de leucemia MT-2 y MT-4), o (ii) comúnmente utilizadas para evaluar la citotoxicidad *in vitro* inducida por fármacos (por ejemplo, HepG2, HuH7 o HeLa) (Divi RL, Haverkos KJ, Humsi JA, y colaboradores (2006) Morphological and molecular course of mitochondrial pathology in cultured human cells exposed long-term to zidovudine. Environ Mol Mutagen; 47). La viabilidad celular se midió mediante teñido estándar con MTT o MTS.

Efecto citotóxico en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

[00441] Se evaluó la citotoxicidad *in vitro* de los artículos de prueba en 4 experimentos independientes en células mononucleares de sangre periférica primarias humanas estimuladas (PBMC). Las células mononucleares de sangre periférica se expusieron al compuesto I y al compuesto III junto con el fármaco de control EFV durante 3 días en concentraciones en el intervalo de 0.005 µM a 100 µM. La viabilidad celular se determinó mediante teñido con MTT. Los resultados se presentan como las concentraciones de fármaco efectivas promedio que redujeron la viabilidad celular por un 50 por ciento (CC_{50}).

[00442] Los valores CC_{50} promedio (en µM) determinados para los artículos de prueba en las células mononucleares de sangre periférica fueron: Compuesto I = 52.6 ± 15.2 y Compuesto III = 66.9 ± 19.6. Para el artículo de control, el valor CC_{50} promedio (en µM) determinado fue: EFV = 70.9 ± 7.6.

Citotoxicidad celular en células hospederas humanas de VIH-1

[00443] En seguida se probaron los efectos citopáticos *in vitro* de los artículos de prueba del compuesto I y el compuesto III y del fármaco de control EFV, en las siguientes seis líneas celulares de hospedero humano susceptibles al VIH-1: células U-937 (monocitos humanos derivados a partir de un linfoma histiocítico); células MOLT-4 (una línea celular de leucemia linfoblástica T humana); células H9 (células-T linfoblásticas humanas); células IM9 (una línea celular linfoblástica B humana); y las células-T de leucemia humana MT-2 y MT-4.

[00444] En seguida de la exposición al fármaco durante 4 días, se midió la viabilidad celular mediante teñido con MTS, y se determinaron los valores CC_{50}. Las concentraciones de los

fármacos estuvieron en el intervalo de 0.005 µM a 100 µM. Los resultados de 3 experimentos independientes (a menos que se indique de otra manera) se resumen en la Tabla **21**.

Tabla 21

Citotoxicidad celular en líneas celulares hospederas humanas de VIH-1

Compuesto	Promedio de valores CC_{50} (µM) ± Desviación Estándar						Intervalo de CC_{50} promedio
	U937 [d]	MOLT-4 [e]	H9 [f]	IM9 [g]	MT-2 [h]	MT-4 [h]	
I	26.5 ± 0.5	16.6 ± 0.4	20.0 ± 1.6	32.9 ± 2.6	23.5 ± 1.0	18.6 ± 3.1	16.6 - 32.9
III	24.6 ± 1.9	14.8 ± 1.0	31.3 ± 5.2	50.0 ± 17.4	25.9 ± 2.1	27.3 ± 12.9	14.8 - 5.0
EFV	23.2 ± 1.0	41.7 ± 3.4	50.0 ± 9.0	51.0 ± 1.3	24.6 ± 4.5	44.1 ± 18.2	23.2 - 51.0

[a] CC_{50} = Concentración efectiva que reduce la viabilidad por el 50 por ciento.

[b] Los números representan los valores promedio +/- desviación estándar derivada a partir de 3 experimentos independientes a menos que se observe de otra manera.

[c] Los valores se derivaron a partir de 2 experimentos independientes.

[d] Linfoma histiocítico de monocitos humanos; aplicar a 5 x 10^3 células por pozo.

[e] Leucemia linfoblástica T humana; aplicar a 2 x 10^4 células por pozo.

[f] Linfoma de células T linfoblásticas humanas; aplicar a 4 x 10^4 células por pozo.

[g] Línea celular linfoblastoide B humana; aplicar a 2 x 10^{4+} células por pozo.

[h] Leucemia de células T humanas; aplicar a 1.25 x 10^4 (MT-2) y 2.5 x 10^4 (MT-4) células por pozo.

[00445] Los artículos de prueba del compuesto I y el compuesto III, y los compuestos de control, exhibieron una citotoxicidad *in vitro* mensurable en las 6 líneas celulares hospederas humanas susceptibles al VIH-1. Dependiendo del tipo de célula, los valores CC_{50} promedio para el compuesto I estuvieron en el intervalo de 16.6 a 32.9 µM contra 14.8 a 50.0 µM para el compuesto III (**Tabla 21**), similares a los intervalos de CC_{50} promedio determinados para el EFV (23.2 a 51.0 µM).

[00446] Entre las 6 líneas celulares, la línea celular MOLT-4 fue la más sensible a la citotoxicidad para el compuesto I y el compuesto III. El EFV mostró la mayor citotoxicidad en las células U937 y MT-2.

Ejemplo 15

Índice de selectividad del compuesto I y el compuesto III contra el VIH-1

[00447] Los datos anteriores nos permiten calcular los valores del índice de selectividad (SI), basándose en la proporción de la CC_{50} a la EC_{50} en las células MT-4 (el ensayo estándar utilizado en este trabajo).

[00448] La CC_{50} del compuesto I en las células MT-4-T fue de 27 µM contra una EC_{50} de 1.2 nM, dando un SI > 22,000. La CC_{50} del compuesto III fue de 18.6 µM contra una EC_{50} de 1.0 nM, para un SI de > 18,000. De una manera similar, el índice de selectividad del fármaco de control se estimó en: EFV = 37,000. Estos valores están de acuerdo con los valores de SI

anteriormente reportados (Young y colaboradores, 1995, Antimicrob Agents Chemother: 39(12): 2602-5; Andries y colaboradores, 2004, Antimicrob Agents Chemother; 48(12): 4680-6; Janssen y colaboradores, 2004, J Med Chem; 48(6): 1901-9; Boone 2006, Curr. Opin Investig Drugs; 7(2):128-35).

[00449] Utilizando los datos de citotoxicidad y de actividad en las células mononucleares de sangre periférica, se podrían calcular valores SI de >100,000 para el compuesto I y el compuesto III.

Citotoxicidad celular a plazo más largo en otros tipos de células humanas

[00450] Finalmente, se determinó la citotoxicidad *in vitro* de los artículos de prueba en otras líneas celulares humanas con relevancia toxicológica; células de hígado HuH7 y HepG2 (Knowles y colaboradores, 1980, Science; 209(25): 497-9), y células epiteliales HeLa (Gey y colaboradores, 1952, Cancer Research; 12: 264-5) por medio del teñido de viabilidad MTS. Las células se trataron repetidamente con un intervalo de concentraciones de fármaco (de 0.005 a 100 µM) durante 9 (HeLa) o 12 días (HuH7, HepG2). Los valores CC_{50} promedio y las desviaciones estándar derivados a partir de 3 a 5 experimentos independientes se resumen en la Tabla **22**.

Tabla 22

Citotoxicidad celular en líneas celulares humanas seleccionadas

Compuesto	Promedio de valores CC_{50} (μM) ± Desviación Estándar		
	HeLa [a,d]	HuH7 [b, e]	HepG2 [c, e]
I	27.88 ± 1.14	23.49 ± 1.61	25.69 ± 3.26
III	29.86 ± 2.09	31.46 ± 3.37	23.50 ± 1.51
EFV	48.57 ± 2.50	75.72 ± 12.43	80.56 ± 12.12

CC_{50} = Concentración efectiva que reduce la viabilidad celular por el 50 por ciento.

Los números representan los valores promedio +/- desviación estándar derivados a partir de 3 a 5 experimentos independientes como se indica: [a] = 3-4; [b] = 4-5; [c] 3-5.

[d] Se aplicaron células HeLa a 1 x 10^3 células/pozo y se incubaron en la presencia del fármaco durante 9 días. El fármaco y el medio se remplazaron cada 3 días.

[e] Se aplicaron células HuH7 y HepG2 a 1 x 10^3 y 7 x 10^3 células/ pozo, respectivamente, y se incubaron durante 12 días en la presen-cia del fármaco. El fármaco y el medio se remplazaron cada 3 días.

[00451] Las tendencias observadas en esta prueba de citotoxicidad a más largo plazo son un espejo de las que se ven en los estudios anteriores. En general, el compuesto I y el compuesto III dieron valores CC_{50} similares en las 3 líneas celulares, en el intervalo de 23 a 32 μM. El EFV fue nuevamente el menos citotóxico de los compuestos (intervalo de CC_{50} de 48 a 81 μM).

Ejemplo 16

Datos Comparativos *In vitro*

[00452] Los compuestos I y III, los enantiómeros correspondientes (es decir, los compuestos II y IV), y los racematos correspondientes, se evaluaron en los ensayos basados en células de VIH BH10 convencionales descritos anteriormente. El panel de prueba estándar incluyó virus de tipo silvestre, así como los derivados mutantes dirigidos al sitio Y181C, K103N, y K103N/Y181C.

[00453] La siguiente tabla proporciona datos para el compuesto I, el compuesto II, y sus racematos correspondientes. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el racemato tuvo EC_{50}s de 2.4 a 6.2 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el compuesto I tuvo EC_{50}s de 0.6 a 3.5 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C y K103N, el compuesto II tuvo EC_{50}s de 129 a 920 nM.

Actividad contra el virus de VIH-1 BH10 en el ensayo celular

	BH10		**K103N**		**Y181C**		**Y181C/ K103N**	
Comp.		**n**		**n**		**n**		**n**
I	0.001 ± 0.0005	8	0.0006 ± 0.0002	3	0.0026 ± 0.0011	3	0.0035 ± 0.0014	3
I	0.0007 ± 0	1	0.0009 ± 0	1	0.0024 ± 0	1	0.003 ± 0	1
II	0.1917 ± 0	1	0.9201 ± 0	1	0.3637 ± 0	1		

	BH10		K103N		Y181C		Y181C/ K103N	
Comp.		**n**		**n**		**n**		**n**
rac	0.0025 ± 0.0004	3	0.0024 ± 0.0007	3	0.0032 ± 0.0006	3	0.0062 ± 0.0036	3

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción del virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

[a] N = El número de experimentos de réplica realizados.

[b] Virus BH10 mutantes de tipo silvestre y dirigidos al sitio adaptados en el laboratorio.

[00454] La siguiente tabla proporciona datos para el compuesto III, el compuesto IV, y sus racematos correspondientes. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el racemato tuvo EC_{50}s de 1.6 a 24.4 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el compuesto III tuvo EC_{50}s de 0.6 a 23.1 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el compuesto IV tuvo EC_{50}s de 89.2 a 824 nM.

Actividad contra virus de VIH-1 BH10 en el ensayo celular

	BH10		K103N		Y181C		Y181C/ K103N	
Comp.		**n**		**n**		**n**		**n**
III	0.001 ± 0.0005	10	0.0013 ± 0.0005	5	0.0028 ± 0.0005	5	0.0114 ± 0.0023	5
III	0.0018 ± 0.0003	3	0.0016 ± 0.0005	3	0.0040 ± 0.0005	3	0.0231 ± 0.0121	3

	BH10		K103N		Y181C		Y181C/ K103N	
Comp.		**n**		**n**		**n**		**n**
III	0.0006 ± 0	1	0.0006 ± 0	1	0.0029 ± 0	1	0.0045 ± 0	1
IV	0.1902 ± 0.0038	2	0.3776 ± 0.2047	2	0.8241 ± 0.3636	2		0
IV	0.0892 ± 0.1068	2	0.1053 ± 0.0579	2	0.2286 ± 0.0605	2	0.5167 ± 0	1
IV	0.0976 ± 0	1	0.3123 ± 0	1	0.331 ± 0	1		0
rac	0.031 ± 0.0002	2	0.0031 ± 0.0005	2	0.0049 ± 0.0011	2	0.0167 ± 0.0088	2
rac	0.0017 ± 0	1	0.0017 ± 0	1	0.0016 ± 0	1	0.0042 ± 0	1
rac	0.0025 ± 0.0007	3	0.0025 ± 0.0013	3	0.005 ± 0.0037	3	0.0244 ± 0.0188	3

EC_{50} = Concentración efectiva que reduce la producción de virus por el 50 por ciento en cultivo celular.

[a] N = El número de experimentos de réplica realizados.

[b] Virus BH10 mutantes de tipo silvestre y dirigidos al sitio adaptados en el laboratorio.

[00455] Como se muestra en las tablas anteriores, en estos ensayos, la mayor parte de, si no es que toda, la actividad de la mezcla racémica está en los enantiómeros-R de los compuestos I y III.

Ensayo de Protección Celular

[00456] Los compuestos I y III, los enantiómeros

correspondientes (es decir, los compuestos II y IV), y los racematos correspondientes, se evaluaron en un ensayo de protección celular. El panel de prueba estándar incluyó al virus de tipo silvestre, así como los derivados mutantes dirigidos al sitio Y181C, K103N, y K103N/Y181C.

[00457] Los compuestos de prueba se disolvieron en sulfóxido de dimetilo a 15 mM, y entonces se diluyeron en el medio de cultivo RPMI 1640 + 2 gramos/litro de $NaHCO_3$ + solución de canamicina al 1 por ciento 100x (10,000 microgramos/mililitro) + suero fetal de becerro al 10 por ciento +/- sulfóxido de dimetilo al 1-2 por ciento.

[00458] Las células MT-4 (Fuente: NIH Catálogo # 120) se sembraron en placas de cultivo celular de 96 pozos (1×10^4 células por pozo en 50 microlitros).

[00459] Se agregaron diluciones dobles en serie de los compuestos de prueba en 50 microlitros (0.29 µM a 75µM) a las células en un medio de crecimiento completo (RPMI, suero bovino fetal al 10 por ciento, Penicilina-estreptomicina), y las células se infectaron con una alícuota de 20 microlitros de una suspensión de VIH (cepa de VIH-1 BH10 y virus de tipo silvestre y resistentes Y181C, K103N y Y181C/K103N) a una dilución que da un efecto citopático del 90 por ciento. La concentración final de sulfóxido de dimetilo en el ensayo fue del 0.5 por ciento en 120 microlitros. Entonces los cultivos celulares se incubaron a 37°C/CO_2 al 5 por ciento durante 4 días. Luego se utilizó el Ensayo de Proliferación Celular de Una Solución Acuosa Cell Titer 96 (Promega) para medir la viabilidad celular. Dicho de una manera breve, el Reactivo de Una Solución se agregó directamente a los pozos de cultivo (20 microlitros/pozo), se incubaron durante 5 horas, y se registró la absorbencia a 492 nanómetros utilizando el Espectrofotómetro Sunrise Tecan.

[00460] Los valores EC_{50} se determinaron a partir de los datos del porcentaje de inhibición contra la concentración utilizando un análisis de regresión no lineal sigmoidal basado en cuatro parámetros con el software Tecan Magellan.

[00461] La siguiente tabla proporciona datos para el compuesto I, el compuesto II, y sus racematos correspondientes. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el racemato tuvo EC_{50}s de 1.5 a 7.0 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el compuesto I tuvo EC_{50}s de 0.26 a 3.5 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C y K103N, el compuesto II tuvo EC_{50}s desde 62 hasta más de 1,000 nM.

Actividad contra virus de VIH-1 BH10

en el ensayo de protección celular

	BH10	**K103N**	**Y181C**	**Y181C/ K103N**
Comp.				
I	0.00028 ± 0.000072	0.00026 ± 0.000057	0.0018 ± 0.00029	0.0035 ± 0.0015
II	0.062 ± 0.019	0.277 ± 0.099	0.424 ± 0.21	> 1
rac	0.0015 ± 0.0007	0.001 ± 0	0.0045 ± 0.0007	0.007 ± 0.0028

EC_{50} = Concentración del compuesto que logró la reducción del 50 por ciento del efecto citopático del virus.

[00462] La siguiente tabla proporciona datos para el compuesto III y su racemato correspondiente. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y

K103N/Y181C, el racemato tuvo EC_{50}s de 0.2 a 9.0 nM. Contra el virus BH10 de tipo silvestre y los virus mutantes Y181C, K103N, y K103N/Y181C, el compuesto III tuvo EC_{50}s de 0.14 a 6.6 nM.

Actividad contra el virus de VIH-1 BH10 en el ensayo de protección celular

	BH10	K103N	Y181C	Y181C/ K103N
Comp.				
III	0.00015 ± 0.00011	0.00014 ± 0.000052	0.0015 ± 0.0006	0.0066 ± 0.00097
IV rac	0.0002 ± 0.0001	0.0003±0	0.0023 ± 0.0005	0.009 ± 0.0048

EC_{50} = Concentración del compuesto que logra la reducción del 50 por ciento del efecto citopático del virus.

Enlace, Inhibición, e Inducción del Citocromo P450

[00463] Los compuestos I y III, los enantiómeros correspondientes (es decir, los compuestos II y IV), y los racematos correspondientes se evaluaron en los ensayos para el enlace del citocromo P450.

[00464] Se condujeron estudios de inhibición para evaluar el potencial de los compuestos I y III para inhibir la actividad catalítica de las isoenzimas CYP450 de las proteínas microsomales de hígado humano. Se determinó el índice de formación de metabolitos de los sustratos de sonda específicos de CYP450 mediante microsomas de hígado humano en la presencia y en ausencia del compuesto I o III. También se evaluó la inhibición directa así como la inhibición dependiente del tiempo,

también referida como inhibición basada en el mecanismo o MBI. Los estudios iniciales determinaron los valores IC_{50} con la subsiguiente determinación de k_i o k_{inact} y k_i para la MBI, cuando se observó una inhibición notoria (IC_{50} < 10 μM). En adición, también se evaluó el tipo de inhibición.

[00465] Los compuestos se ensayaron utilizando proteínas microsomales humanas recombinantes con sustratos fluorométricos. La señal se midió con un lector de placas Fusion utilizando la longitud de onda de excitación y emisión apropiada establecida para detectar el metabolito específico:

Enzima	Sustrato	Excitación (amplitud de banda)	Emisión (amplitud de banda)
CYP1A2	CEC	400 nm (20 nm)	535 nm (25 nm)
CYP2B6	EFC	400 nm (20 nm)	535 nm (25 nm)
CYP2D6	AMMC	400 nm (20 nm)	460 nm (35 nm)
CYP3A4	BFC	400 nm (20 nm)	535 nm (25 nm)

[00466] Se llevó a cabo la inhibición de CYP2C9 mediante la

incubación de un sustrato de CYP450 luminogénico de Luciferina-H con CYP2C9 y un sistema regeneración de NADPH. La luminiscencia se midió utilizando un lector de placas Fusion.

Inhibición de isozima de citocromo P450 recombinante *in vitro*

Isozima CYP450	Concentración más alta probada (µM)	IC50 (µM) rac (I+II)	IC_{50} (µM) I	IC_{50} (µM) II	IC_{50} (µM) rac (III+IV)	IC_{50} (µM) III	IC_{50} (µM) IV
CYP1A2	20	NA	17.5 %	NA	NA	17.6 ± 2.06	NA
CYP2B6	20	NA	21.6 %	NA	NA	22.9 por ciento	NA
CYP2C9	10	NA	8.40 ± 0.67	NA	5.99	6.85 ± 0.48	3.38
CYP2D6	10	NA	11.2 %	NA	16 - 23 %	15.2 %	29.1 %
CYP3A4	10	1.608	1.46 ± 0.39	3.21	2.269	2.86 ± 0.78	2.962

Estudios de inhibición IC_{50} = concentración inhibidora del 50 por ciento (µM) o un porcentaje de inhibición a la concentración más alta probada.
Los valores representan el promedio + SD de tres experimentos independientes.
NA no disponible.

[00467] Se condujeron estudios cinéticos enzimáticos de la inhibición de la isozima del citocromo P450 utilizando microsomas de hígado humano. Se determinó el índice de formación de

metabolitos de los sustratos de sonda específicos de CYP450 mediante los microsomas de hígado humano reservados, en la presencia y en ausencia de los inhibidores estándares o del compuesto I o III (0, 0.01, 0.1, 1, 10 y 50 µM). También se investigó la inhibición dependiente del tiempo mediante la evaluación del efecto del compuesto I o III antes de la incubación (30 minutos) sobre la inhibición de las enzimas CYP450 (en las concentraciones mencionadas anteriormente) con los microsomas. Los valores IC_{50} para la inhibición tanto directa como dependiente del tiempo se determinaron cuando la inhibición alcanzó niveles de más del 50 por ciento. Adicionalmente, se examinó la inhibición directa de CYP2C8 y CYP2C9 mediante el compuesto I o III (en concentraciones de 0, 1, 3, 6, 9, y 12 µM) mediante la determinación del valor K_i y el tipo de inhibición.

[00468] En adición a los valores K_i para la inhibición directa de CYP2C8 y CYP2C9, se determinaron los valores K_{inact} y K_I para la inhibición dependiente del tiempo de CYP3A4 (testosterona y midazolam) mediante el compuesto I o el compuesto III. El compuesto I y el compuesto III a 0, 0.0125, 0.125, 1.25, 12.5 y 62.5 µM para CYP3A4 (midazolam y testosterona) se incubaron previamente con microsomas de hígado humano y NADPH durante 0, 1, 5, 10, 20, y 30 minutos a 37°C. Las incubaciones de control incluyeron el artículo de prueba a una sola concentración, previamente incubado sin NADPH, y un inhibidor de control positivo. La formación de los metabolitos se monitoreó mediante los métodos de LC-MS/MS validados, y se determinó el porcentaje de actividad restante en adición a los valores k_{inact} y K_I.

[00469] El compuesto I exhibió una inhibición limitada (IC_{50} > 20 µM) de CYP1A2, CYP2B6, CYP2D6, y CYP2C19 (IC_{50} = 10.2 µM), y una inhibición notoria (IC_{50} < 10µM) de CYP2C8, CYP2C9 y CYP3A4. El compuesto I exhibió una inhibición competitiva de

CYP2C8 y CYP2C9 con valores k_i de 1.1 y 1.4 μM, respectivamente. Debido a que el CYP3A4 tiene múltiples sitios de enlace, la inhibición típicamente se evalúa con dos sustratos de sonda estructuralmente no relacionados, testosterona y midazolam. El compuesto I exhibió una inhibición basada en el mecanismo notoria de CYP3A4-testosterona y CYP3A4-midazolam con valores k_i de 0.14 y 0.18 μM, respectivamente.

Inhibición de la isozima del citocromo P450 microsomal humano *in vitro* con el Compuesto I

Isozima CYP450	**K_i (μM)**	**K_{inact} (min^{-1})[c]**	**Tipo de inhibición**
CYP1A2 (Fenacetina)[a]	ND[b]		
CYP2B6 (Bupropión)	ND		
CYP2C8 (Paclitaxel)	1.1		Competitiva
CYP2C9 (Diclofenaco)	1.4		Competitiva
CYP2C19 (S-Mefenitoína)	ND		
CYP2D6 (Dextrometorfano)	ND		
CYP3A4 (Midazolam)	0.36	0.072	Inhibición basada en el mecanismo
CYP3A4 (Testosterona)	0.14	0.033	Inhibición basada en el mecanismo

a= Sustrato de sonda específico de CYP450

b= No determinada. Los valores k_i se determinan para los valores IC_{50} < 10 μM.

c= Constante de índice máximo para la inactivación. Relevante sólo para la inhibición dependiente del tiempo.

[00470] El compuesto III exhibió una inhibición limitada (IC_{50} > 20 μM) de CYP1A2, CYP2B6, CYP2D6, una inhibición marginal de CYP2C19 (IC_{50} = 10.2 μM), y una inhibición notoria (IC_{50} < 10μM) de CYP2C8, CYP2C9 y CYP3A4. El compuesto III exhibió una inhibición competitiva de CYP2C8 y CYP2C9 con valores k_i de 0.66 y 0.93 μM, respectivamente. Debido a que CYP3A4 tiene múltiples sitios de enlace, la inhibición típicamente se evalúa con dos sustratos de sonda estructuralmente no relacionados, testosterona y midazolam. El compuesto III exhibió una inhibición basada en el mecanismo notoria de CYP3A4-testosterona y CYP3A4-midazolam con valores k_i de 0.21 y 0.06 μM, respectivamente.

Inhibición de isozima de citocromo P450 microsomal humano *in vitro* con el Compuesto III

Isozima CYP450	**K_i (μM)**	**K_{inact} (min^{-1})[c]**	**Tipo de inhibición**
CYP1A2 (Fenacetina)[a]	ND[b]		
CYP2B6 (Bupropión)	ND		
CYP2C8 (Paclitaxel)	0.66		Competitiva
CYP2C9 (Diclofenaco)	0.93		Competitiva
CYP2C19 (S-Mefenitoína)	ND		
CYP2D6 (Dextrometorfano)	ND		
CYP3A4 (Midazolam)	0.06	0.06	Inhibición basada en el mecanismo
CYP3A4 (Testosterona)	0.21	0.05	Inhibición

			basada en el mecanismo
a= Sustrato de sonda específico de CYP450 b= No determinada. Los valores IC_{50} fueron valores ≥10 μM. k_i determinados sólo para los valores IC_{50} < 10 μM c= Constante de índice máximo para la inactivación. Relevante sólo para la inhibición dependiente del tiempo.			

[00471] Se rastreó el potencial para la inducción *in vitro* de CYP3A4 en células DPX2. La línea celular DPX2 es un derivado de una línea celular de carcinoma hepatocelular humano (HepG2) transformada con el receptor x de pregnano humano (PXR) y un vector de gen reportero que contiene la región potenciadora de CYP3A4. Se rastreó el potencial para la inducción *in vitro* de CYP1A2 en células CYP1A2-DRE. La línea celular CYP1A2-DRE es una línea de células HepG2 establemente transformadas con elementos que responden a la dioxina (DRE) y un gen reportero que contienen elementos promotores de CYP1A2. Se determinó el grado de inducción de CYP3A4 mediante la comparación de la activación del PXR obtenida con el artículo de prueba, con aquélla obtenida con rifampicina (un potente inductor), mifepristona (un inductor moderado), y androstanol (un inductor débil). El grado de inducción de CYP1A2 se determinó mediante la comparación de la activación del receptor de aril-hidrocarburo (AhR) obtenida con el artículo de prueba, con aquélla obtenida con TCDD (un potente inductor), omeprazol (un inductor moderado), y 2-acetil-amino-fluoreno (un inductor débil).

	Inducción	
Compuesto	**DPX2 (CYP3A4)**	**CYP1A2-DRE (CYP1A2)**
rac (I + II)	NA	NA
I	Moderado (n=2)	No inducido (n=1)
II	NA	NA
rac (III + IV)	Moderado (n=1)	NA
III	Moderado (n=2)	No inducido (n=1)
IV	Moderado (n=1)	NA

NA = No disponible.

[00472] Como se muestra en la tabla anterior, los compuestos I y III son inductores moderados de CYP3A4 y CYP1A2.

Enlace de Proteína de Plasma *In vitro*

[00473] Se determinó el enlace de proteína de plasma *in vitro* del compuesto I y el compuesto III en plasma de rata, perro, mono, y humano, mediante diálisis en equilibrio. El enlace de proteína se evaluó mediante diálisis en equilibrio utilizando plasma de rata, perro, mono, y humano. Las muestras se ensayaron mediante HPLC con detección de LC-MS/MS. El enlace de proteína de plasma fue alto (> 99 por ciento) para todas las especies y para ambos compuestos.

Enlace de proteína del Compuesto I y del Compuesto III

Especie	Porcentaje de Enlace de Proteína de Plasma	
	Compuesto I	Compuesto III
Ratas	99.1	99.4
Perros	99.0	99.4
Monos	99.9	99.9
Humanos		99.9

Ejemplo 17

Inhibición del Citocromo P450 *In vitro*

Efectos del compuesto I y del compuesto III en combinación con otros agentes

[00474] Se llevaron a cabo estudios de interacción de fármaco-fármaco *in vitro* que involucraron al compuesto I y al compuesto III, y a los compuestos de las clases de NRTI y PI activos contra el VIH.

[00475] Se probó por triplicado el efecto *in vitro* de cada fármaco anti-retroviral sobre la actividad antiviral de cualquier artículo de prueba, sobre la infección por el virus de VIH-1 de tipo silvestre de las células-T humanas MT-4, utilizando un ensayo de susceptibilidad a fármacos convencional (DSA), realizado en suero humano al 45 por ciento (HS), para proporcionar una mejor estimación de las interacciones que se podrían presentar bajo las condiciones de enlace de proteína que se encuentran *in vivo*. El compuesto I o el compuesto III se titularon solos o en combinación con cada NRTI o PI.

[00476] Se probó el impacto de cada NRTI o PI sobre la

eficacia del compuesto I o del compuesto III, en dos concentraciones diferentes del fármaco, una concentración "baja" (1x) y una concentración "alta" (5x); la concentración alta utilizada para cada compuesto se determinó a partir de experimentos piloto conducidos para asegurar que todavía se pudieran obtener valores de inhibición mensurables en la presencia de suero humano al 45 por ciento.

[00477] Estos estudios de interacción de fármaco-fármaco *in vitro* se implantaron primordialmente para determinar el potencial de interacciones negativas entre las diferentes clases de fármacos de VIH, en lugar de ser para examinar el potencial de sinergismo entre los diferentes agentes.

[00478] En resumen, ninguno de los siete fármacos NRTI de VIH o de los seis fármacos de PI de VIH probados exhibió una interacción negativa o antagonista mensurable con el compuesto I o con el compuesto III contra el VIH en estos experimentos *in vitro*.

Ejemplo 18

Metabolismo

[00479] Se evaluó el metabolismo de los compuestos I y III en células de rata, perro, mono, y humanas, y se evaluó la inhibición del citocromo P450 en microsomas de hígado humano.

Métodos

[00480] Los hepatocitos frescos se aplicaron en placas recubiertas con colágeno, y se expusieron a los compuestos de prueba a 1 µM durante hasta 2 horas. El medio de cultivo de tejido se ensayó para determinar el agotamiento del compuesto, mediante detección de LC/MS. Los valores de la Tabla 23 representan experimentos independientes de 5 a 7 donadores.

[00481] La inhibición de la actividad de CYP450 se determinó mediante el monitoreo de los cambios en el metabolismo de los

sustratos específicos de CYP450 mediante los microsomas de hígado humano, con diferentes concentraciones del compuesto I o III. El sustrato de sonda para 2C8 fue paclitaxel; el sustrato de sonda para 2C9 fue diclofenaco; y los sustratos de sonda para 3A4 fueron midazolam y testosterona. Se utilizaron dos sustratos para evaluar las interacciones de 3A4 debido a los múltiples sitios de enlace sobre la enzima.

Resultados

Tabla 23

Agotamiento del Compuesto en los Hepatocitos		
	t1/2 (min)	
Especie	**Compuesto I**	**Compuesto III**
Rata	33 ± 26	17 ± 15
Perro	28 ± 14	21 ± 10
Mono	63 ± 40	52 ± 24
Humano	215 ± 48	125 ± 55

[00482] Como se muestra en la tabla anterior, tanto el Compuesto I como el Compuesto III exhibieron un metabolismo *in vitro* limitado en los hepatocitos humanos.

Inhibición de Isozima CYP450		
	Ki (mM)	
	Compuesto I	**Compuesto III**
2C8	1.10	0.66
2C9	1.45	0.93
3A4	0.36	0.06

[00483] Como se muestra en la tabla anterior, tanto el compuesto I como el compuesto III mostraron una inhibición competitiva de CYP2C8 y CYP2C9. Además, tanto el compuesto I como el compuesto III mostraron una inhibición basada en el mecanismo de CYP3A4. La inhibición basada en el mecanismo se caracteriza por una pérdida de actividad enzimática dependiente del tiempo, asociada con un enlace covalente entre la enzima y un intermediario metabólico reactivo. La inhibición basada en el mecanismo también está asociada con la inducción de CYP450, debido a que se requiere una nueva enzima para restablecer la actividad enzimática. No se observó inhibición de CYP 2D6, 1A2, 2B6 y 2C19.

Metabolismo de los Compuestos I y III contra los Racematos Correspondientes

[00484] Se evaluó el metabolismo *in vitro* utilizando microsomas de hígado para todas las especies. Los compuestos se incubaron a 1 µM con microsomas de hígado durante hasta una hora. Las vidas medias reportadas mayores que el tiempo de incubación total son valores extrapolados. Los extractos se ensayaron para determinar la desaparición del compuesto progenitor mediante la detección con LC-MS/MS.

[00485] Los datos representan un experimento independiente conducido.

Vida media *in vitro* de los Compuestos I y III y los Racematos en Microsomas de Hígado

Especie	I	rac (I + II)	III	rac (III + IV)
	Vida media (min)			
Rata	100	146	88.8	105
Perro	19.3	287	13.2	257

Mono	15.4	18.4	12.6	16.3
Humano	120.6	115	154	91.2

[00486] Como se muestra en la tabla anterior, los compuestos enantioméricos puros I y III tuvieron vidas medias significativamente más cortas en los microsomas de hígado, comparándose con sus enantiómeros correspondientes.

Ejemplo 19

Farmacocinética *In vivo*

[00487] La farmacocinética de los compuestos I y III se evaluó en ratas (Compuesto III solamente), perros y monos.

Métodos

[00488] Todos los animales recibieron una sola dosis oral o intravenosa del compuesto, ya sea en polietilenglicol 400 (PEG400) o bien en una mezcla de etanol al 10 por ciento (EtOH), dimetil-acetamina al 10 por ciento (DMA), y PEG400 al 80 por ciento, en el nivel de dosis indicado. Los datos de concentración en plasma se adquirieron utilizando métodos de LC-MS/MS sensibles y específicos. Los datos farmacocinéticos a partir del estudio de toxicidad incluyeron aspectos de diferencias de género, variabilidad, y exposición.

[00489] Se recolectaron muestras de sangre (de 1.5 a 2.5 mililitros) en tubos heparinizados a los 0 (antes de la dosis), 5 (IV solamente), 10, 20, 30 minutos, 1, 2, 4, 6, 8, 12 (PO solamente), y 24 horas después de la dosificación. El plasma se separó y se almacenó a -70°C hasta su análisis.

[00490] Las concentraciones del compuesto I y el compuesto III no marcados dentro de las muestras de plasma y excreta de rata, perro, y mono de los estudios farmacocinéticos se

identificaron a través de métodos cromatográficos de líquidos de alto rendimiento (HPLC) que incorporaron detección espectrométrica de masas en fila (LC-MS/MS).

[00491] La biodisponibilidad oral absoluta se determinó en la farmacocinética mediante una comparación de los valores AUC del compuesto progenitor en seguida de dosis intravenosas y orales individuales en ratas (compuesto III solamente), perros, y monos.

[00492] La biodisponibilidad oral de ambos compuestos (5 miligramos/kilogramo) a partir de los estudios farmacocinéticos de exploración fue del 38 por ciento en ratas (el compuesto III solamente), del 4 al 9 por ciento en perros, y del 42 al 58 por ciento en monos. Aunque la biodisponibilidad del compuesto III en ratas fue más alta que en perros, y comparable con la de los monos, las ratas tuvieron una exposición a AUC en plasma mucho más baja comparándose con perros y monos.

[00493] También se estimó la biodisponibilidad absoluta para ambos compuestos a partir de los estudios de mono en 5 miligramos/ kilogramo. La biodisponibilidad absoluta del compuesto III fue del 42 por ciento en machos y del 76 por ciento en hembras, sugiriendo una diferencia de género potencial en la exposición sistémica. La biodisponibilidad del compuesto I, calculada utilizando los valores medios de AUC_t fue del 54 por ciento en machos y del 61 por ciento en hembras. Sin embargo, el valor para los machos puede haberse subestimado, debido a que la absorción en un animal fue lenta, y las concentraciones en plasma parecieron estar todavía aumentando a las 8 horas después de la dosis. Basándose en los valores AUC, excluyendo a este animal para el que no se pudo calcular la AUC, la biodisponibilidad en machos fue del 75 por ciento.

[00494] En seguida de una dosis oral de 5 miligramos/kilogramo, las concentraciones en plasma a las 24

horas después de la dosis fueron de 12 nanogramos/mililitro para el compuesto III, y de 17.9 nanogramos/mililitro para el compuesto I. Una dosis oral de 5 miligramos/kilogramo en el mono es equivalente (basándose en el área superficial corporal) a una dosis humana de aproximadamente 100 miligramos (véase *Guidance for Industry: Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administración, Center for Drug Evaluation and Research, Julio 2005). Este nivel del compuesto a las 24 horas después de la dosis apoya la dosificación una vez al día.

Biodisponibilidad Oral de los Compuestos I y III

Especie	Dosis (mg/kg)[a]	Vía de administración	No. animales/ género	T_{max} (hr)	BA (%)
Compuesto I					
Perro	5	Alimentado p.o.	2M, 1F	0.3 [b]	9
Mono	5	Alimentado p.o.	3M	2.7 [b]	58
Mono	5	Alimentado p.o.	3M	4.0 [c]	54
Mono	5	Alimentado p.o.	3F	4.0 [c]	61
Compuesto III					
Rata	10	En ayunas p.o.	3M	0.4 [b]	38
Perro	5	Alimentado p.o.	1M, 1F	1.5 [b]	4
Perro	20	Alimentado p.o.	1M, 1F	2.2 [b]	23
Mono	5	Alimentado p.o.	2M	3.0 [b]	42
Mono	5	Alimentado p.o.	3M	2.0 [c]	42
Mono	5	Alimentado p.o.	3F	2.0 [c]	76

Mono	20	Alimentado p.o.	2M	2.5 [b]	61

BA = Biodisponibilidad oral absoluta.

a = Las ratas, perros y monos recibieron una sola dosis oral de ya sea el Compuesto I o bien del Compuesto III. Adicionalmente, las ratas recibieron una dosis de 2 miligramos/kilogramo intravenosamente, y los perros y monos recibieron una dosis de 1 miligramo/kilogramo intravenosamente.

Ejemplo 20

Toxicología

[00495] Se evaluaron las toxicidades potenciales de los compuestos I y III *in vivo* en ratas y monos.

Métodos

[00496] Las ratas Sprague-Dawley y los monos cinomolgos se dosificaron una vez al día durante 14 días, por medio de intubación oral, con el compuesto I o el compuesto III o el vehículo de dosis (Capmul PG-8 al 68 por ciento, PEG 400 al 20 por ciento, Tween 20 al 2 por ciento, y Labrasol al 10 por ciento), de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorios. Hubo 10 ratas machos y 10 ratas hembras, y hubo 3 monos machos y 3 monos hembras. Las ratas y los monos se dosificaron con 0, 50, 150 o 500 miligramos/ kilogramo/día del compuesto I o con 0, 50, 150, 450 miligramos/ kilogramo/día del compuesto III.

[00497] La toxicidad se evaluó empleando observaciones clínicas, los pesos corporales, el consumo de alimento, y la patología clínica (hematología, coagulación, y química de suero).

[00498] Se llevó a cabo una necropsia comprensiva y un examen patológico general en todos los animales, y los órganos y tejidos seleccionados se recolectaron para la evaluación histológica.

[00499] Se condujeron determinaciones de hematócrito, concentración de hemoglobina, conteo de eritrocitos, conteo de leucocitos totales, y conteo de plaquetas en todas las muestras. Se llevaron a cabo evaluaciones diferenciales y morfológicas de leucocitos.

[00500] Las determinaciones de bioquímica clínica incluyeron las actividades de alanina-aminotransferasa (ALT) aspartato-aminotransferasa (AST), gamma-glutamiltranspeptidasa (GGT), y fosfatasa alcalina (ALP), y las concentraciones de nitrógeno de urea en sangre (BUN), creatinina, proteína total, albúmina, globulina, glucosa, colesterol, triglicéridos, bilirrubina total, y niveles de electrolitos (Na, K, P, Cl, Ca).

[00501] Las muestras de orina (monos solamente) se evaluaron microscópicamente y microscópicamente, y se probaron para determinar pH, bilirrubina, glucosa, proteína, cetonas, sangre, urobilinógeno, nitritos, leucocitos, y gravedad específica.

Resultados

[00502] No hubo efectos sobre el consumo de alimento o diferencias en el peso corporal asociadas con la dosificación del compuesto I o del compuesto III. No se observaron hallazgos clínicos relacionados con el tratamiento, y no se observaron cambios toxicológicamente significativos en los parámetros hematológicos o de química de suero, o en los hallazgos del urianálisis.

[00503] No se presentó ningún efecto toxicológicamente significativo sobre los pesos de los órganos (absolutos o relativos) con la excepción de mayores pesos del hígado en las ratas tratadas con el compuesto III (hembras solamente), y en los monos en las dosis media y alta. Sin embargo, estos hígados fueron microscópicamente no notables.

[00504] En las ratas tratadas con el compuesto I y el

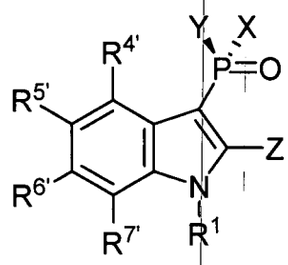
compuesto III, se observó hipertrofia/hiperplasia de células foliculares de tiroides mínima a leve en todos los grupos de dosis, excepto en las hembras tratadas con una dosis baja del compuesto III. No se pudo evaluar el impacto sobre la función de la tiroides debido a que no se examinaron los niveles circulantes de hormona tiroides y de TSH.

[00505] No se observaron otras lesiones macroscópicas, hallazgos microscópicos, o hallazgos de histopatología en las ratas ni en los monos.

[00506] Todas las publicaciones y solicitudes de patente citadas en esta memoria descriptiva se incorporan a la presente como referencia como si cada publicación o solicitud de patente individual fuera específica e individualmente indicada como incorporada por referencia. Esta invención se ha descrito con referencia a ciertas realizaciones. Aunque la invención anterior se ha descrito con algún detalle a manera de ilustración y ejemplo para propósitos de claridad de entendimiento, será fácilmente evidente para los expertos ordinarios en este campo, a la luz de las enseñanzas de esta invención, que se pueden hace3r ciertos cambios y modificaciones a la misma sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las variaciones y modificaciones de la invención serán obvias para los expertos en la técnica a partir de la descripción detallada de la invención anterior.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto puro de la fórmula (A), o una sal, solvato, hidrato, o éster farmacéuticamente aceptable del mismo:



(A)

en donde:

X es hidrógeno; arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo;

Y es hidrógeno, -R, -O-R, -NH-R, o -NRR;

Z es -OR, -NHR, -NRR, carboxamido, amido, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

R^1 es hidrógeno, acilo, $-S(O)_n-R$, carboxilo, carbonilo, o un residuo de aminoácido;

cada $R^{4'}$, $R^{5'}$, $R^{6'}$ y $R^{7'}$ es independientemente hidrógeno, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, heterociclo, halógeno, -CN, $-CF_3$, -OR, -NHR, -NRR, o $-NO_2$;

n es 0, 1, ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, arilo, o heterociclo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde X es arilo o heterociclo; alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, alquinilo de 2 a 6 átomos de carbono, o alquilo; y

Y es -R, -O-R, -NH-R, o -NRR.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:

cada $R^{4'}$ y $R^{5'}$ es independientemente hidrógeno o halógeno;

$R^{6'}$ y $R^{7'}$ son hidrógeno;

R^1 es hidrógeno o $-S(O)_n-R$;

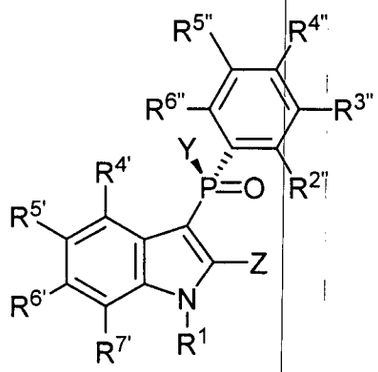
Y es hidrógeno, -R, ó -O-R;

Z es carboxamido, amido, carboxilo, o carbonilo;

n es 1 ó 2; y

cada R es independientemente hidrógeno o alquilo.

4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 3 de acuerdo con la fórmula (C):



(C)

en donde cada $R^{2"}$, $R^{3"}$, $R^{4"}$, $R^{5"}$ y $R^{6"}$ es independientemente hidrógeno, halógeno, alquilo sustituido o insustituido, o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono sustituido o insustituido.

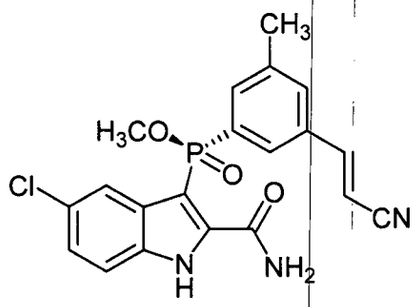
5. El compuesto de la reivindicación 4 en donde cada $R^{3"}$ y $R^{5"}$ es independientemente alquilo o alquenilo de 2 a 6 átomos de carbono, el cual puede estar opcionalmente sustituido con CN o halógeno; y $R^{2"}$, $R^{4"}$ y $R^{6"}$ son hidrógeno.

6. El compuesto de la reivindicación 5 en donde R^1 es hidrógeno;

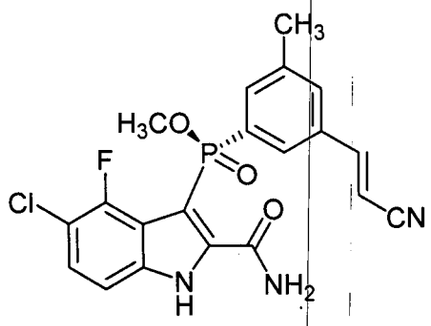
Y es -O-R; y

Z es amido, carboxilo, o carbonilo.

7. Un compuesto puro de la siguiente formula, o una sal o éster farmaceuticamente aceptable del mismo:



8. Un compuesto puro de la siguiente formula, o una sal o éster farmaceuticamente aceptable del mismo:



9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que es enantioméricamente puro.

10. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que está sustancialmente libre de su enantiómero opuesto.

11. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende cuando menos 80 por ciento, 90 por ciento, 95 por ciento, ó 99 por ciento en peso del enantiómero designado.

12. El compuesto cualquiera de las reivindicaciones reivindicaciones 1 a 8 que es una sal farmacéuticamente aceptable, en forma de éster o neutra.

13. Una composición farmacéutica, la cual comprende el compuesto cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico, en donde dicha composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto.

14. Una composición farmacéutica, la cual comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 y un segundo agente anti-VIH, en donde dicha composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto.

15. La composición farmaceutica de la reivindicación 14 en donde el segundo agente anti-VIH es un inhibidor de proteasa o un inhibidor de integrasa.

16. El uso de un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para el tratamiento, prevención, aminoramiento o manejo de los síntomas asociados con una infección por VIH en un sujeto.

17. El uso de la reivindicación 16, en donde el uso además comprende administrar el compuesto al sujeto en combinación o alternando con al menos un segundo agente anti-VIH.

18. El uso de la reivindicación 17, en donde el segundo agente anti-VIH es un inhibidor de proteasa, un nucleósido o un inhibidor de transcriptasa inversa de nucleótidos, un inhibidor de transcriptasa inversa que no es de nucleósidos, una combinación de dosis fija, un inhibidor de entrada, un antagonista co-receptor de CCR5, un inhibidor de maduración, o un inhibidor de integrasa.

19. El uso de la reivindicación 16, en donde el uso además comprende administrar el compuesto al sujeto en combinación o alternando con un agente anti-HBV.

20. El uso de la reivindicación 16, en donde el compuesto es administrado por via oral.

21. El uso de la reivindicación 16, en donde el compuesto es administrado en combinación con un segundo compuesto efectivo para el tratamiento o prevención de la infección por HCV al sujeto.

22. El uso en terapia de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12.

23. El uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 en la fabricación de un medicamento

para el tratamiento, prevención, aminoramiento o manejo de los síntomas asociados con una infección por VIH.

24. La composición farmaceutica de la reivindicación 15 en donde el segundo agente anti-VIH es amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir, lopinavir, ritronavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir, nelfinavir, brecanivir, GS-8374, Elvitegravir, GSK-364735, o raltegravir.

25. El uso de la reivindicación 18, en donde el segundo agente anti-VIH es amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir, lopinavir, ritronavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir, nelfinavir, lamivudina, emtricitabina, abacavir, zalcitabina, zidovudina, tenofovir, didanosina, estavudina, delavirdina, efavirenz, nevirapina, Atripla, Combivir, Trizivir, Truvada, maraviroc, enfuvirtida, brecanivir, GS-8374, amdoxovir, apricitabina, elvucitabina, Etravirina, Rilpivirina, Calanolida A, Aplaviroc, PRO2000, Vicriviroc, Bevirimat, Elvitegravir, GSK-364735, o raltegravir.

26. El uso de la reivindicación 19, en donde el agente anti-HBV es entecavir, lamivudina, interferon alfa-2b, peginterferon alfa-2a, adefovir dipivoxil, telbivudina, emtricitibina, clevudina, tenofovir, valtorcitabina, amdoxovir, LB80380, remofovir, o racivir.

27. El compuesto de la reivindicación 7 que es enatioméricamente puro.

28. El compuesto de la reivindicación 7 que está sustancialmente libre de su enantiomero opuesto.

29. El compuesto de la reivindicación 7 que comprende cuando menos 80 por ciento, 90 por ciento, 95 por ciento, ó 99 por ciento en peso del enantiómero designado.

30. El compuesto de la reivindicación 7, en donde el enantiómero designado está en exceso de su enantiómero opuesto por 30 -80 por ciento.

31. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 7.

32. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 7 y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico, en donde dicha composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto.

33. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 7 y un segundo agente anti-VIH, en donde dicha composición está sustancialmente libre del enantiómero opuesto de dicho compuesto.

34. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en donde el segundo agente anti-VIH es un inhibidor de proteasa o un inhibidor de integrasa.

35. La composición farmacéutica de la reivindicación 33, en donde el segundo agente anti-VIH es amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir, lopinavir, ritronavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir, nelfinavir, brecanivir, GS-8374, Elvitegravir, GSK-364735, o raltegravir.

36. El uso de un compuesto de la reivindicación 7 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, prevención, aminoramiento, o manejo de los síntomas asociados con una infección por VIH en un sujeto.

37. El uso de la reivindicación 36, en donde el uso además comprende administrar el compuesto al sujeto en combinación o alternando con al menos un segundo agente anti-VIH.

38. El uso de la reivindicación 37, en donde el segundo agente anti-VIH es un inhibidor de proteasa, un nucleósido o un inhibidor de transcriptasa inversa de nucleótido, un inhibidor de transcriptasa inversa que no es de nucleósidos, una combinación de dosis fija, un inhibidor de entrada, un antagonista co-receptor de CCR5, un inhibidor de maduración, o un inhibidor de integrasa.

39. El uso de la reivindicación 37, en donde el segundo agente anti-VIH es amprenavir, tipranavir, indinavir, saquinavir, lopinavir, ritronavir, fosamprenavir, darunavir, atazanavir, nelfinavir, lamivudina, emtricitabina, abacavir, zalcitabina, zidovudina, tenofovir, didanosina, estavudina, delavirdina, efavirenz, nevirapina, Atripla, Combivir, Trizivir, Truvada, maraviroc, enfuvirtida, brecanivir, GS-8374, amdoxovir, apricitabina, elvucitabina, Etravirina, Rilpivirina, Calanolida A, Aplaviroc, PRO2000, Vicriviroc, Bevirimat, Elvitegravir, GSK-364735, o raltegravir.

40. El uso de la reivindicación 36, en donde el uso además comprende la administración del compuesto al sujeto en combinación o alternando con un agente anti-HBV.

41. El uso de la reivindicación 40, en donde el agente anti-HBV es entecavir, lamivudina, interferon alfa-2b, peginterferon alfa-2a, adefovir dipivoxil, telbivudina, emtricitibina, clevudina, tenofovir, valtorcitabina, amdoxovir, LB80380, remofovir, o racivir.

42. El uso de la reivindicación 36, en donde el compuesto es administrado por vía oral.

43. El uso de la reivindicación 36, en donde el compuesto es administrado en combinación con un segundo compuesto efectivo para el tratamiento o prevención de la infección por HCV en el sujeto.

44. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 7 y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico, en donde dicha composición comprende cuando menos aproximadamente 10 por ciento, 20 por ciento, 30 por ciento, 40 por ciento, 50 por ciento, 60 por ciento, 70 por ciento, 80 por ciento, 90 por ciento, o 99 por ciento en peso del enantiómero designado, en donde el porcentaje en peso restante

está constituido por el vehículo, el excipiente o diluyente farmacéutico, y donde el peso está basado en el peso total de la composición.

Specification of Molecular Chirality

BY R. S. CAHN [1], SIR CHRISTOPHER INGOLD [2], AND V. PRELOG [3]

The topological analysis of chiral molecular models has provided the framework of a general system for the specification of their chirality. The application, made in and before 1956, of this system to organic-chemical configurations is generally retained, but is redefined with respect to certain types of structure, largely in the light of experience gained since 1956 in the Beilstein Institute and elsewhere. The system is now extended to deal, on the one hand, with organic-chemical conformations, and, on the other, with inorganic-chemical configurations to ligancy six. Matters arising in connexion with the transference of chiral specifications from model to name are considered, notably that of the symbiosis in nomenclature of expressions of the general system and of systems of confined scope.

1. Scope, divisions, and definitions
   1.1. Scope of this paper
   1.2. Asymmetry and chirality
   1.3. Centre, axis, and plane of chirality
   1.4. Configuration and conformation
   1.5. Conformation and axial chirality
   1.6. Conformation and planar chirality
   1.7. Chirality and the helical model: helicity
2. Chirality to ligancy four: modifications and additions
   2.1. The sequence rule procedure to ligancy four: Ligancy complementation; Factorisation rule; Sequence rule; Standard sub-rules; Chirality rule; Helicity rule
   2.2. Valence-bond conventions: multiple-bond unsaturation and aromaticity; Convention for π-complexes
   2.3. Precedence of sub-rules: ordering by mass-number
   2.4. Ordering by stereochemical differences; *seqcis* and *seqtrans*
   2.5. Central chirality: symmetry and its procedural consequences; Rule for equivalent centres
   2.6. Axial chirality: scope, procedure, and symmetry; Selection rule
   2.7. Planar chirality: procedure and symmetry; Selection rule
   2.8. Secondary structures
3. Chirality to ligancy four: nomenclature problems
   3.1. Specification of chirality in names
   3.2. Mixtures of stereoisomers
   3.3. Broken numbering
   3.4. Chirality symbols in trivial names that specify configurations
   3.5. Molecules of uncertain structure
   3.6. Specification of axial, planar, and secondary structural chirality
4. Conformational chirality to ligancy four
   4.1. Basis of treatment: Conformational selection rules; Conformational helix
   4.2. Conformations involving three torsional energy hollows
   4.3. Conformations involving two torsional energy hollows
   4.4. Conformational secondary structures
5. Central chirality to ligancy six
   5.1. Outline of the sequence-rule procedure for ligancies five and six
   5.2. The octahedral sequence rule and its sub-rules
   5.3. The octahedral numbering rule and its sub-rules
   5.4. The octahedral chirality rule
   5.5. Symmetry in central chirality with ligancy six
   5.6. Secondary structures involving ligancies six

1. Scope, Divisions, and Definitions

1.1. Scope of this Paper

Two papers, published in 1951 and 1956, hereinafter called Papers I [4] and II [5], describe a method, the sequence-rule method, for specifying the absolute configuration of enantiomers on the self-contained basis of a few general rules. This condition precludes dependence on genetic assumptions, and on conventions of nomenclature and formulation, all matters that cannot be comprised within a few rules. The method achieves its independence, and hence its relative simplicity, by working directly with the space model. The model is built only from atoms and bonds. However, the specifying labels, which the sequence-rule method attaches primarily to the model, are made succinct enough to be taken therefrom into the name of the substance.

An important general aspect of Papers I and II is that they, along with the present continuation paper, represent a contribution to the still unformed subject of chemical topology. That is why, although the applications are chemical, the basic concepts are topological. It is, of course, because they are topological that they can be defined sharply, and also permanently, despite the ever-changing face of chemistry.

Paper I was limited to optical isomers dependent on asymmetric carbon atoms or other octet-forming asymmetric atoms. Paper II took as its more extended scope optical isomers, whether involving asymmetric atoms or not, but still limited to structures of atoms with no more than four directed bonds.

The present paper has two purposes. The first is to consolidate the method throughout the field covered in Paper II, in the light of the experience which has been accumulated

[1] The Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London, W. 1. Present address: 23, Woodwaye, Oxhey, Watford, Herts. (England).

[2] University College, Gower Street, London, W.C.1 (England).

[3] Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich (Switzerland).

[4] *R. S. Cahn* and *C. K. Ingold*, J. chem. Soc. (London) *1951*, 612.

[5] *R. S. Cahn*, *C. K. Ingold*, and *V. Prelog*, Experientia *12*, 81 (1956).

since that paper appeared. A number of investigators[6] have called our attention to special difficulties, which they have most helpfully discussed with us. By far the most searching of all the tests to which the method has been subjected is that which has arisen in the Beilstein Institute from its adoption for the description of configuration in the 4th Edition of Beilstein's "Handbuch der organischen Chemie". The letters of the late Prof. *F. Richter*, and, since his death on 22nd November 1961, of Dr. *O. Weissbach*, analysing the results of their joint study of the method, have been an important source of inspiration to us in the writing of the relevant sections of the present paper.

There are two sections concerned essentially with consolidating the already occupied area. In Section 2, we deal with the analysis of configuration in structures of atoms with up to four directed bonds, and with its specification on the space model. A few applications of the procedure are modified, and some others are more closely prescribed than before, with improvement, as we think, both to the conceptual unity of the method, and to the ease of its use in some of the more difficult types of application. A number of examples are given, including some due to Prof. *Richter* and Dr. *Weissbach*, most of which have been constructed *ad hoc* in order to illustrate difficulties of various kinds. In Section 3, we take up certain special, essentially practical, problems concerned with the transfer of stereochemical specifications from the molecular model to within the framework of nomenclature.

The second purpose of this paper is to extend, as was foreshadowed in Paper II, the application of the sequence rule, beyond the basal area covered in Paper II and Sections 2 and 3 of this paper. We move out from it in two directions, which were, in fact, considered for exploration at the time of writing Paper II, though the final conclusion then was that Chemistry was not experimentally advanced enough to require either development. But since then, the situation has changed sufficiently, we think, to justify reversing that conclusion.

In the first of the extensions now proposed, which is described in Section 4, a starting-point, already given by *Klyne* and one of us[7], is made the basis of a use of the sequence rule to specify enantiomeric conformations in structures of atoms having up to four directed bonds, chiefly, of course, carbon conformations. In the second extension, described in Section 5, we take the first step in raising the covalency limit, or, more properly expressed, the ligancy limit above four, by proposing an application of the sequence rule in the specification of group-arrangements about an atom of maximum ligancy six. We prefer the terms "ligancy", "quadriligant", *etc.*, because they refer to the number of bonds formed but are non-committal as to bond-type, whereas the terms "covalency", "quadricovalent", *etc.*, imply theories as to the type of bond. Moreover the term "ligating" atom carries no implication as to how the atom becomes bound, whether by co-ordinating as an electron donor or acceptor, or by colligating[*] as a radical; and this, as a genetic implication, is of a type that we like to avoid.

This is as far as we go. But one can foresee that in the future these extensions themselves will require filling-out, and that further extensions, for example, to higher than primary protein structures, to ligancies higher than six, and to polyatomic elemental clusters, will be wanted. However, it would seem premature to map these areas before they are better explored.

---

[6] Professors *S. J. Angyal*, *H. Dahn*, *E. L. Eliel*, *K. Mislow*, and *O. Th. Schmidt* and Drs. *K. R. Hanson*, *S. J. Tauber*, and *R. S. Tipson*, as well as (the late) Professor *F. Richter* and Dr. *O. Weissbach*, to all of whom we are deeply grateful.

[7] *W. Klyne* and *V. Prelog*, Experientia *16*, 521 (1960).

[*] This term (cf. *C. K. Ingold*: Structure and Mechanism in Organic Chemistry. Cornell University Press, Ithaca, New York, 1953, pp. 5, 205) suits our general preference for "ligating" and its congeners. The syllable "co" signifies like participation by the involved atoms, as in "covalency".

1.2. Asymmetry and Chirality

Chemists habitually use the word "asymmetry" (and its grammatical congeners) in two different senses, sometimes without appreciating the difference. One sense is correct, and the other is so loose that it must be considered incorrect. Yet many authors must have felt, as we have, the embarrassment of having, either to avoid the word, or to complicate statements containing it with some periphrase contrived to indicate in which of its two senses it is to be understood. It will be convenient now to end this difficulty.

The symmetry of any molecular model consists in the totality of independent symmetry operations of (a) rotation (by sub-multiples of 2π) round the axes of symmetry, (b) reflexion in planes of symmetry, and (c) combinations of such a rotation and a reflexion, which will bring the molecule into coincidence with itself. Only when no symmetry operation can so convert the molecule, has the molecule no symmetry. Only then may it be called "asymmetric" in the correct usage of that term.

Thus Cabcd has no symmetry whatever, and therefore the term "asymmetric carbon atom" is entirely correct, if the atom's surroundings are taken into account, as is always intended.

Asymmetry is a sufficient condition for the existence of optical enantiomers. But it is not, though it is sometimes referred to as if it were, the necessary and sufficient condition. We need a separate word for that.

The necessary and sufficient condition is that reflexion in a plane converts the model into a non-identical one, that is, one which cannot be superposed on the original by translations and rotations only. The model then has two non-identical forms, inter-related by a reflexion, that is, two enantiomeric forms: it has the topological property of handedness. Its possibilities of symmetry are much restricted; but they are not eliminated. Obviously, it cannot have any symmetry of types (b) and (c) above, which require superposability after a reflexion. But there is no such ban on symmetry of type (a). A model which has no element of symmetry except at most axes of rotation may be called *chiral*. Thus *chirality* expresses the necessary and sufficient condition for the existence of enantiomers. Chirality means handedness, and, in our context, topological handedness[*].

---

[*] This useful word was brought to our attention by Professor *K. Mislow*, who referred us to Webster's Dictionary (2nd Edition), where "chiral" is defined as "Of, or pertaining to the hand, specifically turning the plane of polarisation of light to either hand", and to two articles by *Whyte* [8] on the history of the word. It has occurred in the literature of physics since 1904, when it appeared in a publication [9] by *Lord Kelvin* of lectures delivered at earlier dates, in particular one of 1884 rewritten in 1903, and one of 1893 in which it is defined to mean topological handedness. Today its meaning is broadened to include the spin-handedness of elementary particles. However, we shall be concerned only with its original meaning of space-handedness.

[8] *L. L. Whyte*, Nature (London) *180*, 513 (1957); *182*, 198 (1958).

[9] *Lord Kelvin*: Baltimore Lectures. C. J. Clay and Sons, London 1904, pp. 436, 619.

1.3. Centre, Axis, and Plane of Chirality

An unambiguous division of the overall field of topological chirality must itself be topological. For the problem is to describe a space relation, and the primary classification should therefore be concerned with the types of geometrical relation requiring to be described, not with where the forces come from which make them what they are. Thus, the main framework for the classification of chirality has to be geometrical. To introduce theories of chemical bonding, or structural energetics, at this fundamental level would create great difficulties.

It was in this understanding that, in Paper II, we introduced a primary division of chirality (there called "asymmetry", or sometimes, "dissymmetry") into central, axial, and planar chirality, a classification which is based only on the three-dimensional nature of space. The chiral centre is an abstraction of the asymmetric atom: the space about it, when unoccupied, is undifferentiated in its three dimensions, and certain differences in its occupation have to be established in order to produce chirality. A chiral centre that is not the seat of an atom can be contemplated (Sub-section 2.8). A chiral axis does distinguish one dimension from the other two, and hence lesser differences in the occupation of the surrounding space are sufficient for the development of chirality. A chiral plane distinguishes two dimensions from the remaining one, and again reduced differences in the occupation of the ambient space suffice to create chirality.

A given chiral structure may contain one or more of some or all of these elements of chirality. The first step in the procedure for specifying chirality is to factorise the overall chirality into as many chiral centres as are present, and, if their specification leaves that of the overall chirality incomplete, into chiral axes, or chiral planes, or both, as far as necessary. This procedure of factorisation was implied in Paper II, but was not formally stated as a rule.

It is well known that, whilst the chiral sense of different elements of chirality can commonly be varied independently, some elements in some structures may be so stereospecifically linked that that cannot be done. However, this does not interfere with the assigning of specific designations of chirality to such elements.

The above broad geometrical lay-out is unequivocal and universal, as long as it is not upset by non-geometrical considerations, for example, by theories of bonding, or of structural energetics, or by chemical classifications. Nevertheless, the practical problem does sometimes arise of arranging a convenient symbiosis between these geometrical concepts, which are sharply definable, and chemical concepts, which it may be impossible satisfactorily to define, but which do convey distinctive general ideas. The difficulty is not so much that the geometrical and chemical concepts are not co-extensive, but that the margins of the latter carry a penumbra.

We meet this type of problem unavoidably, as a result of our decision to apply the sequence rule to conformations.

1.4. Configuration and Conformation

These terms have come down, the one through a long history, and the other through a short one, each carrying a generally distinctive set of ideas. Yet history has never produced satisfactorily distinguishing definitions. It results from this that the newer concept of conformation has an agreed area of application, an agreed area of non-application, and a penumbra.

We shall take it that conformations arise from pure rotations around the internuclear lines of formally single bonds. However, the concept of conformation became important as a result of the discovery that rotation around the C–C bond of ethane is resisted, and that therefore some of the arising conformations are stable with respect to all small relative displacements of the atoms, and thus are molecular states, now commonly called conformational isomers, rotational isomers, conformers, or rotamers. Such molecular states will have a first claim on our attention in applying the sequence rule, but conformations which are not molecular states will have a claim, because their relation to conformers has to be considered in many connexions.

We now ask what types of resistance to rotation are qualified to produce a conformer. The type present in ethane would universally be considered to be so qualified. However, the restriction on rotation round a single bond, caused by its inclusion in a small ring, might not be considered as so qualified: it could be argued that the incapacity of the bond for rotation is not a situation for which the bond is primarily responsible. But what is to be said, if the inhibition arises because some attached groups are too large to pass one another? Neither is that the primary responsibility of the bond. A range of such intermediate situations can be found which constitute the penumbra.

Let us examine another approach. As is emphasised in the different histories of the concepts of configuration and conformation, the energy barriers that protect configurations are usually much larger than those which separate conformers. Thus stable optical activity is widespread throughout the realm of configuration, having created the multitude of practical problems of specifying chirality, to deal with which the sequence-rule system was devised. On the other hand, in the domain of conformation, stable optical activity is much less common, and, indeed, is largely associated with the area of the penumbra. For several reasons, no sharp distinction between configurational and conformational molecular states can be based on barrier heights. No delimiting energy figure could be exclusively justified. Most actual barrier heights are unknown.

We must explain our concern with this matter of the penumbra. We wish to specify, in particular, the chirality of conformations about the C–C bond. This amounts to specifying the space relations of the maximum of six atoms bound to the C_2-unit, given that the configurations of the two sets of three, of which the set of six is composed, are pre-determined. By introducing unsaturation at either end, or at both ends, of the C_2-unit,

specialisations can be created, in which the six atoms become reduced to five, composed of sets of three and two, and to four, composed of two pairs. However, in spite of this last specialisation, the problem of conformational specification as a whole is different enough from that of the configurational specification of four groups about an asymmetric atom, or about any of the general elements of chirality, the centre, axis, or plane, to determine that we must in general apply the sequence rule to configuration and to conformation in different ways. We need not now go into the difference; the present point is simply that its existence requires us carefully to examine the margins between configuration and conformation.

Conformations which are not molecular states present no procedural dubiety. The penumbra has to do with molecular states. We might try to draw a sharp boundary between the alternative procedures by inventing some particular definition of a conformer, which either includes the penumbral area, or takes some other prescribed course through or around it. Whatever definition we set down, we cannot expect its universal acceptance, either in general or for our particular purpose.

Let us consider, for example, the following classification of molecular states, which gives to conformers a scope embracing the whole penumbral area. By configuration is meant the space-arrangement of a model representing a molecular state with neglect of the distinctions between varieties of that state which differ only as after relative rotations of groups directly bonded together, about the internuclear lines of their intervening, formally single bonds; and by a conformational molecular state (conformational isomer, rotational isomer, conformer, rotamer) is meant a space-arrangement which signalises such a distinction, and identifies such a variety-state.

This definition includes not only examples of the general nature of those which formed the historic foundations of the subject of conformation. It includes also cases in which rotation round a single bond is prevented by interactions of groups possibly some bonds away from the single bond in question, as in biaryls; or by the locking of the single bonds in rings which in turn create non-bonded group-interactions, as in *para*-cyclophanes. These situations are today accepted by many as configurational, as, indeed, those of stereoisomerism in the biaryl series were for a decade before the fundamental discovery of 1936 by *Kemp* and *Pitzer* concerning ethane. For these reasons among others, we do not expect our wide-limit definition of conformations to be unanimously acceptable, and so we have to devise a means by which the necessary definiteness of the sequence-rule system can co-exist with such a penumbral area of allowably diverse opinions.

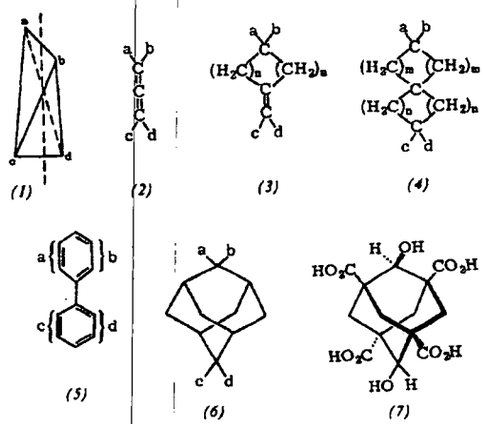
The whole penumbral area falls into two parts, one contained within the broader field of axial chirality, and the other within that of planar chirality. These primary geometrical divisions of chirality refer only to the topological relations requiring to be described, and do not ask the question of whether their chemical origins are configurational or conformational. Thus, the dubieties which arise are concerned, not with whether some case or class of cases should be treated as configurational or conformational, but with whether it should be treated on a basis indifferent to that question, or by a specifically conformational method, when allowed by the wide-limit definition given above. We discuss the two parts of the penumbral area in the next two sub-sections.

1.5. Conformation and Axial Chirality

The chirality of four groups arranged out-of-plane in pairs about an axis, as diagrammatically illustrated by the elongated tetrahedron *(1)*, was discussed in Paper II. With no distinction at all between its four groups, a, b, c, d, the tetrahedron has a four-fold alternating axis of symmetry, which becomes the chiral axis when differences of any kind between the groups import chirality. It was noted in Paper II that fewer differences in groups are required to produce chirality about an axis than are necessary for chirality about a centre. Thus the four groups, shown as abcd in *(1)*, need not all be different: so long as a and b are different, and c and d are different, *(1)* will be chiral, even if identities arise between the pairs, as in ab, ac, or ab, ab.

This form of chirality was illustrated in Paper II with examples of four kinds typified by allenes *(2)*, alkylidenecycloalkanes *(3)*, spirans *(4)*, and biaryls *(5)*. To these, we must now add a fifth type, the adamantoids *(6)*, one of which *(7)* has already been optically resolved [10]. All these illustrations may be taken to represent more general classes, in which some carbon atoms may be replaced by stereochemically similar hetero-atoms, such as nitrogen. The classes typified by *(2)*, *(3)*, *(4)* and *(6)* are clearly configurational. The class typified by *(5)* is conformational by our wide-limit definition. All five classes display stable optical activity.

Evidently two views are possible as to how chirality of type *(5)* should be specified. One is that, because, by the definition given above, the enantiomers are conformational isomers, they should be specified by the method



[10] *H. Stetter* and *O. E. Bänder*, Chem. Ber. *88*, 1535 (1955).

devised to cope with conformations. The other is that, because, in all the five types *(2)–(6)*, all that is being specified is the similar space-relations of the four groups abcd, and not the forces that hold them where they are, it would be suitable, and perhaps convenient, to specify all in the same way, and hence as forms of axial chirality.

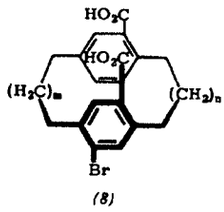
We think that both points of view must be considered tenable; and rather than presuming exclusively to decide between them, we should prefer that both methods of specifying the chirality of biaryls would be regarded as available. That is to say, biaryls would be treated, either as examples of axial chirality, as illustrated in Paper II and additionally in Sub-section 2.6 below, or by the appropriate specialisation of the treatment of conformational chirality, as discussed in Section 4 below. Of course, if the method is to be left to choice, the results must be expressed in forms which disclose the choice. We do that in the sequel by using contrasting symbolisms in the two methods.

1.6. Conformation and Planar Chirality

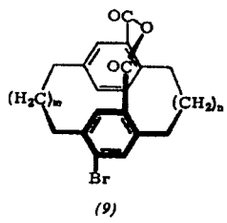
As explained in Paper II, a plane of chirality is derived by desymmetrisation of a plane of symmetry in such a way that chirality depends on a distinction between one side of the plane and the other, and on a pattern of three groups (of which two or even all three may be equivalent). These are basic conditions, not changed at all by the fact that planar chirality is discussed again in Sub-section 2.7 below, where some modifications of procedure are introduced. Most, though not all, of the examples available at present belong to the chemical class of bridged rings with bridge-heads in aromatic rings.

Once again, alternative approaches to the specification of chirality arise in a part of the general field of planar chirality. For some examples fall within the wide-limit definition of conformations given above, and some do not. Yet those which do and those which do not may be geometrically very similar. In order to bring out the distinction, two *para*-cyclophanes, closely resembling two illustrated in Paper II, are represented at *(8)* and *(9)*.

The dicarboxylic acid *(8)* is a conformational isomer by the definition. For its enantiomer differs from it as would the result of a conceptual rotation of both benzene rings through 180° about their *para*-situated arylmethylene bonds. We may note in passing that the acid which differs from *(8)* as after a conceptual rotation of one benzene ring only, an acid which would normally



(8)



(9)

be regarded as a position isomer of *(8)*, is by the same definition a conformational isomer.

On the other hand, the anhydride *(9)* is not a conformational isomer, even by the definition. For the rings cannot now be rotated, not even in imagination, without the introduction of deformations other than rotational. The enantiomeric product of such rotation bears a permanent bending deformation, inasmuch as the valency angle of the single-bonded oxygen atom has been widened from Θ to $2\pi-\Theta$. If this is not immediately obvious, it can be made so by imagining the oxygen atom to be replaced by Cab, an ordinary asymmetric carbon atom, in *R*-form say, which will clearly have to go into *S*-form in the enantiomer, a conversion which, at best, involves bending the pair of bonds to the carbonyl groups past the pair to the atoms a and b, and reciprocally.

Here we have two examples, which are broadly similar geometrically, and closely related chemically, both belonging to the domain of planar chirality. Yet one falls within the scope of the definition of conformers given above, whilst the other does not, and is thus inevitably configurational. The chirality of the anhydride *(9)* can be specified by only one sequence-rule method, namely, that applicable to planar chirality. However, alternative procedures are possible for specifying the chirality of the dicarboxylic acid *(8)*. Either it can be treated, like its anhydride, as an example of planar chirality; or it can be specified by an application of the procedure devised for conformations (Section 4).

Again our view is that both methods should be considered available, and that the one used should be left to choice, which the resulting specification would disclose.

1.7. Chirality and the Helical Model: Helicity

A helix is characterised by a helical sense, a helical axis, and a pitch (ratio of axially linear to angular properties). Thus, helicity is a special case of chirality, because it implies two additional properties. When a natural object or process has all the three properties, the helical model, just because it provides so well-filled-in a portrait, may be the easiest abstract model to recognise and use, even though it summarises more properties than may be relevant to the matter under discussion. Of course, when a chiral object has not all the helical properties, nor by a simple adaptation can be given them, the specialised helical model is inapplicable, and the object belongs to the general case of chirality.

A familiar example of the use of the specialised helical model, when valid, for less specialised purposes, is that of the spinning elementary particle in free space. It has helicity; and, in reference to it, the term "helicity", is frequently used in discussions to which only part of its full meaning, only helical sense (*i.e.* chirality), is relevant.

Our concern is with molecular structures. In some, for example, some secondary protein structures, a well-developed helical arrangement contributes to chirality. The chirality of conformations is most conveniently referred to the helical model, so we have reason enough

to follow precedent in using the helical model, when applicable and particularly convenient, even though the only one of its several properties which is relevant to our considerations is its sense.

As to this, right- or left-handed helicity associates a right- or left-handed turn, as the case may be, with axial translation away from the observer; and to reverse the helix with respect to the observer makes no difference. We shall propose designations for right- and left-handed helicity in Sub-section 2.1.

2. Chirality to Ligancy Four: Modifications and Additions

2.1. The Sequence-Rule Procedure to Ligancy Four

This method of specifying chirality works directly with the space-model. The models treated are of conventionally approximated valence-bond structures. We defer to Sub-section 2.2 the stating of the conventions, because we want to change one of them. As allowed by the ligancy limit, electron-octet valence-bond structures are employed.

Conceptually, all atoms other than hydrogen are complemented to quadriligancy by providing them, as far as necessary, with imaginary bonds and atoms to bind, as follows. First, they are provided, respectively, with one or two duplicate representations of any ligands to which they are doubly or triply bonded; and then their unsaturation, if any, of unshared valency electrons or incomplete valency electron shells is satisfied with phantom atoms of atomic number zero.

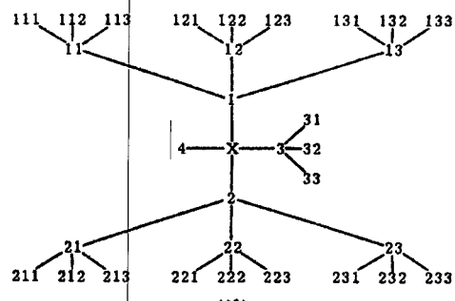
The chirality of such a formalised valence-bond structure is now factorised into chirality in the occupation of space about the identifiable chiral elements, first the centres, and then, as far as necessary, the axes and planes of chirality. The elements are then stereochemically characterised by the following procedure applied to each in any applicable order.

For the purpose of characterising an element of chirality, for example, an asymmetric atom, the ligands associated with it are put into a priority sequence, and the most important of the characters used for this purpose is atomic number. Thus, the ligands about an asymmetric atom are arranged in order of decreasing atomic number of the atoms by which they are bound to it; or, if the relative order of two ligands cannot thus be decided, it is determined by a similar comparison of atomic numbers of the next atoms in the ligands, or, if this fails, of the next: so one works outward, always first towards atoms of higher atomic number, where there is any choice, until a decision is obtained.

In this outward exploration along the bonds, we thus follow paths of highest precedence. It is so important to be clear as to what this means that we here repeat the detailed prescription, illustrated by formula *(10)* and given in Paper I, for the ordering by atomic number of the ligands about an asymmetric atom. The ligands are placed in order of decreasing atomic numbers of selected sets of their atoms, the sets being selected, and so used, successively, as fas as necessary, as follows.

First set: To an asymmetric atom let four atoms, 1, 2, 3, and 4 be directly bound. Then the atoms 1, 2, 3, 4 constitute the first set.

Second Set: Let 1 and 2 be any two atoms of identical atomic number in the first set. To 1 let there be directly bound atoms 11, 12, 13, ..., here arranged as far as possible in order of decreasing atomic number. To 2 let there be directly bound atoms 21, 22, 23, ..., similarly here arranged. Then the second set contains 11 and 21, unless these have the same atomic number, when it contains instead 12 and 22, unless these also have the same atomic number, when it contains instead 13 and 23. The complete second set is to be composed by applying this procedure to every pair of ligands whose atoms of the first set have the same atomic number.



(10)

Third Set: Let the atoms 1 and 2 have identical atomic number, and let the atoms 11, 12, ..., and 21, 22, ..., be identical in atomic number in pairs, 11 with 21, 12 with 22, and so on throughout. Then the atoms of the third set are selected from the atoms 111, 112, ..., directly bound to atom 11 and here arranged in order of decreasing atomic number as far as possible, and from the atoms 211, 212, ..., directly bound to atom 21, and similarly here arranged, as were the atoms of the second set from the atoms, 11 12, ..., directly bound to atom 1, and the atoms 21, 22, ..., directly bound to atom 2; unless all the atoms from which the atoms of the third set might thus have been selected are identical in atomic number in pairs, each of the series 111, 112, ..., with one of the series 211, 212, ..., when the atoms of the third set are similarly selected from the similarly arranged atoms 121, 122, ..., directly bound to atom 12, and likewise the atoms 221, 222, ..., bound to atom 22; and so on. The complete third set of atoms is to be composed by applying this procedure to every pair of ligands having relationships of identity similarly to those assumed for the ligands to which the atoms 1 and 2 belong.

Higher Sets: The method for selection of the $(n + 1)$th set of atoms is to be developed from that of the nth set as was that of the third set from that of the second set.

In case outward exploration by this method does not order the ligands completely, because of the absence of a distinction of atomic number between certain of the ligands, the exploration is repeated with respect to such ligands using characters other than atomic number as basis for comparisons made at each step of exploration.

In Paper I, it was proposed to order ligands having only isotopic differences by reference to atomic mass-numbers, higher mass-numbers taking precedence over lower. In Paper II, it was proposed to order ligands which had only stereochemical differences by reference to these differences, with a prescribed order for *cis* and *trans* differences, and also for enantiomeric features.

In Paper II, the further generalisation was made of using this procedure not only for centres of chirality, but also, with suitable adaptations, for axes and for planes of chirality.

The object of the procedure, however applied, is to arrange the ligands associated with an element of chirality in a sequence. The succeeding processes are simple. The sequence is allowed to trace a path on the space-model, and the chiral sense of the path, designated in a prescribed way, then classifies the element of chirality.

The procedure was summarised in Paper II in a schedule of consecutively applicable rules, the various characters, used for the comparisons made during exploration of the ligands, being covered in a series of consecutively applicable sub-rules. This schedule is reproduced in a revised form below. Two changes of substance are made, which set up a new sub-rule, and renumber and rearrange some of the older sub-rules. The reasons for these changes are explained in Sub-sections 2.3 and 2.4. The special nomenclature used in Sub-rule (3) is explained in Sub-section 2.4, and the symbols *M* and *P*, which appear in Sub-rules (4) and (5) are defined later in the present Sub-section.

Ligancy Complementation. *All atoms other than hydrogen are complemented to quadriligancy by providing respectively one or two duplicate representations of any ligands to which are doubly or triply bonded, and then any necessary number of phantom atoms of atomic number zero.*

Factorisation Rule. *Overall chirality is factorised into elements, which are treated in the order, centres first, and then axes, and finally planes, as far as necessary.*

Sequence Rule. *The ligands associated with an element of chirality are ordered by comparing them at each step in bond-by-bond explorations of them, from the element, along the successive bonds of each ligand, and, where the ligands branch, first along branch-paths providing highest precedence to their respective ligands, the explorations being continued to total ordering by use of the following* Standard Sub-rules, *each to exhaustion in turn, namely*:

(0) *Nearer end of axis or side of plane precedes further.*

(1) *Higher atomic number precedes lower.*

(2) *Higher atomic mass-number precedes lower.*

(3) *Seqcis precedes seqtrans.*

(4) *Like pair R,R or S,S precedes unlike R,S or S,R; and M,M or P,P precedes M,P or P,M; and R,M or S,P precedes R,P or S,M; and M,R or P,S precedes M,S or P,R; also p precedes s.*

(5) *R precedes S; and M precedes P.*

Chirality Rule. *Among ligands of highest precedence the path of their sequence is followed from the preferred side of the model, that is, the side remote from the group of lowest precedence, and, according as the path turns to right or left, the element is assigned the chiral label R or S, or, if pseudo-asymmetric, r or s.*

In planar chirality, the preferred side of the model may be said to be on that side of the chiral plane which contains an atom, called the "pilot atom", which we shall define, and show how to identify, in Sub-section 2.7.

When the specialised helical model is applicable, and is to be used, a different rule of assignment will be required. The helix may immediately identify itself in the molecular model, as do the helices of secondary structures (Sub-section 2.8). In the area of conformations (Section 4), a limited use of the Sequence Rule is made in order to identify the helix. Supposing the helix to have been identified, it is necessary only to specify its sense. For this purpose, we propose the following rule of assignment:

Helicity Rule. *According as the identified helix is left- or right-handed, it is designated "minus" and denoted by M, or designated "plus" and denoted by P.*

There are some areas, notably, as explained in Sub-sections 1.4–1.6, around the margins of the field of conformations, and also, as will be observed in Sub-section 2.8, in the field of secondary structures, where two methods of specifying chirality are left open, one of which would use the Chirality Rule, whilst the other would employ the Helicity Rule. In the most important of these areas, notably in the biaryl series, *R* and *S* by the former correspond respectively to *M* and *P* by the latter. One result of the choice of symbols for designating helicity is the mnemonic that, in alphabetical order, *R* and *S* correspond to *M* and *P*, respectively, in the field mentioned.

2.2. Valence-Bond Conventions: Multiple-Bond Unsaturation and Aromaticity

The sequence rule has to be applied to valence-bond structures, though structural valency is an approximation concept, indeed, one which seriously loses precision in the presence of any form of unsaturation.

For this reason, four conventions, defining the valence-bond approximation by which an unsaturated molecule was to be represented for the purpose of applying the sequence rule, were proposed in Paper I[4]. They were as follows:

(a) *Hyperconjugation is neglected.*

(b) *Contributions by d orbitals to bonds of quadriligant atoms are neglected.*

(c) *A mesomeric system is represented by its usual valence-bond structure or structures. By "usual" is meant selected, first, to have fewest formal charges and radical centres, and then, given this, with preference for multiple bonds and conjugated systems of them, and chief preference for closed-conjugated systems.*

(d) (Now discarded). A mesomeric system with several usual valence-bond structures is represented by one of them, selected by a special rule, which was enunciated.

Convention (b) excludes double-bonded structures of, *e.g.*, sulphoxides and sulphinates. Under convention (c), charges are minimised and double bonds introduced subject to convention (b), and hence subject to such exclusions. We do not restate the rule contained in convention (d), because the present proposal is to discard it, and, indeed, to change the whole direction of convention (d). We must first explain the need for a change.

By far the most important area to which convention (d) applies is that of the six-membered aromatic rings. These always have several Kekulé-type structures, which can all be taken as usual valence-bond structures. Some subsidiary areas are covered by the convention, but they present only minor variations of the same problem of ambiguity in double-bond arrangement. The special rule in the old convention (d) for the selection of a particular arrangement was unequivocal, but it was excrescent to the logic of the sequence rule; and (as Prof. *Richter* and Dr. *Weissbach* convinced us) experience has proved that it is undesirably intricate in some of its applications.

Now the treatment of systems to which convention (d) applies is a last step, and so is dependent on earlier steps, in the treatment of multiple-bond unsaturation as a whole. Even though it is only in the last step that the difficulties mentioned have arisen, we cannot appropriately change that step in isolation, but must revise the treatment of unsaturation more generally.

We have had three aims in mind in designing the revision now to be proposed. One was to retain a maximum of orthodoxy in assignments of configuration to the traditional and didactically basic cases of molecular chirality, such as tartaric and lactic acids, glyceraldehyde, and serine. Another was to improve the logical unity of the sequence-rule procedure. The third aim was the practically important one of simplifying the more involved applications of the sequence rule in the field of polyunsaturated systems.

The treatment of unsaturation now proposed, and its relation to the former treatment, may be explained with the aid of a simple example. Let us consider a molecule containing one asymmetric carbon atom, and, as a feature of unsaturation, one carbonyl group. We shall assume that the ordering of ligands about the asymmetric atom is being accomplished on the basis of atomic number, that is, by Sub-rule (1). Following the fundamental sequence-rule method, we conceptually travel from the asymmetric atom along each of its bonds, recording their characters by the atoms found at their further ends, in numerically coded form for ordering, as the atomic numbers of these atoms. Then, having arrived by way of a bond at an atom, we explore similarly all its other bonds. And we repeat this procedural step as far as it is material. When we arrive at carbonyl-carbon, we record its double bond as two single bonds both ending on oxygen: for purposes of accountancy, we refer to one as terminating on the real oxygen atom, and the other on its duplicate representation. The old procedure stopped there; but it is an illogical place to stop; and the new proposal is that the procedure should be continued through one further and complementary step. This step is that, having arrived by way of a bond at carbonyl-oxygen, we explore its (only) other bond, which ends on carbon. Thus, for numerical coding with a view to ordering, we represent C=O, not, as before by C–O, but by C(O)—O(C), where (O) and (C) are duplicate representations of the double-bonded atoms.

Generalising from this illustration, we see that the amended formulation of multiple bonds for application of the sequence rule involves adding, not merely at the first-encountered end, but at *each* end of each double or triple bond, one or two duplicate representations, as the case may be, of the atom at its other end.

This method has the simplifying effect, particularly helpful in the field of unsaturated ring compounds, that one has not necessarily to keep a strict account of which is the end of a multiple bond that is first encountered in the exploratory process. The same answers would follow if the multiple bonds were conceptually supplied with the duplicate representations of atoms before the exploration was begun. This simplification in turn opens the way to a simpler convention (d), one not involving an excrescent special rule.

It may be noted in passing that we could have achieved a similar though not identical result by an instruction to treat double and triple bonds as rings, in particular, as two-membered rings and bridged rings, respectively. This would obviate reference to duplicate representations of atoms; but we find duplicate representations, like phantom atoms, an aid to accounting, and hence prefer to retain them. As before, all real atoms other than hydrogen, and all duplicate representations, are made up to ligancy four with phantom atoms. The full representation of carbonyl thus becomes C(O)ooo—Ooo(C)ooo, where o denotes a phantom atom.

This amended formulation of multiple bonds is immediately applicable to non-mesomeric unsaturated systems. They are subject only to the structure-defining conventions (a) and (b).

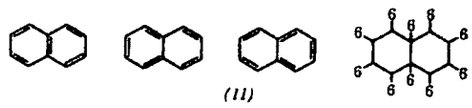
It is immediately applicable also to mesomeric systems with a uniquely usual valence-bond structure. They are governed by conventions (a), (b), and (c), the last being an instruction to employ the unique structure. It was noted in Paper I that a large number of types of mesomeric system fall into this general case, and that one important type which does so is that of the hererocyclic five-membered-ring aromatic molecules. Quite generally, the unique structure is a least polar one; and this is true for the five-ring aromatics, the unique structures of which have two-double-bonded non-dipolar rings, with no uncertainty as to double-bond positions. This applies even to sydnones, for which the overall structure is dipolar, but the ring is not. In some five-ring aromatics, the complication of prototropy arises: this is discussed in Sub-section 3.5.

It is in the field of mesomeric systems with several usual valence-bond structures that the amended formulation of multiple bonds is most helpful. The primary

area here is that of those even-membered rings whose unsaturation is expressible in fully-closed conjugated systems of double bonds. The field embraces the six-membered aromatic rings, and some even-rings in molecules not typically aromatic, for instance, that in cyclo-octatetraene, and the ten-membered ring (but not the component rings) of azulene. In all these rings, the closed-conjugated double bonds can be inserted in two ways, and our concern is to prevent this Kekulé-type ambiguity from producing an ambiguity of sequence-rule result.

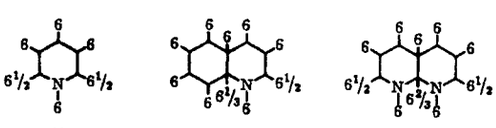
We may interpolate here, as a comment on the two immediately preceding paragraphs, that the application of common treatment to aromatic and non-aromatic systems should occasion no surprise. For we are dealing with valence-bond structures, and have no concern with molecular energetics, and hence none with aromaticity as such. Aromaticity is another chemical concept which conveys a distinctive set of ideas, but is incapable of satisfactory definition, and hence has an area of application, one of non-application, and a penumbra.

With the revised formulation of multiple bonds, it is easy to arrange that the ambiguity of double-bond distribution in closed-conjugated even-rings shall lead to no ambiguity of sequence-rule result. Actually, this consequence follows inevitably and without more ado, provided that the rings are homocyclic: if they were the only problem, no convention (d) at all would be required. For in them, the delocalised valency of each ring-carbon binds only carbon, and hence can be supplied with a duplicate representation of carbon. Thus the various usual valence-bond structures give the same representation to which to apply the sequence rule, as illustrated for naphthalene, and thus for a naphthyl residue in a chiral molecule, in *(11)*. The duplicate representation is here denoted by its atomic number 6, instead of by (C), for comparison with the group of cases next to be considered.



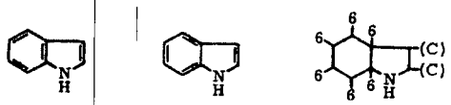
(11)

In the homocyclic series, the representation is so automatic that it is immaterial whether we regard it as derived from one selected valence-bond structure, or from a blend. Actually the latter idea is the better for adaptation to closed-conjugated even-rings containing one or more hetero-atoms. In such systems, a ring atom may be concurrently part-binding atoms of more than one kind, and hence, in the blend, may be binding an average atom of fractional atomic number. As any ring-atom must have either two or three next-neighbour ring-atoms, we conventionalise the possible proper fractions to $^1/_3$, $^1/_2$, or $^2/_3$, by assuming for simplicity equal partitioning of the delocalised valency among the next-neighbour atoms, as illustrated at *(12)–(14)*, where the figures denote the atomic numbers of the blended duplicate representations.



(12) *(13)* *(14)*

The importance of distinguishing between systems with unique, and with several, usual valence-bond structures, and, in particular, between odd-rings and closed-conjugated even-rings in aromatic molecules containing both, should be emphasized. Only in the even-ring of a residue of indole, for example, are the usual structures different, and therefore to be blended. To mark the distinction, the duplicate representations of carbon, blended or otherwise, are denoted by two kinds of symbols in formula *(15)*, which, it will be noted, contains no fractional atomic numbers, because the hetero-atom belongs to the unique odd-ring part of the structure.

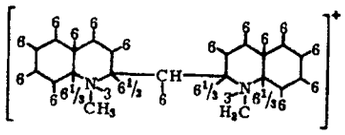


(15)

The "primary" field of mesomeric systems with several usual valence-bond structures to be blended is that just considered, the field of *closed-conjugated even-atomic rings*. But a "secondary" field of such exists, *viz.* that of the *mesomeric odd-atomic ion and radical systems*, as we illustrate below. The two types of system may be present together, and may be overlapped. Two odd-atomic systems may be overlapped in a bivalent ion or di-radical, which may thus be even-atomic overall.

An odd-atomic mesomeric system of the "secondary" field may be endless or ended. In either case, we shall express the unsaturation with a maximum of formal double-bond conjugation; and we shall have a plurality of usual valence-bond structures. The system will possess a phantom atom. Typically, this will occupy different positions in those valence-bond structures which have to be blended. Thus it will be present, though delocalised, in the blend. As examples, we may consider the cyclopentadienylide ion, the tropylium ion, the phenalenylide ion, the acetylacetonate ion, and the cyanine dyes. In some of these, blending does not fractionate atomic numbers only into halves and thirds. In the cyclopentadienylide ion, each of the five delocalised carbon valences is taken to contribute to the extent of one-fifth to the binding of the phantom atom, and hence to the extent of four-fifths to the binding of carbon, wherefore it is associated with the atomic number $(4/5)\times 6$. In the tropylium ion, and likewise in the phenalenylide ion, the phantom atom can have any of seven positions, and thus the delocalised valency at each such position is taken to contribute to the extent of one-seventh to the binding of the phantom atom, and is accordingly associated with the atomic number $(6/7)\times 6$. In the acetylacetonate ion, each oxygen atom has a delocalised valency, which in one of our valence-bond structures binds carbon and in the other a phantom atom, and hence is associated with the atomic number $(1/2)\times 6$. The nitrogen atoms of the cyanine dyes are in the same situation, as is illustrated in formula *(16)*. All these conventionalised structures, here de-

scribed as for parent ions, hold for residues of the ions, as they might be encountered in chiral ions requiring to be treated by the sequence rule.



(16)

Just as, when blending in the "primary" field of closed-conjugated even rings, we divide a delocalised bond equally (into halves or thirds), irrespective of the symmetry of the model, so in the "secondary" field, we blend structures of a mesomeric odd-atomic ion system with an equal division of the delocalised bond to the phantom atom, irrespective of the symmetry of the model. Thus the phantom atom representing the ionic charge in the pyrrolylide ion, the pyrazolylide ion, or the imidazolylide ion, is taken as bound equally by each of the five ring atoms, so that only four-fifths of the delocalised bond of each ring atom is available for equal division between nearest-neighbour atoms in the ring. Again what is here said of the simple ions will apply when they are substituted to give chiral ions.

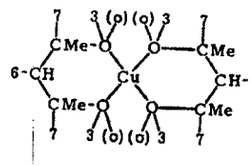
When one or more systems of the "primary" field in which we blend usual valence-bond structures, and one or more systems of the "secondary" field, are overlapped, blending is effected with structures which maximally retain "primary" systems, in accordance with convention (c). The phantom atom in the indenylide ion, or in the indolylide ion, is thus delocalised only between positions 1 and 3; and in the fluorenylide ion or in the carbazolylide ion, it is localised on position 9. Chiral or other substituents in the benzo-rings make no difference to these locations. Triarylmethyl cations, anions, and radicals, are taken with a maximum of "primary" systems, that is, in fully benzenoid form, with the phantom atom therefore localised on the central atom. Accordingly, a conventionalised structure, thus prepared for application of the sequence rule, is in no way dependent on the actual (not exactly known) electron distribution, and substituents, chiral or otherwise, though they might make a great difference to the actual electron distribution, make no difference to the conventionalised structure.

When two ionic systems of the "secondary" field are overlapped, as in the pentalene-di-ide ion, we distribute the bonds to their respective phantom atoms additively and independently. In this example, two-fifths of the delocalised bond of each ring-junction atom, and one-fifth of that of each other ring atom, that is, ten-fifths altogether, are concerned with binding the two phantom atoms.

Having explained the reasons for, and the scope, substance, and method of application, of the new convention (d), we may now formally enunciate it:

(d) *(New) A mesomeric system with several "usual" valence-bond structures is represented by their blend, in which each delocalised bond is assumed equally to bind the next-neighbour atoms of the system, the atomic number characterising the bond being the arithmetic mean of those of these atoms. Delocalised bonds to phantom atoms are taken as equally divided between their several positions.*

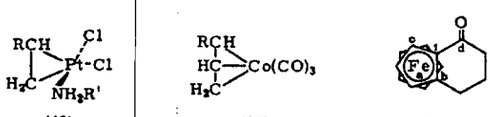
In the treatment of σ-bonded metal derivatives of mesomeric ions, the metal atom is given a bond to each ligating atom of each ligand. In σ-chelated derivatives, the model may contain one or more systems belonging to the "secondary" field of blending, wherein, typically, phantom atoms are delocalised. In cupric acetylacetonate *(17)*, each chelate ligand thus has mono-oxonium character, and carries three phantom atoms, one of which is delocalised. Metal porphyrins are chelated σ-complexes, and an example of this class is given in Section 5.4.



(17)

When a metal is π-bonded to a non-conjugated double or triple bond, then, in the valence-bond structure prepared for application of the sequence rule, the multiplicity of the bond is reduced by unity, and the atoms of the bond are made to bind the metal by single bonds, as illustrated for an olefin-platinum complex in *(18)*. When a metal is π-bonded to a conjugated unsaturated system, whether radical, ion, or molecule, for example, an allyl radical, a cyclopentadienylide ion, a cyclohexadienylium ion, a 1,3-diene, or benzene or a derivative, all the unsaturated atoms concerned in the binding of the metal are similarly made to bind it with single bonds, with a corresponding reduction in the formal unsaturation of the ligand, as illustrated for an allyl-cobalt complex in *(19)*. The resulting formulae are limiting with respect to the (not exactly known) degree to which the unsaturation electrons are binding the metal, and thus substituents, although they might alter the actual electron distribution, make no difference to the conventionalised π-bonded structures. The need for blending does not now arise. The convention covering this type of situation is therefore as follows:

Convention for π-Complexes. *Those ligating atoms of an unsaturated ligand which are π-bonded to a metal atom are taken each to bind that atom with a single bond, their quadriligancy being preserved by reducing by unity the multiplicity of the multiple bonds in which they participate within the ligand.*



(18) (19) (20)

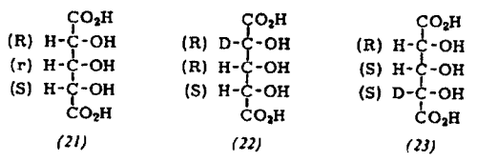
The use of such structures in the assignment of chiral symbols may be illustrated by reference to the optically resolved ferrocene ketone *(20)*, the represented configuration having been determined by *Schlögl* and *Falk* [11] for the enantiomer having $[\alpha]_D = +580°$ in

ethanol. Each of the five carbon atoms of the substituted cyclopentadienyl ring is an asymmetric atom, but the chirality of the whole molecule will be specified if we designate the chirality of any one of these atoms, conveniently C-1, the one most preferred by the Standard Sub-rules. In the sequence required for its designation, the first member, a, which is the iron atom, lies below the plane of the other three members, b, c, and d, as marked on *(20)*. Hence C-1 is *S*, and the ferrocene might be designated[*] as 1*S*.

2.3. Precedence of Sub-Rules: Ordering by Mass-Number

The rules scheduled in Sub-section 2.1, the Factorisation Rule, the Sequence Rule, with its Standard Sub-rules, and the Chirality Rule, are the fundamentals of sequence-rule procedure. Furthermore, the order of the rules and sub-rules is an essential part of the procedure, because stated specifications of chirality would be meaningless unless the order of use of the rules were known. We have to have a firm order, one in which opportunistic variations are not allowed. Therefore an order may not be prescribed which renders the sequence-rule system inoperable in some part of its legitimate field.

When Paper II was written, it was felt that, as ordering by isotopic differences would seldom be required, the mass-number sub-rule might conveniently be made the last sub-rule. It has, however, been pointed out to us by Prof. *Richter* and Dr. *Weissbach* that this prevents the sequence rule from specifying correctly chiral forms that can be derived by asymmetric isotopic substitution in a parent compound such as *(21)* or *(24)*. Compounds *(22)* and *(23)* are derived thus from the parent compound*(21)*. Had the mass-number sub-rule been allowed to remain last, they could not have been assigned the correct specifications shown: in both, the central atom would have been specified as *R* by the same earlier sub-rule that specified the central atom of *(21)* as *r*; and this would have been a *reductio ad absurdum*, inasmuch as *(22)* and *(23)* are enantiomers.



In order to avoid this difficulty, and reach the correct assignments shown, we prescribe that all ordering by material differences should be done before any ordering by stereochemical distinctions. Therefore, in the schedule of rules in Sub-section 2.1, the mass-number sub-rule has been re-numbered (2), and brought to a position immediately following the atomic-number sub-rule (1).

Similar arguments can be developed with respect to the internal order of the two former stereochemical sub-rules, now expanded to three, and numbered (3), (4), and (5). But in this case, the same principles of decision require that, as before, differences of geometrical isomerism be treated before chiral differences. The chief reason is that the sub-rules employing the latter are "parasitic" on the other sub-rules, requiring as intake-material, not merely the model itself, but also the answers that the other sub-rules give: wherefore, unless Sub-rules (4) and (5) were last, specifications in structures with many chiral centres could depend on the indeterminate order[*] in which the various chiral centres were specified.

The finally obtained order of the sub-rules, though reached essentially on pragmatical grounds, has a certain logical tidiness. Material differences are dealt with in sub-rules (1) and (2) before stereochemical in sub-rules (3) to (5); and, within each class, the grosser distinction is used before the finer, elemental before isotopic material differences, and differences involving scalar magnitude before those of vector-sense alone among stereochemical distinctions.

2.4. Ordering by Stereochemical Differences

The ordering of two groups, A and A′, which are identical except for a stereochemical difference, is based on Sub-rules (3) to (5).

We must first explain the special nomenclature that has been introduced into Sub-rule (3). This sub-rule was formerly written "*cis* precedes *trans*", and an explanation was added, of which it is easy to lose sight, unless signalised, as now, in the notation.

Applications of the terms *cis* and *trans* to group arrangements about an atom-pair XY in a double bond or ring have developed traditionally but irregularly, inasmuch as it has never been generally prescribed which substituent of a pair ab in Xab, and which of a pair cd in Ycd, are fiducial for the assignment of *cis* and *trans* labels to the whole arrangement abX=:::=Ycd. It is not our business to revise the nomenclature of geometrical isomerism; but we have to have a regulated method of supplying the geometrical labels that we require in the course of assigning chirality by the sequence rule. Our labels, now distinguished as *seqcis* and *seqtrans*, will not always correspond to the traditional ones *cis* and *trans*. But ours are mere scaffolding: they disappear in the final assignments of chirality; and hence they do not get embodied in chemical nomenclature. As a definition we may write:

> Seqcis and seqtrans. *An atom-pair is called seqcis or seqtrans according as the sequence-rule-preferred ligand bound to each atom of the pair is cis or trans with respect to the other such ligand.*

We assign our labels, *seqcis* and *seqtrans*, to the atom-pair XY, with respect to a double bond or ring to which it belongs, by taking as fiducial the sequence-rule-preferred substituent of the pair ab, and the preferred

[11] *K. Schlögl* and *H. Falk*, Angew. Chem. *76*, 570 (1964); Angew. Chem. internat. Edit. *3*, 512 (1964); *H. Falk* and *K. Schlögl*, Mh. Chem. *96*, 266 (1965).

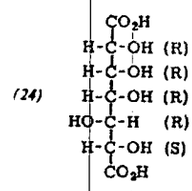
[*] In Professor *Schlögl*'s papers it is called *R*, and for this we are to blame, having expressed to him our agreement with that designation before our generalised treatment of metal π-complexes had been developed.

[*] We have no rules, and could not have any general rules, prescribing the order in which different chiral centres are to be assigned: feasibility is the sole condition (cf. Sub-section 2.1).

one of the pair cd. If atoms of the pair XY belong simultaneously to several rings, so that some of its substituents with respect to one ring are parts of other rings, the pair XY should first be assigned by this method a geometrical label with respect to each ring; and then, in case these labels are different, we accept as effective that which depends on the most preferred substituent of all, or the more preferred pair of fiducial substituents. The atoms of the pair XY might belong each to one of two co-planar double bonds in a series of cumulated double bonds, as in a cumulene; but, provided that a conventional label, *cis* or *trans*, could describe, the stereochemical relation of the fiducial substituents at X and Y, we shall apply a label *seqcis* or *seqtrans* to the atom-pair XY. And we shall use a similar method when double-bonds in such as cumulated system are replaced by rings, as in alkylidenecycloalkanes or spirans.

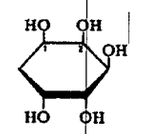
Having thus recognised the *seqcis* or *seqtrans* geometrical character of all relevant atom-pairs, we order the groups A and A′, as far as Sub-rule (3) allows, by exploring them for geometrical character, comparatively and in steps, from the chiral element outwards. If we number the atoms in A and in A′ independently from the chiral element, our first comparison is of the 1,2-atom-pair in A with the 1,2- in A′, the second is of the 1,3-pair in A with the 1,3-in A′, and so on, the general order being 1,2 > 1,3 > 2,3 > 1,4 > 2,4 > 3,4 > ...., where > means "precedes". Sub-rule (3) is applied to the first distinction encountered.

The previous sub-rule that *R* precedes *S* is replaced by Sub-rules (4) and (5), of which Sub-rule (4) is new. These sub-rules employ chirality specifications assigned to other elements of chirality. Such chirality specifications, when spread over two groups A and A′ that are not differentiated by the previous sub-rules, generate a true element of chirality, if at least one pair of specified elements of chirality in the group A is diastereoisomeric with the corresponding pair in the group A′. The new Sub-rule (4), which prescribes that *R,R* or *S,S* precedes *R,S* or *S,R*, and generally that a pair of specifications of like individual priority (see Sub-rule 5) precedes a pair of unlike, deals with this situation. The groups A and A′ are explored for already assigned pairs of specifications, comparatively, and in outward steps, the order of the comparisons, with the previous numbering, being 1,2 > 1,3 > 2,3 > ..., as above. Sub-rule (4) is applied to the first difference encountered. Formula *(24)* is a simple example of its application. Sub-rule (4) also prescribes that *r* precedes *s*. These symbols can by themselves distinguish such diastereoisomeric differences as are the subject of this sub-rule. The specification of chirality of an atom X in a structure of the type {*(RSr)*, *(RSs)*, a,b}X would exemplify this application. The earlier sub-rule that *R* precedes *S*, now generalised in Sub-rule (5), is used to assign chirality symbols to an atom X in combinations such as (R_1,S_1,R_2,S_2)X. This sub-rule is also used to specify diastereoisomerism characterised by pseudo-asymmetry of the type (*R*,*S*,a,b)Y. We specify pseudo-asymmetry, as before, by the symbols *r* and *s*, noting that they are unchanged on reflexion of the model.



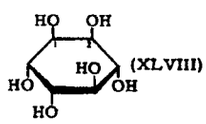
(24) - according to Sub-rule (4)

Turning to illustrations, we must first correct a mistake in Paper II, pointed out to us by the friends already mentioned[6]. This is that, in some of our assignments to cyclitols, we forgot, despite having stated it, that the geometrical characters, now denoted by *seqcis* and *seqtrans*, are internal to either group A or A′, and do not describe a relation of such a group to some other group of the complete set AA′bc. The formulae which were mis-labelled on this account, with their original numbers from Paper II, are reproduced below, but in association with the correct chiral assignments[*]:



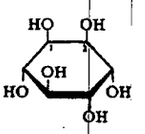
(XLV)

(1R, 2R, 4R, 5R)



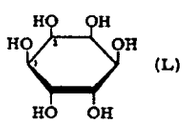
(XLVIII)

(1S, 2R, 3R, 4R, 5R, 6S)



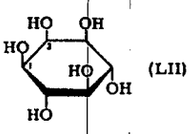
(XLIX)

(1S, 2R, 3R, 4S, 5S, 6S)



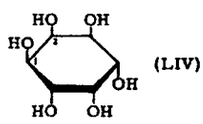
(L)

(1R, 2R, 3S, 4S, 5R, 6S)



(LII)

(1R, 2s, 3S, 4R, 5s, 6S)



(LIV)

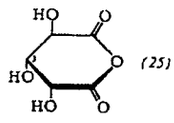
(1S, 2r, 3R, 4R, 5r, 6S)

We refer finally to some of the further examples that have come under discussion[6]. In the anhydride *(25)*, C-3 is symmetric, as in the free acid, and hence receives no label. In hydroshikimic acid *(26)*, and its diastereoisomer *(27)*, C-1 and C-4 are asymmetric, and are labelled by Sub-rule (3). In the myoinositol ether,

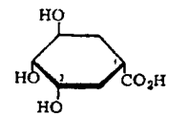
[*] The convenient "local" system of cyclitol notation, the so-called "fractional" system, illustrated in Paper II, automatically specifies absolute configuration, even within the type $(Xab)_n$, if the numbering system, applied within that type, and illustrated in the inositol series $(CH-OH)_6$ is employed. This system is applicable when no unambiguous starting-point for numbering is given by the constitution, apart from any stereospecificity, as, for example, in cyclic systems of the series $(Xab)_n$, $(Xab-Ycd)_n$, $(Xab-Ycd-Ycd)_n$, $(Xab-Ycd-Zef-Ycd)_n$, ... The numbering system involves so placing the ring horizontally that at least as many fiducial groups (OH in the examples) point upward as downward, and that lowest numbers may mark the former when the ring is numbered clockwise from above. Thus the (−)- and (+)-inositols, (XLVIII) and (XLIX), are specified as to absolute configuration by their local-system prefixes (1,2,4/3,5,6)- and (1,2,5/3,4,6)-, respectively. Although no additional symbols are required, one could signalise each enantiomer with an additional configurational symbol, such as 4*R* or 4*S*: one need not fall back on symbols that signify optical rotation only. It will be clear that the numbers used in this system satisfy our requirement of suggesting no genetic relations between the atoms of (XLVIII) and those of (XLIX).

bornesitol *(28)*, and its diasteroisomer *(29)*, C-1 and C-4 are labelled by Sub-rule (3), and the difference at C-1 shows in the symbols for its chirality.

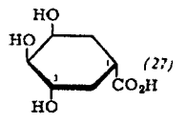
Example *(30)* has been contrived as a case of special complexity, inasmuch as the specification of chirality of C-7 depends on a stereochemical difference between the 1,2- and 4,5-atom-pairs, each belonging to two rings with respect to which it has opposite geometrical descriptions. However, the specification is not difficult to follow. With respect to its five-membered ring, the


(25)

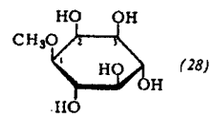
(2R, 4R)


(26)

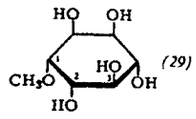
(1S, 3S, 4R, 5S)


(27)

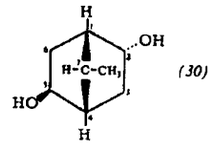
(1R, 3S, 4S, 5S)


(28)

(1R, 2S, 3S, 4R, 5R, 6S)


(29)

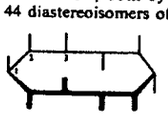
(1S, 2S, 3R, 4R, 5S, 6S)

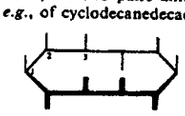

(30)

1,2-atom-pair carries the fiducial substituents 6-CH_2 and 2-OH, which are *cis*. With respect to the six-membered ring, the fiducial substituents carried by the same atom-pair are 7-CHMe and 2-OH, which are *trans*. The latter fiducial pair is the more preferred, and hence the 1,2-atom-pair is *seqtrans*. Similarly, the 4,5-atom-pair is *seqcis*. Hence the chirality of C-7 is described as *S*, and the specifying prefix for compound *(30)* is (2*R*, 5*S*, 7*S*)[*].

[*] In applying the stereochemical Sub-rules as prescribed in the text, we do not reflect, in the final description, *R* or *S*, of the asymmetric atom under specification, *all* the details of the stereochemistry on which that description depends. Thus, when a specification depends on ordering groups by Sub-rule (3) or (4), we do not show in the final symbol by which of their atom-pairs they were ordered, whether by the 1,2-pairs, or 1,3-, or other pairs; and when ordering by Sub-rule (5), we do not finally show by which atoms the groups were ordered.

This failure to express part of the provided data must in principle open the possibility of lost distinctions in the resulting descriptions, so that two stereochemically different models would receive the same description. Actually, such cases seem so rare that we think that it would be a mistake to to elaborate descriptions as a routine, though they can easily be elaborated in order to separate them when required. No case has yet been realised experimentally, and the only ones yet thought of, as far as we know, both by Dr. *Weissbach*, are two pairs among the 44 diastereoisomers of $X(ab)_{10}$, *e.g.*, of cyclodecanedecaols.


(30a)


(30b)

(30a) $1R^{\alpha\beta}$, 2s, $3S^{\alpha\beta}$, $4R^{\alpha\gamma}$, $5R^{\alpha\gamma}$, $6S^{\alpha\gamma}$, 7s, $8R^{\alpha\gamma}$, $9S^{\alpha\gamma}$, $10S^{\alpha\gamma}$

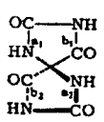
(30b) $1R^{\alpha\beta}$, 2s, $3S^{\alpha\beta}$, $4R^{\alpha\beta}$, $5R^{\alpha\beta}$, $6S^{\alpha\beta}$, 7s, $8R^{\alpha\beta}$, $9S^{\alpha\beta}$, $10S^{\alpha\beta}$

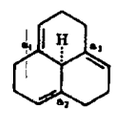
2.5. Central Chirality: Symmetry and its Procedural Consequences

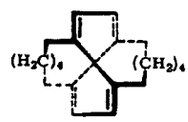
We have not previously considered what types of symmetry can be accepted by a quadriligant chiral centre. Such a centre can fall into any of the following four symmetry classes. The most familiar and by far the most extensive class is that of no symmetry (C_1 in Schoenflies symbols), as in Cabcd, the asymmetric carbon atom.

The next higher symmetry class, among those to which chiral centres can belong, contains one two-fold axis (class C_2). An illustration can be derived from achiral Caabb by making each ligand b related differently to the a's, and each ligand a differently to the b's, as can be done by connecting each ligand a with a separate b in equivalent rings. This proceeding destroys the two previously present planes of symmetry, but it retains the two-fold rotational axis. The resulting spiro-compound, (ab)C(ab), is chiral. Its two-fold axis passes through the mid-point between the a's, the atom C, and the mid-point between the b's.

As an example, we may take the spiro-hydantoin *(31)*, treated in Paper II, as we now know, incorrectly, on the basis of axial chirality. Its chiral centre, the spiro-atom, has, as its next neighbours, two equivalent nitrogen atoms, and two equivalent carbon atoms; and the specification of its chirality provides a further application of the general principle, illustrated in Paper II, that when a choice has to be made between equivalents for the leading place in a sequence, the choice is immaterial, provided that, once made, its consequences are followed through. Here we may take, as first member of the sequence, either of the next-neighbour nitrogen atoms, say, a_1. The first consequence of this choice is that the other next-neighbour nitrogen atom, a_2, must constitute the second member of the sequence. Of the next-neighbour carbon atoms, that which occupies the same ring as the most preferred nitrogen atom will take the third place. It will be b_1. The reason is that exploration from it, outwards and round the ring, will lead to the more preferred nitrogen atom, a_1, whereas the comparison exploration from the other next-neighbour carbon atom, b_2, round the other ring will similarly lead to the less preferred atom, a_2, of the next-neighbour


(31)


(32)


(33)

The elaboration would consist simply in showing the atom-pairs used in applying Sub-rule (3) or (4), or the atoms used in applying Sub-rule (5), by means of a superscript associated with the final symbol of chirality; but we suggest using Greek letters, rather than numbers, for outward-enumeration of the stereochemically compared groups, in order to avoid confusion with nomenclatural enumeration in the model as a whole. In one of the pairs mentioned above, of cyclodecanedecaols *(30a)* and *(30b)*, the symbols for the asymmetric atoms, based on Sub-rule (3), are elaborated as described, whilst the symbols for the pseudo-asymmetric atoms, based on Sub-rule (5), require no elaboration.

nitrogen atoms. The sequence is thus completed, and it shows that the model represented at *(31)* is an *S*-enantiomer.

The third of the symmetry classes into which a chiral centre may fall contains one three-fold axis as its only symmetry (class C_3). An illustration can be derived from achiral Caaab by connecting the a's in cyclic sequence with three like bridges that have no transverse symmetry-plane. This gives, to each ligand a, identical differences of relationship with other a's. It destroys the previous three planes of symmetry, but retains the three-fold axis. The hexahydrophenalene *(32)* will serve as an example. Its chiral centre, the carbon atom common to its three rings, may be assigned its symbol of chirality by the method just illustrated. Any of its three, equivalent, next-neighbours, say, a_1, may be placed first in sequence. The second will be that other one, a_2, from which outward exploration, along the route of highest precedence, that is, starting with a double bond, leads the more directly to it. The model shown is an *S*-enantiomer.

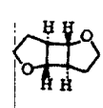
The fourth symmetry class available to a chiral centre has three two-fold axes of symmetry (class V). The case can be derived from tetrahedral Caaaa be connecting the a's cyclicly as in *(33)*, with four bridges of two kinds introduced alternately, each bridge having a transverse plane of symmetry. In the resulting double spiran, the original six planes of symmetry, and the four three-fold axes of symmetry, are destroyed, and only the three two-fold axes remain. The chirality of the central atom is specified as in the preceding examples. Any of its four, equivalent, next-neighbour atoms may be placed first in sequence, and then that which shares the five-ring with it will come second, and that which does not share a ring with it will come third. The model represented is in the *R*-configuration.

We may consider the relation of a tetrahedral atom to higher symmetry classes, in particular, to the class of highest chiral symmetry within the scope of quadriligancy, *viz.* the class T, which is characterised by four three-fold and three two-fold rotational axes of symmetry. It is possible to build a molecule of symmetry T round a tetrahedral atom by bridging in pairs with six like bridges four like tetrahedral atoms directly bound to it, each bridge containing a plane of chirality which destroys planes of symmetry, but preserves a two-fold rotational axis between the atoms bridged. The bridges might, for example, be *trans*-olefinic, of the form $-(CH_2)_n-CR{=}CR-(CH_2)_n-$. The chiralities of the chiral planes being alike, the four three-fold axes of rotation will be preserved, and hence the overall symmetry will be T. But no symbol of chirality can be assigned to the central atom, and the chirality of the structure derives from its outer planes of chirality. We have here described a chiral envelope, and we shall describe and illustrate the simpler case of a chiral girdle in Sub-section 2.7.

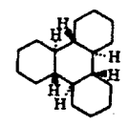
A further problem in the detailed method of designating the chirality of chiral centres in the presence of rotational axes of symmetry arises when such axes inter-relate *equivalent chiral centres* [*]. It may then happen that outward exploration of two ligands belonging to one centre, along routes of highest precedence, will lead, without producing on the way any distinction useful for ordering, for one ligand, back to the original chiral centre, and, for the other, to its symmetry-equivalent. When that happens, we give precedence to the ligand which has not led back to the original chiral centre. The situation is highly specialised, but it needs, in extension of the Sequence Rule, a Rule for Equivalent Centres, as follows:

> Rule for Equivalent Centres. *Of two ligands at a chiral centre, whose only distinction is that, on exploration under the Sequence Rule, one leads to the original centre whilst the other leads to an equivalent centre, the latter takes precedence in the sequence of ligands.*

An example, belonging to the C_2 symmetry class, is furnished by structure *(34)*. The stereochemistry of these compounds has been discussed [12]. The inner ring consists of two pairs of equivalent chiral centres, and in formula *(34)* all are in *R*-form. Specifying the chirality of any of them involves giving that one of its ligands, which starts with CH in the same hetero-ring, lower precedence than that which starts with the other CH. This order follows from our preference, when a distinction depends on it, for a route which, in the comparative exploration, does not return to the original chiral centre.



(34)



(35)

An example of higher symmetry is provided by the *trans*-perhydrotriphenylene *(35)*. It belongs to the class D_3, having one three-fold and three two-fold rotational axes of symmetry. The central ring consists of six equivalent chiral centres, which, as here illustrated, are all in *R*-form. The process of specifying any of them is as in the previous example. It may be worth noting that, in both examples, exploratory routes of highest precedence (leading round the central ring in opposite ways) yield no distinction, wherefore, at the first branching point, exploration is continued along the routes next in precedence (which lead round the separate lateral rings).

2.6. Axial Chirality: Scope, Procedure, and Symmetry

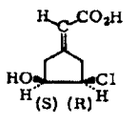
We mentioned in Sub-section 1.5 the derivation of axial chirality by the giving of one dimension to an original chiral centre. We referred also to the five main areas of application of the concept of axial chirality, namely, to allenes, alkylidenecycloalkanes, spirans, biaryls, and

[*] A similar problem arises in infinite regular polymers, when such equivalence is produced by a translation, without or with rotation.

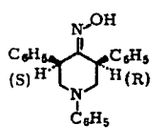
[12] *M. Farina* and *G. Bressan*, Makromolekulare Chem. *61*, 79 (1963); *G. Natta* and *M. Farina*, Tetrahedron Letters *1963*, 703; *M. Farina*, *ibid. 1963*, 2097.

adamantoids, along with their respective isomorphs. In these areas, the axis of chirality is derived by desymmetrization from a four-fold alternating axis of symmetry: that is its fundamental property. To mention the chemical classes which provide examples of axial chirality is not, of course, to suggest laying aside the Factorisation Rule, in accordance with which the chirality of many alkylidenecycloalkanes and spirans, for example, will be fully specified in terms of chiral atoms, without requiring recourse to an axis of chirality.

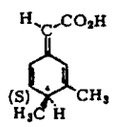
Discussion has shown[6] that our original statement in Paper II on the *scope of axial chirality* needs amplification with respect to certain special types of case. Thus, the alkylidenecycloalkane and piperidone oxime, shown at *(36)* and *(37)*, do not fall within the scope of axial chirality, though they might, perhaps, have been thought to do so. The reason that they do not is that, when the chiral centres in the rings have been assigned, the remaining matter is purely one of geometrical isomerism, outside the province of the sequence rule. Once the rules for assigning the *cis* and *trans* labels have been determined, the stereochemical specifications can be finished. (In the meantime, the exocyclic double bonds might provisionally be labelled *seqcis* in the forms here represented.) Example *(38)* also has nothing to do with axial chirality; for C-4 is an asymmetric carbon atom, and the description of the exocyclic double bond, as *cis* or *trans*, is out of our hands.



(36)



(37)



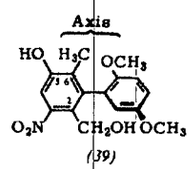
(38)

The other matter of scope concerns the chiral spirans. It is understood that spirans are a chemical class, and not a chirality class, and that therefore they can extend into more than one chirality class (Sub-section 1.3). They may exhibit either central or axial chirality, and in either case may either be asymmetric or possess rotational axes of symmetry. Examples *(31)* and *(33)* illustrate centrally chiral spirans with symmetry C_2 and V, respectively. Formula *(4)* on p. 388 represents an axially chiral spiran without symmetry. But by replacing the end-groups cd by ab, it could be given symmetry C_2, without losing its axially chiral character.

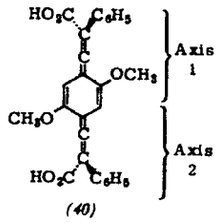
A *change of procedure* is now proposed in the choice for ordering of groups about an axis, when more groups are present than are needed for the specification of chirality. The first atom of each such group must be an atom bound directly to the chiral axis; but there are, for instance, four such atoms (the carbon atoms 2,3,5, and 6) in each ring of a biphenyl compound, whereas we need no more than two in each ring.

Sub-rule (0) has to be taken into account. It prescribes that groups about the near end of an axis take precedence over groups about the far end. It never matters which end is taken as the near end, provided that the choice, once made, is adhered to. In Paper II, we had this sub-rule in mind when proposing that the nearest and furthest pairs of groups should be chosen. It now would seem more convenient if, on the contrary, we take the extended tetrahedron *(1)* (p. 388) as defined by the pairs nearest together of groups that lie one pair on each of the planes that intersect along the axis.

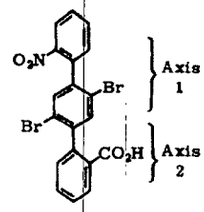
The arguments for doing this, due entirely to Prof. *Richter* and Dr. *Weissbach*, are (a) that the fiducial groups are then more often those most intimately concerned in producing the chirality, especially in the biaryl series where choice is most often necessary; and (b) that by giving chiral axes a minimum effective range, we can deal more easily with molecules containing several. These points are shown in the examples *(39)–(42)*, in each of which the chiral descriptions would be changed by allowing the axis or axes more than minimal effective lengths, whilst in two cases an overlapping of axes would result. In example *(42)*, we have, beyond the effective axis, a geometrical configuration requiring to be specified as *cis* or *trans*, when the methods for doing so are provided.



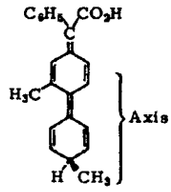
(39)



(40)



(41)



(42)

It should be noted that, when ordering groups, which necessarily start with first off-axis atoms, for instance, with the 2- and 6-carbon atoms of one ring in a biphenyl, we allow exploration over the whole molecule. It follows that the order of the 2- and 6-atoms is not always determined solely by the 2- and 6-side-chains. Example *(39)* has been chosen to illustrate the point. Here, the methyl-bearing carbon atom derives precedence over the methylol-bearing one by virtue of an exploration from the former through the carbon atom which bears the phenolic hydroxyl group.

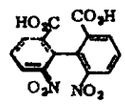
The Selection Rule for Axial Chirality, which defines the groups that are to be taken as fiducial, is as follows:

> Selection Rule for Axial Chirality. *The fiducial groups shall be the pairs nearest together of groups, directly bonded to atoms on the axis, that lie one pair in each of the planes of atoms that intersect along the axis.*

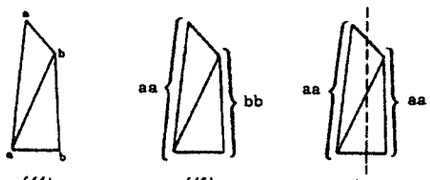
This revised procedure changes one of the axial assignments in Paper II, that of the formula there numbered (LXXIV), which would now be described as an

S-enantiomer. The new procedure does not change any of the designations tabulated by *Mislow*[13] of known absolute configurations in the biaryl series.

The illustrations of axial chirality given in Paper II, and here up to this point, have been random as to *symmetry classification*, with the result that one symmetry class is not yet illustrated. Within the limit of atomic quadriligancy, axial chirality can be found in three symmetry classes. The first (C_1 in Schoenflies symbols), represented in a general form by *(1)* on p. 388, and illustrated by *(39)*, has no symmetry. The second (class C_2), represented by *(44)*, and exemplified by *(43)*, has one two-fold axis. The third (class V), which we now want to consider, has three two-fold axes.



(43)



(44) *(45)* *(46)*

Starting from *(44)*, we can develop the more highly symmetrical form of axial chirality, by connecting like groups with bridges having transverse planes of symmetry as in *(45)*. This only adds a stereochemical distinction to the constitutional one between the members of either a,b-pair, and hence it does not change the symmetry (C_2). We can now abolish the constitutional distinction, as in *(46)*, and, because the stereochemical distinction is here preserved, chirality is retained. But the new structure contains three two-fold rotational axes (symmetry V). Naturally, one of these, the axis of chirality (marked), remains unique, as the only four-fold alternating axis when the stereochemical distinction, on which chirality depends, is destroyed by opening the aa-rings into four independent a-groups. The other axes become indistinguishable, as they should, as completely equivalent two-fold rotational axes.

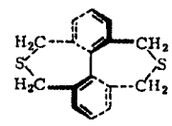
It is easy to allot a symbol of chirality to *(46)*, as follows. The ends of the chiral axis are alike, but we know (Paper II) that it is immaterial which end we select as the "near" end when applying Sub-rule (0). Again, as illustrated several times in Sub-section 2.5, it is immaterial which of two equivalent atoms, in this case the two a-atoms of the selected near end, we choose as first in sequence. The other a-atom of the near end will be second, and that a-atom of the far end, from which exploration round the ring would lead to the first atom of the sequence, will come third. Structure *(46)* has the *R*-configuration.

[13] *K. Mislow*, Angew. Chem. *70*, 683 (1958).

A simple molecule having the symmetry of *(46)* is the bicyclic allene, whose *R*-enantiomer is shown at *(47)*. The first optically active compound of symmetry V to be prepared is the biaryl bis-sulphide, the *R*-form of which is shown at *(48)*. *Mislow* and *Glass*[14] obtained this compound, the *R*-enantiomer of which had $[\alpha]_D^{26} = +415°$.



(47)



(48)

An axis may be pseudo-asymmetric. If one of the ligand-pairs ab in structure *(44)* consisted of *R* and *S* modifications of the same substituent, we should expect two diastereoisomers, which would both be optically inactive, because each molecule now has a plane of symmetry. We should distinguish them by the lowercase symbols, *r* and *s*.

2.7. Planar Chirality: Procedure and Symmetry

A procedure for the specification of planar chirality was proposed in Paper II. We now wish to modify the method in a way that allows it to be prescribed more closely.

The first step is the selection of a plane of chirality, which must be derived by desymmetrisation of a plane of symmetry; but this easily satisfied geometrical condition may leave open various possibilities. In Paper II it was considered convenient to choose a plane containing as many atoms as possible; and in the illustrations there presented, atoms were brought on to the chiral plane by deformations giving structures which could be quite unlike the natural ones. The first change we would now make is to disallow such drastic formalism, and to employ only natural planes of atoms (with at most minor idealisation) as in systems of unsaturated, including conjugated unsaturated, and aromatic atoms, and the atoms directly bound to such systems. When a structure contains several chiral planes as thus defined, it is obviously necessary, at least in so far as the planes are non-equivalent, that the chiral description of each should indicate the plane to which it refers. Such non-equivalent planes may be stereospecifically unlinked or linked; but even if they are linked, in the sense that the chirality of one determines that of all, we consider that it would render interpretation easier and less liable to error, to specify them all.

The second step, which we do not modify, is to identify a preferred side of the plane, a "nearer" side under Subrule (0) of the Sequence Rule, that is, the side containing the locus from which observation of the model is made in applying the Chirality Rule, which requires remoteness of the locus from the lower precedences of the "further" side. This preferred side is identified by

[14] *K. Mislow* and *M. A. W. Glass*, J. Amer. chem. Soc. *83*, 2780 (1961); *Idem*, *H. B. Hopps*, *E. Simon*, and *G. A. Wahl*, *Jr.*, *ibid. 86*, 1710 (1964).

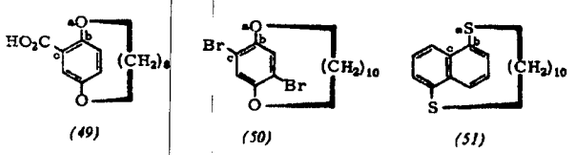
finding, among atoms of the set directly bound to the atoms of the plane, that which is most preferred by the Standard Sub-rules (1)–(5). In making the determinative comparisons, each atom is considered in the environment of the whole molecule, not merely in that of the set, or the relevant side of the chiral plane. The most preferred atom of the set directly bound to the plane, the leading atom or "pilot" atom, as we may call it, marks the preferred side of the plane. We call it the "pilot" atom, because of its function in the step next to be considered.

This third step is to develop the chirality-specifying sequence. And here we propose another departure from our previous procedure: instead of developing the sequence adjacently to the chiral plane, we develop it in the plane. So we pass from the already identified, off-plane, pilot atom to the in-plane atom to which it is directly bound, or, if there are several such, to that preferred by the Standard Sub-rules. This atom is now identified as the first atom of the inplane sequence, the atom of highest precedence in the pattern to which the Chirality Rule will be applied. The second atom in the sequence is that one of the in-plane atoms directly bound to it, which is most preferred by the Standard Sub-rules. The third in sequence is that atom (other than the first) directly bound to the second, which is most preferred by the same Sub-rules. As the sequence is to be continued until the Chirality Rule can be applied, a condition that might sometimes necessitate development of the sequence to more than three atoms (for instance, if linear acetylenic systems had to be passed through), we must add to the above the general prescription that the *n*th atom in sequence is that (other than the *n*-2nd) directly bound to the *n*-1st, which is most preferred by the Sub-rules. In making these comparisons by means of the Standard Sub-rules, we take the whole molecule, and not the plane only, as the relevant environment of each atom considered. We had an off-plane locus from which to observe the chiral plane, and now we have an in-plane sequence of the necessary number, three or more, of atoms to observe from the locus. We are accordingly in a position to apply the Chirality Rule.

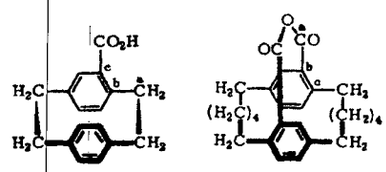
We summarise this procedure in the following Selection Rule for Planar Chirality, which defines the atoms that are to be taken as fiducial:

> Selection Rule for Planar Chirality. *Of atoms directly bound to atoms in the plane, that most preferred by the Standard Sub-rules, the pilot atom, marks the side of the plane from which, under the Chirality Rule, an in-plane sequence is observed; and the sequence starts with the in-plane atom directly bound to the pilot atom, and continues, to and through other atoms, by way of a succession of bonds along that in-plane path, which at each branch leads to the atom more preferred by the Standard Sub-rules.*

This change of method does change several assignments of chirality in Paper II (but none by other authors). *Lüttringhaus* and *Gralheer*'s quinol and naphthalene-1,5-dithiol polymethylene ethers, examples (LXXIX), (LXXX), and (LXXXIII) of Paper II, are shown at *(49)–(51)*, in what we must now call *R*-form. In each, the aromatic plane is taken as the chiral plane, and the in-plane sequence is marked a, b, c. In two of the examples, two equivalent sequences may be found: they give the same chiral specification. *Cram*'s cyclophane-type acid and anhydride, examples (LXXXV) and (LXXXVI) of Paper II, are shown at *(52)* and *(53)*, in *R*- and *S*-form, respectively, when aromatic planes are taken as chiral planes. The in-plane sequences are as marked. The reason for the change of label between the acid and anhydride is that the pilot atom in the former is a methylene-carbon atom, whereas in the latter it is an anhydride-oxygen atom. In the anhydride, two equivalent chiral planes are present.



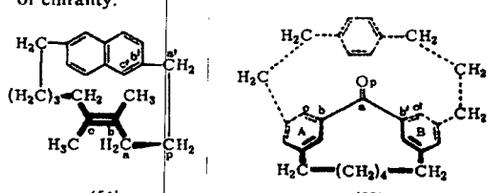
(49) *(50)* *(51)*



(52) *(53)*

In the acid and anhydride depicted at *(8)* and *(9)* on p. 389, the aromatic planes constitute two non-equivalent chiral planes. The acid is in *R*-form with respect to the plane of the unbrominated benzene ring, and in *S*-form with respect to that of the brominated ring. In the anhydride these labels become reversed, for the reason just explained in another example. Obviously, the descriptions of chirality must show (for example, by numbering) to which planes they respectively refer.

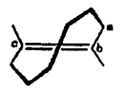
Two further examples (as yet unrealised) will illustrate how two chiral planes may have a common pilot atom, and even a common atom among their in-plane sequences. Structure *(54)* has an ethylene plane and a naphthalene plane, and the carbon marked p is pilot for both. The marked sequences show that the model is *R* about the ethylene plane and *S* about the naphthalene plane. In structure *(55)* the benzenoid planes A and B are twisted from the plane abb′ about the lines ab and ab′, respectively; and so the carbonyl-oxygen, p, is off both planes, and is pilot to both; whilst the carbonyl-carbon, a, is the common first atom of the two in-plane sequences. The model is thus *R* about plane A, and *S* about plane B. Again one sees the need to attach indications of location to these descriptions of chirality.



(54) *(55)*

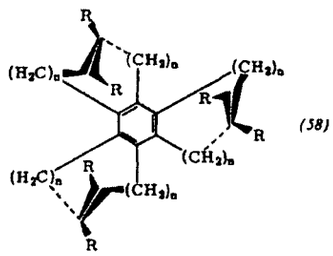
The *trans*-cyclo-olefins offer examples of planar chirality. Some compounds of this type have been optically resolved by Cope and his co-workers, who for *trans*-cyclo-octene itself have determined the absolute configurations of the enantiomers [15]. The double-bonded carbon atoms, and the four atoms bound to them, now provide the plane of chirality. There are two equivalent in-plane sequences, one of them marked a, b, c in *(56)*, and it follows from either that the *R*-enantiomer is being represented. Two of the three atoms in either in-plane sequence are equivalent.

(56)





(57)

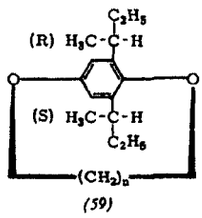


(58)

We conclude this sub-section with some remarks on the *symmetry classes* allowed in planar chirality. The examples already mentioned fall into two classes. Examples *(8)* and *(9)* on p. 389, and *(49)* and *(52)* above, have no symmetry (class C_1). Examples *(50)*, *(51)*, *(53)*, and *(56)* have one two-fold axis of rotation (C_2). The next higher class would have three two-fold axes of rotation (V). No case of such has yet been demonstrated, but a possible case would be furnished by a bis-(*trans*-polymethylene)ethylene, such as *(57)*. Again, the double-bonded atoms and the atoms bound to them define the chiral plane. There are now four equivalent off-plane atoms, any of which could be chosen as pilot to the corresponding in-plane sequence. Of course, there are four equivalent in-plane sequences. But whichever we work with, the result is the same: our diagram represents the *R*-form. Once again, two atoms of any of the in-plane sequences are equivalent.

We may consider the relation of an atomic plane to higher symmetry classes having chirality. An atomic plane of symmetry D_{2ph} can be made the centre of a chiral molecule of symmetry D_p, characterised by one *p*-fold and *p* two-fold rotational axes of symmetry. We could, for example, build such a molecule round a central benzene ring ($p = 3$), by bridging its three pairs of *ortho*-situated bonds with three independent and completely equivalent bridges, each with a centrally situated plane of chirality in some definite, common, chiral form. Each bridge will destroy the plane of symmetry between the *ortho*-bonds, as well as that containing the bonds, but will preserve the two-fold rotational axis between the bonds. We might employ *trans*-olefin bridges, as in formula *(58)*. The chiralities of their planes being alike, the three-fold axis of rotation of the molecule is preserved, and the molecule has symmetry D_3. It is chiral, but its chirality depends on its girdle of chiral planes, which, however, induce no fixed chirality in the plane of the central ring.

A plane may be pseudo-asymmetric. If the path in the chiral plane turns in a particular sense only because of the distinction between symmetrically placed *R* and *S* varieties of the same group, as in the 2,6-di-s-butylquinol polymethylene ether *(59)*, we should expect two diastereoisomers both optically inactive, because each contains a plane of symmetry. We would distinguish them by the lower-case designations, *r* and *s*.



(59)

2.8. Secondary Structures

This chemical term of structural classification arose with the growth of our knowledge of protein structure. It has never been adequately defined; but it conveys a distinctive idea, which can be generalised. To what extent it will become generalised as chemistry advances, it is not possible to foresee.

The most celebrated example is the hydrogen-bonded α-helical form of polypeptides, first recognised by *Pauling* and *Corey* [16]. It is shown in *(60)*, opened out after making a cut parallel to the helical axis. If this projection is wrapped into a cylinder by joining the points AA, and the points BB, behind the paper, the peptide chain will describe an *M*-helix, whilst, if the junctions are made in front of the paper, the chain will describe a *P*-helix. It has been made very probable, both theoretically [17] and practically [18], that polypeptides derived from L-enantiomers of primary amino-acids favour the *P*-helix. Any such polypeptide has an optical rotation derived partly from the chirality of the primary structural units, and partly from the chirality of the secondary helical form. It has been estimated [19] that the partial rotation due to the *P*-helix of poly-*S*-alanine in chloroform is $[\alpha]_D = +82°$.

[15] *A. C. Cope, C. R. Ganellin,* and *H. W. Johnson, Jr.*, J. Amer. chem. Soc. *84*, 3191 (1962); *Idem, T. V. Van Auken,* and *H. J. S. Winkler, ibid. 85*, 3276 (1963); *A. C. Cope* and *A. S. Mehta, ibid. 86*, 5626 (1964).

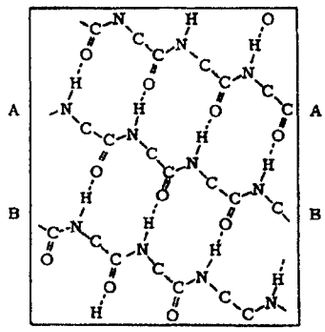
[16] *L. Pauling, R. B. Corey,* and *H. B. Branson*, Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. *37*, 205 (1951); *L. Pauling* and *R. B. Corey, ibid. 37*, 235 (1951); Proc. roy. Soc. (London) B *141*, 21 (1953).

[17] *W. Moffitt*, J. chem. Physics *25*, 467 (1956); Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. *42*, 736 (1956); *W. Moffitt, D. D. Fitts,* and *J. G. Kirkwood, ibid. 43*, 723 (1957); *S. F. Mason*, Nature (London) *199*, 139 (1963).

[18] *A. Elliott* and *B. R. Malcolm*, Proc. roy. Soc. (London) A *249*, 30 (1959); *J. C. Kendrew, R. E. Dickerson, B. E. Strandberg, R. G. Hart, D. R. Davies, D. C. Phillips,* and *V. C. Shore*, Nature (London) *185*, 422 (1960).

[19] *A. R. Downie, A. Elliott, W. E. Hanby,* and *B. R. Malcolm*, Proc. Roy. Soc. (London) A *242*, 325 (1957).

The helicenes, such as those with which axial chirality was illustrated in Paper II, might well, on grounds of obviousness, be treated as secondary structures. In the example shown at *(61)*, the benzene rings form an *M*-helix, and thus the chiral description *M*, as applied to the whole model, is very easily interpreted.



(60)



(61)

The adamantoid series could provide chiral structures, which might conveniently be treated as secondary, inasmuch as their gross structure is as obviously tetrahedral and amenable directly to the Chirality Rule, as that of the helicenes is obviously helical and directly responsive to the Helicity Rule. Although it has not yet been done, it would certainly be possible to substitute the four tertiary hydrogen atoms of adamantane with four different groups, as in *(62)*. The four carbon atoms thus made quaternary would all be asymmetric, and they could, of course, be specified separately with respect to their chirality as asymmetric atoms. But their chiralities are so interlinked that they can collectively produce only one pair of enantiomers. And so it would seem more convenient to specify their chirality, and hence that of the structure, collectively, by reference to a centre of chirality taken at the unoccupied centroid of the adamantane frame.



(62)

A still simpler chirally central, secondary structure would be furnished by the tetrahedral X_4 unit, well-known in inorganic chemistry, though not yet known in chiral form.

Catenanes are necessarily handled as secondary structures. The secondary chirality of any pair of interlinked rings may be described by selecting the most preferred and the next most preferred atoms, a and b respectively, of one ring, and the most preferred and next most preferred atoms, c and d, respectively, of the other ring, arranging the atom-pairs ab and cd as remotely from each other as possible, and then fitting them to the tetrahedron *(1)* on p. 388. If the pairs ab and cd are identical, we may use the tetrahedron *(44)* on p. 400.

In either case, the Standard Sub-rules and the Chirality Rule are applied as for axial chirality [*].

3. Chirality to Ligancy Four: Nomenclature Problems

3.1. Specification of Chirality in Names

The specification of the chirality of a compound by the sequence-rule procedure is rigidly defined by the space-model. No such rigid procedure can be applied for adding symbols of chirality to the name of a compound, since that name may vary according to which of the various permissible systems of nomenclature is used, the purpose which the name serves, or linguistic characteristics.

In Paper II we recommended that the symbols of chirality be placed in front of the otherwise complete name, in parentheses, accompanied by any necessary indications of location, as, for instance, in (*R*)-2-methylpentan-1-ol, (2*S*,4*R*)-4-hydroxyproline, or (*S*)-methyl lactate. Partly owing to experience at the Beilstein Institute, for an account of which again we are indebted to the late Professor *F. Richter*, it now seems that this simple direction needs expansion or modification in various circumstances.

As a simple variant, of complete generality, it is immaterial if, for convenience in an index or for some linguistic reason, the symbols are written after the name, as in 4-hydroxyproline-(2*S*,4*R*). We adhere, however, to our view that these symbols of chirality should not normally be inserted in the interior of a name, for reasons given in Paper II (nevertheless see below, especially Sub-section 3.3).

In the remainder of this Section, we deal with five types of case, attempting to show by examples where general types of variation may be required; but one set of these cases, that discussed in Sub-section 3.4, needs some further preliminary remark.

We shall consider in Sub-section 3.4 how far it is necessary or desirable separately to include in a name the specifications of chirality for all the chiral elements present, in particular, the centres of chirality. Obviously, one must include them all when they could be independently inverted, as, *e.g.*, could those of (2*S*,4*R*)-4-hydroxyproline. However, structures exist in which such independent inversion is impossible, as, *e.g.* in camphor, which, despite its two chiral centres, has only two possible configurations, *viz.* 1*S*,4*S* and 1*R*,4*R*.

The routine of specifying all such stereospecifically linked chiral centres (at least if non-equivalent and non-enantiomeric) was established in Paper II. We favour a similar principle of individual treatment for chiral elements generally, because the resulting descriptions can be checked against one another, so providing more

[*] This is the central point in part of a paper by *S. J. Tauber* [20], to which the reader is referred for much interesting detail and development.

[20] *S. J. Tauber*, J. Res. nat. Bur. Standards 67 A, 591 (1963).

security against error; and furthermore, because we then have no need of any general rules to determine which of a stereospecifically linked assembly of chiral elements should be treated as titular for the assembly. This is a broad guiding principle, one to be applied reasonably. Cases will arise, for instance, among adamantoids and among ferrocenes, in which the inconvenience of specifying the chirality of every one of a considerable number of linked chiral elements will provide a dominating argument for not doing so. When linked chiral elements are equivalent or enantiomeric, it will usually be easy to decide (and will largely depend on whether other chiral elements are present) what elisions or condensations of chiral symbols can be made without risk of obscurity.

Against this general background, we have to recognize the important opportunities for simplifying the notation of chirality, which arise when some part of the name of a compound defines the relative configurations of a number of its chiral centres. How advantage may be taken of these opportunities is discussed in Sub-section 3.4.

3.2. Mixtures of Stereoisomers

The sequence rule has to analyse and specify some definite structure, and hence it must deal with one structure at a time. A racemate is a mixture of two structures – even when they do pack into the same crystal. But such a mixture is handled and described often enough to make it advisable to apply to it a single name, as though it were a compound in the molecular sense, and not only, at most, in the phase-rule sense.

When there is only one element of chirality, so that only one racemate can be formed, this may be designated (±), or, when appropriate, DL, or, in sequence-rule symbolism, (*RS*). We adopt here this alphabetical order *RS* as normal for the components of the composite symbol, in order that special significance may attach to its inversion to *SR*, as noted below.

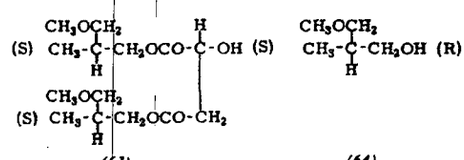
When in a component of a racemate there is more than one element of chirality, the one cited first (normally that which is located by the lowest number) is written *RS*, and the remainder are written as *RS* or *SR* in such a way that the first letter of each pair is associated with *R* of the first-cited pair and the second with *S* of the first-cited pair. For example, the racemate composed from (2*R*,3*S*)- and (2*S*,3*R*)-3-chlorobutan-2-ol would be designated (2*RS*,3*SR*)-; the other racemate would be designated (2*RS*,3*RS*)-.

Mixtures, which are racemic with respect to some centres but optically active with respect to others, could, if necessary, be named by simple extension of this method. A not uncommon case is that of the "failed resolution", involving, for example, an unseparated mixture of the salts (*R*)-base (*R*)-acid and (*R*)-base (*S*)-acid. The obvious course is to name this as (*R*)-base (*RS*)-acid.

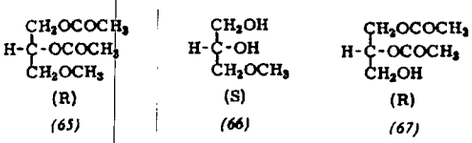
3.3. Broken Numbering

Collection of *R*,*S* symbols in front of a complete name is possible only when each can be unambiguously located. Ambiguity arises when the numbering of the complete name involves independent sets of numerals; such "broken numbering" is not infrequent, as many esters, amines, and compounds with side-chains present this feature.

It may then become necessary to place each stereochemical symbol next to its appropriate partial name, as in (*R*)-s-butyl (*S*)-lactate, or in (*R*)-α-methylbenzyl-(*S*)-β-methylphenethylamine. However, it cannot be too strongly emphasised that *R*,*S* symbols invariably refer to the whole molecule, not to any component parts *per se*. It is equally fundamental that *R*,*S* symbols do not refer to any actual or supposed chemical precursors; for example, the compound *(63)* is bis-(*S*)-3-methoxy-2-methylpropyl (*S*)-malate, even though it is the ester of the (*R*)-alcohol *(64)* and (*S*)-malic acid. Obviously this principle applies equally when the complication of broken numbering is absent: a simple case is (*R*)-glycerol 1,2-diacetate 3-methyl ether *(65)*, which has the label *R*, whether it be made from (*S*)-glycerol 1-methyl ether *(66)* or (*R*)-glycerol 1,2-diacetate *(67)*. A group can have an *R* or *S*, not in its own right, but only in the particular compound to which that symbol is assigned.



(63) *(64)*



(65) *(66)* *(67)*

3.4. Chirality Symbols in Trivial Names that Specify Configurations

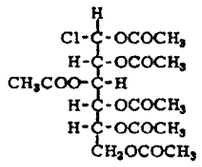
It was argued, particularly in Paper II, that a general system such as the present one need not displace a satisfactory "local" system within its own field. We suggest, however, that the general system may helpfully be "mixed" with a local system when the field of application of the latter is exceeded. It seems desirable now to illustrate how this mixing may be done, by examples that we shall choose from three of the widest local systems.

3.4.1. Carbohydrates

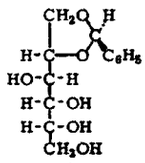
In a name such as methyl α-D-glucopyranoside, the prefix α and the syllable "gluc" jointly specify the relative configurations at positions 1, 2, 3, 4, and 5; the prefix D denotes a genetic relation at position 5 to

(+)-glyceraldehyde; and now our later-acquired knowledge of the absolute configuration of (+)-glyceraldehyde allows us also to specify absolute configurations on the basis of a name such as methyl α-D-glucopyranoside. Thus, unless it is desired to tie this stereochemistry to a general system, by writing, for instance, (1*S*,5*R*)-methyl glucopyranoside, the customary name suffices.

When, however, the limits of the local system are exceeded, as they are, for example, in compounds *(68)* and *(69)*, then to mix-in the sequence-rule system provides simple descriptions: compound *(68)* becomes (1*R*)-1-chloro-D-glucitol hexa-acetate, and compound *(69)* becomes (*R*)-1,2-*O*-benzylidene-D-glucitol.



(68)



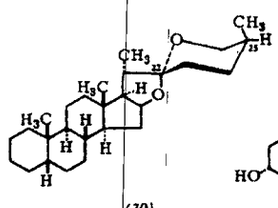
(69)

3.4.2. Inositols

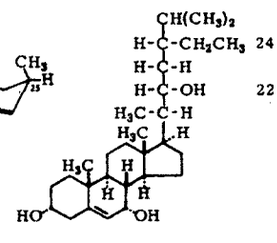
Optically active inositols are commonly distinguished from one another, either by use of prefixes denoting the relative stereochemistry of the ring atoms, or by a numerical device. As long as these practices give satisfaction, it is unnecessary to displace them by sequence-rule procedures. Absolute configurations of optically active compounds may be conveniently denoted by mixing-in the *R* or *S* symbol, as in the name (4*R*)-inositol for the laevorotatory compound (XLVIII) (p. 396). Mixing-in has wider scope in the name of an optically active compound derived from a cyclitol that is itself inactive. This was in fact done by *Angyal* and *Gilham*[21] when they named compound *(28)* (p. 397) (1*R*)-1-*O*-methylmyoinositol, a name entirely in consonance with the principles here advocated. We accept the general proposals by *Angyal* and *Gilham* for mixing in this field.

3.4.3. Steroids

For steroids, a small number of trivial names, and the symbols α and β, were originally used to denote relative configuration, and were coupled with an arbitrary method of writing the formulae. Here too, later knowledge showed that the arbitrary choice coincided with absolute configuration; and the trivial names and the prefixes α and β are commonly used now with an absolute connotation, and are well understood. Among steroids in particular, the relative stereochemistry of various parts of the molecule is of great importance for the chemical, physical, and pharmacological properties of the substances; so here it is particularly desirable to retain the simple local system in so far as it is unambiguous. It can certainly be retained for groups singly attached to the main tetracyclic ring system A–D. Where, however, spiro or other rings are attached, whose planes deviate strongly from the planes of the main system, the limits of the local system of trivial names and simple α and β symbols are exceeded. In these circumstances, to mix-in the sequence-rule system can be of value; and the chirality at positions in such attached rings, including the spiro atom itself, may well be expressed by sequence-rule symbols. Further, similar mixing-in may be appropriate for chirality in an open side-chain. This paper is not the place to discuss the merits of the various proposed systems in detail[22]; it will suffice to illustrate the mixing by reference to two compounds *(70)* and *(71)* selected from *Mueller* and *Pettit*'s paper. Compound *(70)* may be named (25*S*)-5β-spirostan or (22*R*,25*S*)-5β-spirostan, according to whether it is decided that the name spirostan by itself does or does not specify the stereochemistry at position 22 (a matter still under debate by specialists)[22]; and compound *(71)* may be termed (22*S*,24*R*)-stigmast-5-ene-3α,7α,22-triol.



(70)



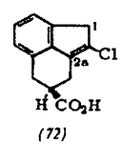
(71)

3.5. Molecules of Uncertain Structure

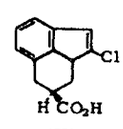
When there is uncertainty about the structure of a molecular model, a similar uncertainty may attach to the sequence-rule symbol to be applied. For example, prototropic substances present this problem: it may be necessary to specify chirality completely for a prototropic substance in spite of the structural uncertainty.

This must be done by choosing one of the possible structures – any convenient one. Often the choice will be self-evident, as for carbazole or fluorene; in other cases it must be indicated in the name chosen, *e.g.* 1-phenylazo-2-naphthol or 1,2-naphthoquinone 1-(phenylhydrazone), or again in the numbering chosen, *e.g.* 4-chloroimidazole or 5-chloroimidazole.

In practice it will be very rare that the different prototropic structures require different chiral symbols. If, however, such cases do arise, all that is needed is that the chiral symbol fits the name adopted. Thus, if one



(72)



(73)

[21] *S. J. Angyal* and *P. T. Gilham*, J. chem. Soc. (London) *1957*, 3691.

[22] International Union of Pure and Applied Chemistry, Information Bulletin No. 11, 50 (1960); *L. F. Fieser* and *M. Fieser*, Tetrahedron *8*, 360 (1960); *G. P. Mueller* and *G. R. Pettit*, Experientia *18*, 404 (1962).

were in doubt between structures *(72)* and *(73)*, one might arbitrarily select *(72)* and give its name as (4*S*)-2-chloro - 1,3,4,5 - tetrahydroacenaphthylene - 4 - carboxylic acid, or select *(73)* and give its name as (4*R*)-2-chloro-2a,3,4,5-tetrahydroacenaphthylene-4-carboxylic acid.

3.6. Specification of Axial, Planar, and Secondary Structural Chirality

It will often be desirable, for the sake of clarity, to indicate which type of chiral element, a centre, axis, or plane, is being specified as *R* or *S*. As axial and planar elements of chirality are less commonly used than are asymmetric atoms, we suggest that, when the symbols *R* and *S* apply to axes or planes of chirality, a signal to that effect should be associated with the symbols. We propose to add italic letters *a* (for axial) and *p* (for planar) immediately before the corresponding *R*'s and *S*'s, or *r*'s and *s*'s.

Whilst this would not be essential in simple cases such as (*aR*)-6,6'-dinitrodiphenic acid *(43)* (p. 400) it may be that a name such as (*aR*, α*R*, α'*R*)-6,6'-dilactoyldiphenic acid would be clearer than without the *a*; and it would be clearer still if written as (*aR*)-6,6'-di-(*R*)-lactoyldiphenic acid. In describing the quinol polymethylene ether *(59)* (p. 402), the symbol *pr* would bring out the distinctive character of the form of stereoisomerism being specified.

If a structure contains more than one chiral axis or plane, it is necessary when they are not stereospecifically linked, and in our view desirable in general when they are thus linked, separately to specify the chirality of each (cf. Sub-section 3.1). In every case one must identify the chiral element with its description, as by attaching some locating numbers or letters to the symbols *a* and *p*, in a form such as *x*,*y*-*aR*, where *x* and *y* locate the axis *a*.

The helicene *(61)* (p. 403) can be treated as a secondary structure; but it contains, and could be specified through, its two, stereospecifically linked, non-equivalent, chiral axes, both duplicated by the symmetry (C_2) of the structure. The model shown is *R* about the more interior, and *S* about the more exterior, biaryl axes. Formulae *(40)* and *(41)* (p. 399) illustrate structures with two chiral axes, which are not stereospecifically linked; this means that stereoisomers are possible in which the chirality of one axis only is reversed. It is obviously necessary in these cases to specify the chirality about each axis, even though in *(40)* the symmetry (C_2) of the structure renders the two equivalent. Formulae *(8)* and *(9)* (p. 389) and formulae *(54)* and *(55)* (p. 401) illustrate structures with non-equivalent chiral planes. As explained already, we consider it desirable to specify chirality about each plane separately, and to associate plane-identifying numerals with each chiral specification.

The assignment to secondary structures of chiralities *R* and *S* or *M* and *P* is again a circumstance which we think should be signalised in the notation; and so we propose to introduce for this purpose the prefix *sec*, to be placed, like *a* or *p*, immediately before the chiral symbol, as in *secR* or *secM*. The adamantoid enantiomers *(62)* (p. 403) would be designated *secR* and *secS*. The helicene enantiomer shown at *(61)* (p. 403) would be termed *secM*. Catenanes are secondary structures with axial chirality, but it would probably be sufficient to describe them as *secR* or *secS*.

4. Conformational Chirality to Ligancy Four

4.1. Basis of Treatment

The description of molecular conformations can be treated, according to a proposal by *Klyne* and one of us [7], in terms of partial conformations about the individual single bonds. One can thus specify, for a single bond between quadriligant atoms, the spatial relations between the two sets of up to three groups thereto bound. A fiducial group is chosen from each set by means of the following Conformational Selection Rules, and then the smallest torsion angle between the two fiducial groups will specify the conformation:

(A) *If all the groups of a set are different, the group most preferred by the Standard Sequence Sub-rules (p. 391) is fiducial.*

(B) *If an identity among the groups of a set leaves one group unique, the unique one is fiducial.*

(C) *If all the groups of a set are identical, that which provides the smallest torsion angle is fiducial.*

If the magnitude of the angle is only approximately known, semiquantitative terms (or their abbreviations), namely, synperiplanar (*sp*), synclinal (*sc*), anticlinal (*ac*), and antiperiplanar (*ap*), are used to describe conformations whose torsion angles are within ±30° of 0°, ±60°, ±120°, and 180°, respectively.

This system embodies the concept of a Conformational Helix, which may be defined as follows:

> Conformational Helix. *The single bond about which conformation is to be specified is made the axis, and the smallest torsion angle between the fiducial groups is made to define the pitch and sense of the helix (p.389).*

Right- and left-handed helices, thus defined, correspond to + and − torsion angles, and are designated by the Helicity Rule (p. 391) as *P* ("plus") and *M* ("minus"), respectively. A result of this symbolism is that, if, upon a specification of configuration in terms of *R* and *S*, one wishes to superpose a specification of conformational relations, the two types of description remain clearly distinguished.

Some generalisation is needed to provide for the specification of conformations in their widest possible connotation within the ligancy limit of four. The concept of phantom atoms is useful. They mark non-bonded electron-sites, and thus have their own individual spatial positions relative to neighbouring real atoms. They must therefore be considered, equally with real atoms, among the sets of "groups" from which fiducial groups have to be selected, as described above, for the

purpose of specifying conformation. For example, on account of Conformational Selection Rule (B), the phantom atom is fiducial in the amino-group.

The duplicate representations of atoms by the help of which multiple-bond unsaturation is represented are in a different case. They have no space-positions separate from those of their originals. Hence the only effect of introduced double bonds, whether localised, or blended as, for instance, in aromatic systems, is to create special cases by reducing below maximum the number of spatially distinct off-axis groups about a single bond, whose relative positions determine conformation. The two trios of groups flanking the single bond in the general case may, in the presence of unsaturation, degenerate to a trio and a pair, or to two pairs. The fiducial group of a pair, as of a trio, is to be chosen by the Selection Rules given above.

The introduction of a triple bond can reduce an original trio of groups to a single group. But, except in special circumstances, the latter is on-axis, and hence without conformational interest.

The number of conformational isomers that could be formed by relative rotation about just one single bond cannot be greater than the numbers of those torsional potential-energy hollows that are deep enough to contain total-energy levels. With like off-axis groups on either flank of the bond, the energy hollows will be equivalent. The number of them will be the least common multiple of the numbers of groups in the sets flanking the bond: two sets of three groups each will give three energy hollows, two sets of two will give two, and one set of three and one of two will give six. With inequalities between the groups, the number of energy hollows may rise as far as the product of the numbers of groups in the sets. The energy hollows will, however, tend rapidly to insignificance as their number rises, owing to increasing compensation in the angular variation of individual group-interaction energies. Potential-energy hollows, which are significant for conformational molecular states, very frequently arise because differences among the groups on either flank of the single bond enlarge some energy hollows at the expense of others. Thus, a theoretical maximum of six energy hollows might be represented by either three or two conformationally significant energy hollows, the remainder being reduced out of significance, or even out of existence. A theoretical maximum of three energy hollows may contain only two that are conformationally effective, the third having become either insignificant or non-existent. Of course, the number of significant energy hollows may in some cases be reduced to one; then conformational isomerism disappears. Thus, the most important cases for our considertation are those in which rotation round a single bond produces either three or two conformationally significant energy hollows. Each energy hollow must be deep enough to contain the ground energy-state of a conformational isomer, so protected that it either has been or could conceivably be isolated, or that it either has had or could conceivably have its separate existence proved by physical methods.

Out of these two important basic situations, one involving three, and the other two suitably stable torsional orientations about a single bond, develop all the compound situations, in which the conformational isomers arise from restricted rotation around several single bonds. In the absence of equivalences between such bonds, and in the absence of mutual interference, the number of conformational isomers will be the product of the numbers produced during rotation about the bonds, one at a time. However, these possibly large numbers are commonly much reduced by symmetry-equivalences, and very drastically by mutual interference as in rings.

We shall sometimes, either for convenience or lack of better knowledge, write of energy hollows as though they were symmetrically placed between their flanking barriers, even though it is well understood that intramolecular interactions, or intermolecular forces as in crystals, may render that assumption untrue.

4.2. Conformations Involving Three Torsional Energy Hollows [23]

We may take the 1,2-dihalogenoethanes as prototype examples. They have three conformationally isomeric forms, namely, the two enantiomeric synclinal forms, and the one antiperiplanar form, shown in *(74)–(76)*, where X denotes halogen.

The existence of such isomers [24] is shown, in the first place, by the Raman and infrared spectra of 1,2-dichloro- and 1,2-dibromo-ethane. Each spectrum consists of two superposed spectra, one of which fades as the temperature is reduced, thus indicating isomers of different stabilities in equilibrium. The low-temperature spectra show that the more stable isomers have the



Antiperiplanar *(74)* (M)-Synclinal *(75)* (P)-Synclinal *(76)*

antiperiplanar form. This conclusion is supported by the dipole moments, which fall as the temperature is reduced. The antiperiplanar isomers can be isolated in pure form merely by cooling: the solid substances consist of these pure isomers. From the effects of temperature on the spectra of the gases, it is inferred that the synclinal forms of 1,2-dichloro- and 1,2-dibromo-ethane are less stable by 1.2 and 1.5 kcal/mole, respectively, than their antiperiplanar forms.

In the n-propyl halides, whether as gases or as liquids, the balance of stability between the synclinal and antiperiplanar conformers, though somewhat small, is in

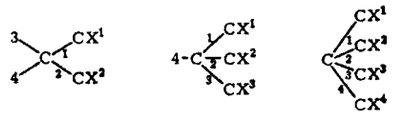
[23] *D. J. Millen* in *P. B. D. de la Mare* and *W. Klyne*: Progress in Stereochemistry. Butterworths Scientific Publications, London 1962, Vol. 3, Chapter 4.

[24] *S. Mizushima*: Structure of Molecules and Internal Rotation. Academic Press, New York 1954, Chapters 2 and 3.

the opposite direction[25,26]. However, the solid chloride and the solid bromide are both pure antiperiplanar forms[26,27], presumably because these more symmetrical forms, despite their lesser molecular stability, have the larger lattice energies. The synclinal form of ethylene chlorohydrin is more stable by 1.0 kcal/mole than the antiperiplanar, in the gaseous and in the liquid state, and now the solid substance consists entirely of the synclinal racemate[28].

For the purpose of showing how several equivalent systems of three energy hollows in torsions about single bonds may yield conformational isomers limited in number by symmetry, we next consider the assemblies of *contiguous equivalent bonds*, illustrated by a trimethylene dihalide, a methylidynetrimethyl trihalide, and a pentaerythritol tetrahalide, each with like halogen atoms.

The energetically favoured conformations about each carbon-carbon bond will be assumed to be *M*- and *P*-synclinal and antiperiplanar, that is *Msc*, *Psc*, and *ap* in symbols, which we can here with convenience contract to *M*, *P*, and *a*, respectively, since other bond conformations are not in question. In order to locate these partial conformations, it is convenient to number 1–4 the bonds of the non-halogen-bearing carbon atom, and correspondingly number 1, 2, *etc.*, the halogens, as shown at *(77)–(79)*. Then, the numbers of the bonds being cited as pre-subscripts, and of the halogens as post-superscripts, the symbols ${}_2a^1$, ${}_2M^1$, and ${}_2P^1$, for example, will mean that halogen-1 is antiperiplanar, *M*-synclinal, and *P*-synclinal, respectively, to bond-2.



(77) *(78)* *(79)*

Each molecule has fewer than the 9, 27, or 81 conformationally distinct isomeric forms, which would be allowed in the absence of structural equivalences. The trimethylene dihalide has two achiral forms and two enantiomeric pairs (one asymmetric). The methylidynetrimethyl trihalide has three achiral forms and four enantiomeric pairs (three asymmetric). The pentaerythritol derivative has three achiral forms and three enantiomeric pairs (two asymmetric). The various conformers are specified in the Table by the method described above. Pairs of enantiomers are indicated by braces.

It should be understood that the conformational descriptions given in the Table are far from unique. For example, the model of any one conformer of a pentaerythritol halide can be numbered in 24 ways; and for any fixed placing of the numbers, for instance, one satisfying the conditions ${}_2a^1 \equiv {}_3M^1 \equiv {}_4P^1$, these three completely equivalent descriptions will be available to specify the conformation of halogen-1; wherefore there will be 81 ways of describing that one conformation of the pentaerythritol halide. Some of these descriptions are more immediately informative than others as to the chiral status of the conformation; and, in the Table, we have chosen, often from among a number of alternatives that would have served equally well, descriptions which signalise in an obvious way the achiral and chiral forms, and the enantiomeric pairs among the latter.

Table 1. Conformers with equivalent contiguous bonds in $H_{4-n}C(CH_2X)_n$.

	Conformation	Symmetry
(77)	$H_2C(CH_2X)_2$	
(80)	${}_2a^1, {}_1a^2$	C_{2v}; axis bisects bond-angles 12 and 34.
(81)	${}_2M^1, {}_1P^2$	C_s; plane contains bonds 3 and 4.
(82)	${}_2M^1, {}_1M^2$ ${}_2P^1, {}_1P^2$	C_2; axis bisects bond-angles 12 and 34.
(83)	${}_2a^1, {}_1M^2$ ${}_2a^1, {}_1P^2$	C_1; asymmetric.
(78)	$HC(CH_2X)_3$	
	${}_4a^1, {}_4a^2, {}_4a^3$	C_{3v}; axis is along bond 4.
	${}_4a^1, {}_1a^2, {}_1a^3$	C_s; plane contains bonds 1 and 4.
	${}_4a^1, {}_3a^2, {}_2a^3$	C_s; plane contains bonds 1 and 4.
	${}_4M^1, {}_4M^2, {}_4M^3$ ${}_4P^1, {}_4P^2, {}_4P^3$	C_3; axis is along bond 4.
	${}_4M^1, {}_4M^2, {}_4P^3$ ${}_4P^1, {}_4P^2, {}_4M^3$	C_1; asymmetric.
	${}_4a^1, {}_4M^2, {}_4M^3$ ${}_4a^1, {}_4P^2, {}_4P^3$	C_1; asymmetric.
	${}_4a^1, {}_4a^2, {}_4M^3$ ${}_4a^1, {}_4a^2, {}_4P^3$	C_1; asymmetric.
(79)	$C(CH_2X)_4$	
(84)	${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4a^3, {}_3a^4$	V_d; axis bisects bond-angles 12 and 34.
(85)	${}_4P^1, {}_1P^4, {}_3M^2, {}_2M^3$	S_4; axis bisects bond-angles 14 and 23.
(86)	${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4P^3, {}_3M^4$	C_s; plane contains bonds 1 and 2.
(87)	${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4M^3, {}_3M^4$ ${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4P^3, {}_3P^4$	C_2; axis bisects bond-angles 12 and 34.
(88)	${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4a^3, {}_3M^4$ ${}_2a^1, {}_1a^2, {}_4a^3, {}_3P^4$	C_1; asymmetric.
(89)	${}_2a^1, {}_1M^2, {}_4P^3, {}_3M^4$ ${}_2a^1, {}_1P^2, {}_4M^3, {}_3P^4$	C_1; asymmetric.

The conformations of those trimethylene dihalides which are numbered in the Table are schematically represented at *(80)–(83)* below. The vibration spectra of trimethylene dichloride, dibromide, and di-iodide, each as liquid and in crystalline form, have been studied by *Brown* and *Sheppard*[29], who were able thus to specify certain features of the symmetry of the isomers present, and to distinguish fairly certainly between antiperiplanar and synclinal partial conformations about the carbon-carbon bonds. They found that the molecules of the stable solid forms of all three dihalides contain two synclinal partial conformations, and concluded that these forms consist of the C_2 racemates (one chiral variety at 82), because the C_s *meso*-form *(81)* is expected to be rendered unstable by pressure between the halogen atoms. The iodide was obtained also in a metastable solid form, the molecule of which contains two antiperiplanar partial conformations, and

[25] *E. Hirota*, J. chem. Physics *37*, 283 (1962).

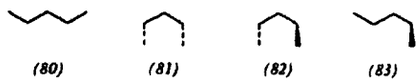
[26] *C. Komaki*, *I. Ichishima*, *K. Kuratani*, *T. Miyazawa*, *T. Shimanouchi*, and *S. Mizushima*, Bull. chem. Soc. Japan *28*, 330 (1955).

[27] *J. K. Brown* and *N. Sheppard*, Trans. Faraday Soc. *50*, 535 (1954).

[28] *S. Mizushima*, *T. Shimanouchi*, *T. Miyazawa*, *K. Abe*, and *M. Yasumi*, J. chem. Physics *19*, 1477 (1951).

[29] *J. K. Brown* and *N. Sheppard*, Proc. roy. Soc. (London) A *231*, 555 (1955).

hence must be the C_{2v} isomer *(80)*. The liquid dihalides were mixtures. Their main component was in each case the isomer of the stable solid form, the C_2 racemate. All three liquids contained a second isomer, shown by its spectrum to have one synclinal and one antiperiplanar partial conformation, and therefore to be the C_1 racemate [one chiral form at *(83)*]. The liquid dibromide and the liquid di-iodide contained a third isomer, characterised by two antiperiplanar partial conformations; this was the C_{2v} isomer *(80)*. This diiodide was identified with the metastable solid form of that dihalide.



(80) *(81)* *(82)* *(83)*

Gilman and his co-workers[30] isolated tetra-*o*-tolylsilane, $Si(C_6H_4Me\text{-}o)_4$, in four (optically inactive) forms having m.p.'s 145, 228, 300, and 344 °C, together with a possible fifth form of m.p. 270 °C. They stated that four *meso*-forms and two racemic mixtures (eight isomers in all) should be expected, but did not indicate what assumptions underlay this computation. If we assume four equivalent systems of three energy hollows, in which each methyl can bear the same space-relations to the three bonds holding other *o*-tolyl groups as each halogen in a pentaerythritol halide bears to the three bonds holding other halogenomethyl groups, we must expect isomers corresponding to the pentaerythritol isomers listed in the Table, namely, three achiral forms and three racemates (nine isomers in all). The forms of those numbered in the Table are shown at *(84)–(89)*. They can be derived by applying, with due allowance for enantiomers, conformations *(80)–(83)* independently to the 1,2-pair and the 3,4-pair of CH_2Br groups, the upper and lower pairs, respectively, in *(84)–(89)*, and then eliminating overlap from the overall conformational representations thus obtained.

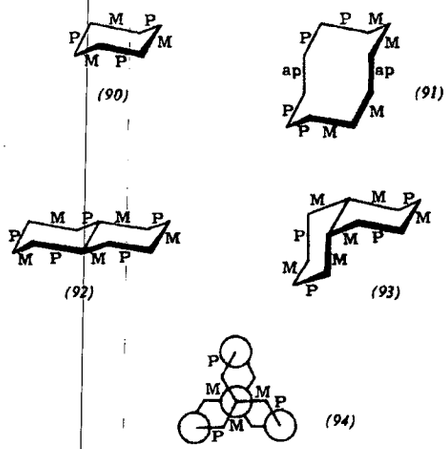


(84) *(85)* *(86)*



(87) *(88)* *(89)*

Conformations are strongly limited and selected by ring-formation. The chair-form conformation of cyclohexane has alternate *M*- and *P*-synclinal partial conformations about the ring-bonds *(90)*. An important conformation of cyclodecane[31] has two diametrically opposite antiperiplanar bonds, and, elsewhere, the balanced arrangement of *M*- and *P*-synclinal bonds shown at *(91)*. A *trans*-decalin composed of chair-form six-rings has an antiperiplanar bridge-bond, and otherwise alternate *M*- and *P*-synclinal ring-bonds *(92)*. A *cis*-decalin built from chair-form six-rings is chiral; one enantiomer has the bridge-heads joined by two tetramethylene loops of *MPMPM*-synclinal bonds (to specify them in order), as in *(93)*, and the other spans the bridge-heads by two *PMPMP*-loops. In 9,10-tetramethylene-*cis*-decalin, either all three tetramethylene loops are *MPMPM*, as shown in the Newman projection *(94)*, or else all are *PMPMP*.



(90) *(91)* *(92)* *(93)* *(94)*

4.3. Conformations Involving Two Torsional Energy Hollows

The normal conformation of hydrogen peroxide has been determined in a spectroscopic investigation by *Cross* and his co-workers[32]. There are only two effective energy hollows in the torsional potential-energy curve. These contain the energy levels of the *M*- and *P*-anticlinal conformations. Their valency angles are 94.8 °, and their torsion angles are ±119.8 °. Between the energy hollows rise, on the one hand, a synperiplanar barrier of 3.7 kcal/mole and, on the other, an antiperiplanar barrier of 0.85 kcal/mole.

The most important examples of optically stable conformers dependent on two energy hollows associated with torsions about single bonds are those of the biaryl series. These molecules have axial chirality, which may be specified, as has been described (Sub-section 2.6), on the basis of the Chirality Rule (p. 391). However, as already explained (Sub-section 1.5), we hold it allowable to regard the enantiomerically related structures as being conformationally distinct, and hence as suitable also for specifying chirality on the basis of the Helicity Rule (p. 391).

Throughout this field of examples, assignments *R* and *S* by the former method respectively correspond to assignments *M* and *P* by the latter, provided that the same sets of groups are employed in the two methods.

[30] *G. N. Russell Smart, H. Gilman,* and *H. W. Otto,* J. Amer. chem. Soc. *77*, 5193 (1955).

[31] *J. D. Dunitz* and *V. Prelog,* Angew. Chem. *72*, 896 (1960).

[32] *R. L. Redington, W. B. Olson,* and *P. C. Cross,* J. chem. Physics *36*, 1311 (1962).

And now that we have changed our procedure (cf. Sub-section 2.6) for choosing fiducial groups in the specification of axial chirality, making the effective chiral axes as short as possible, instead of, as formerly, as long as possible, the groups used for the defining of axial chirality in biaryl applications will always be the same as those, necessarily adjacent to the biaryl torsion bond, which are employed for the purpose of specifying its partial conformation.

These matters could be illustrated with a number of the biaryl examples treated in Paper II or in Sub-section 2.6 of this paper. It may suffice here to refer to formula *(39)* (p. 399). The axially chiral molecule represented is in the *R*-configuration, or, if we prefer, the *M*-conformation.

The second main group of examples of optically stable conformers conceptually derivable from two energy hollows in torsions around single bonds – often, in this area, around trunnion-like pairs of bonds – is in the group of the cyclophanes, or, more generally, that of bridged rings with aromatic bridge-heads. As described in Sub-section 2.7, these molecules have planar chirality, which may be specified on the basis of the Chirality Rule. However, some of the examples fulfil the wide definition of conformers given on p. 388; and, as explained in Sub-section 1.6, we consider it permissible to specify chirality of the conformations about the relevant bonds by means of the Helicity Rule. For such a specification, we propose to apply the Helicity Rule to the same atoms as served for the specification of planar chirality, namely, the pilot atom p and the atoms a, b, c, of the associated planar sequence (see p. 401), the torsion bond among the overall sequence of atoms p, a, b, c, being the bond a–b. This procedure yields, in this group of examples, a simple relation between the symbols of planar chirality and those of helicity: *R* and *S* correspond here, in contrast to the biaryls, to *P* and *M*, respectively.

A number of the examples of planar chirality given in Paper II, and several of those given in this paper, could be used in illustration. Thus, the planar chirality of the molecule *(8)* (p. 389) is *S* for the plane of the brominated benzene ring, and *R* for the plane of the other benzene ring. The corresponding conformational helicities are seen to be *M* and *P*, respectively. Similarly, the symbol *R* for the planar chiralities of molecules *(49)*, *(50)*, and *(52)* (p. 401) corresponds to the symbol *P* for the helicities of the conformations about the single bonds selected as described above.

4.4. Conformational Secondary Structures

The possibility of describing the chirality of secondary structures is attractive in that one may often thus achieve comprehensive but succint specifications. This was illustrated by means of the helicenes, in Sub-section 2.8. Among the conformations discussed in Sub-section 4.3, there are two in which a secondary-structural feature of readily definably chirality can be recognised.

The more obvious is 9,10-tetramethylene-*cis*-decalin, one chiral conformation of which is represented in *(94)*, on p. 409. It has been pointed out that each of the three tetramethylene loops in this molecule consists of five synclinal partial conformations in the chiral order *MPMPM*. We now note that the combined translation and rotation of a right-hand helix will carry the first atom of any of the three loops into the last atom of the same loop. This feature, if regarded as one of secondary structure, would allow the Helicity Rule to confer on the conformation as a whole the single symbol *P*, or, if the suggestion in Sub-section 3.6 is followed, *secP*, as an alternative to the longer designation in terms of individual partial conformations.

The other example is *cis*-decalin, one chiral conformation of which is shown in *(93)*. The same conformation could be represented more stereographically by a Newman projection, derived from *(94)* by omission of one tetramethylene loop. Each of the remaining loops would again be conformationally defined by the identical conformational order of its bonds, namely, *MPMPM*. And again the two ends of each loop would bear an identical helical inter-relation, which would allow the Helicity Rule to describe the whole conformation more simply as *P*, or, as we should prefer, *secP*.

5. Central Chirality to Ligancy Six

5.1. Outline of the Sequence-Rule Procedure for Ligancies Five and Six

By far the most important ligancy higher than four, for which the specification of chirality has yet presented any practical problems, is ligancy six of the octahedral atoms. These include non-metals, such as sexiligant phosphorus in the tris-2,2'-biphenylylenephosphate(VI) ion [33]; but the main family of examples comprises the transition metals in their six-co-ordinate complexes. We shall discuss in detail only the co-ordinatively sexiligant octahedral structures. The chirality of a quinqueligant atom could be specified after extension of its ligancy to six by means of a phantom atom, in a manner similar to that in which we specify the chirality of a trigonal pyramidal atom after extension of its ligancy to four. However, since we know of no molecule whose chirality depends on that of a configurationally stable, chiral, quinqueligant atom, we shall for the present refrain from detailing such a procedure. We shall also not attempt to treat ligancies higher than six, whether of atoms of the heavier elements, or of polyatomic elemental clusters.

We shall have to describe positional relations on the octahedral co-ordination figure in a more detailed way than has been done before. But we can start from some already used descriptions. *Werner*'s designations of the geometrical relations of pairs of ligands as *cis* or *trans*, according as they terminate an edge or body-diameter of the octahedron, are generally accepted.

[33] *D. Hellwinkel*, Angew. Chem. *76*, 756 (1964).

Werner numbered the octahedron, with 1 and 6 in *trans*-positions, and 2–5 in cyclic order *cis* to each. Our method of distinguishing stereoisomers involves numbering the octahedral model according to that prescription, but allowing its unspecified features, namely, those of where to start, and in what sense to take the cyclic order, to be determined by a sequence of the ligands, as described hereunder. Having thus numbered the octahedral model, we designate its chiral sense according to a pattern read in the numbers.

The problem of arranging six ligands in sequence, for the purpose of specifying their spatial positions about a centre, is neither necessarily nor advantageously solved in the same way as for four ligands. Four points are the fewest that can constitute a three-dimensional figure, and hence possibly provide a chiral figure. When we have only four ligands, their properties have to determine the sequence which is required to describe the chirality of their space-distribution. With six ligands, more than this necessary minimum of working data would be furnished were exactly the same method followed; and then, some very difficult problems of selection would arise. We avoid these by designing our sequence of ligands, to be, not the sole instrument for placing a sequence of numbers on the octahedral model, but the means of completing a spatial distribution of numbers already delimited by the geometrical pre-condition of their octahedral arrangement.

With this simpler requirement in view, we have some freedom to adjust our sequence-forming procedure in order to reduce the intricacies that two features of co-ordination structures would otherwise frequently create.

The first feature is the occurrence about a chiral centre of identical ligands, as is possible when the total number of ligands exceeds four. In order to deal with this, we use the circumstance that, just because the number exceeds four, we are not dependent only on their internal properties in order to secure a chirality-defining sequence. We can allow their internal properties to order them as far as may be, and then leave co-operation with the octahedral pre-condition, implied in the Werner pattern of numbering, to complete the sequence-in-space.

The second feature of octahedral structures that could create considerable complications is the frequent occurrence of chelate ligands. However, we can largely forestall these difficulties by devising a special procedure, as described in the next Sub-section, for ordering groups in sequence.

The general circumstance which forces on us an elaboration of our procedure of chiral specification, when we come to complexes, is that, with more than four ligands to be arranged about a chiral centre, the various relations of geometrical isomerism, and the relations of chirality, arise together. Our procedure must therefore be competent to specify both, and not the latter only. That is why, after arranging the ligating atoms in sequence, we put in an additional step that takes the octahedral geometry into account, namely, the step of numbering the groups on the octahedron. At that stage, the geometrical isomerism, apart from any associated chirality, is completely described. All is then ready for the final step, which is to specify chirality.

Our procedure is thus as follows. With an octahedral structure, as with any molecule, the first step is to apply the *Factorisation Rule* (p. 391), so separating the chiral elements, in particular, the sexiligant chiral centre with the detailed description of which this Section is concerned.

Independently of ligancy, centres, axes, and planes of chirality are treated in that order. To the sexiligant chiral centre we apply in the second step the *Octahedral Sequence Rule* (Sub-section 5.2), which is a rule designed to order the ligating atoms in a "linear" series of priorities. The third step is to apply the *Octahedral Numbering Rule* (Sub-section 5.3), so assigning to the ligating atoms a set of numbers, which takes joint account of the already determined priorities and of the octahedrally geometrical relations. The geometrical relations, apart from chirality, are then fully specified, and the only remaining step, the fourth, is to apply the *Octahedral Chirality Rule* (Sub-section 5.4), so specifying the chiral sense of the sexiligant atom. We proceed now to describe these steps in detail.

5.2. The Octahedral Sequence Rule and its Sub-Rules

Our procedure must allow for ligands, which range from unidentate to sexidentate ligands. The classes from bidentate to sexidentate constitute the chelate ligands. They could create formidable complications, if we should try to handle them only by the machinery provided to deal with atomic ligancies of four and less. For they build rings round the sexiligant atom, bridged and even multiply bridged rings if the ligand is more than bidentate; and then the sexiligant atom becomes a common bridge-head of all the rings, and sometimes a spiro-atom in addition. It would be possible, but usually intricate, to explore such ring structures by means only of the Standard Sub-rules (p. 391). However, we offer below an extended system of sub-rules, better adapted to cope with such situations. The position of complex chemistry, as a main division of chemistry, potentially comparable with organic chemistry, justifies such a special measure. The extended system is comprised in three "Octahedral Sequence Sub-rules", as we may call them, which are to be successively applied. The second of these new sub-rules incorporates the Standard Sub-rules. We shall first describe the new sub-rules, and then state them formally.

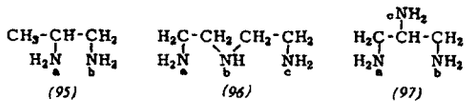
First, the ligands are ordered by classes, according to the number of atoms in each which are bound directly to the same sexiligant atom, a number which it will be convenient to call the *denticity* of a ligand. The denticity classes are ordered on the basis that higher denticities precede lower. The unidentate, that is, the non-chelate ligands will thus constitute the last class.

Secondly, the ligands of each denticity class are ordered, as far as possible, within their class. A ligand now takes its order from a *leading ligating atom*, which is a selected

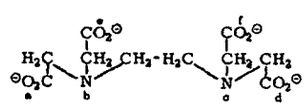
one of its terminal ligating atoms, or, if none is terminal as in an endless ligand, a selected one of its ligating atoms, selection being made by applying the Standard Sub-rules to the combined ligand. By "terminal" ligating atom is meant a terminal member of a series of ligating atoms contained in a ligand, regardless of whether or not it is at an extreme end of the ligand. The leading ligating atom of a non-chelate ligand is, of course, the only ligating atom that the ligand possesses. In each denticity class, the leading ligating atoms of the ligands, and hence the ligands themselves, are set in order, within the collective precedence of their denticity class, with terminal before non-terminal leading atoms, and otherwise as prescribed by the Standard Sub-rules (p. 391).

Thirdly, the ligating atoms of each chelate ligand are ordered within the collective precedence of the ligand. Apart from the leading ligating atom, the precedence of ligating atoms within a ligand is based on position in the ligand alone, and not on the properties used by the Standard Sub-rules. The leading ligating atom is given the first place; and then, proceeding from it along the longest continuous chain of linked atoms that leads to a terminal ligating atom, the successively situated ligating atoms, and, thereafter, the ligating atoms in the successively situated branches from that chain, are given successively lower places, all within the collective precedence of the chelate ligand. Direction round a cyclic ligand is taken as from the leading ligating atom to that one of the ligating atoms next on each side of it, which is given precedence over the others by the Standard Sub-rules. Any remaining ambiguity of direction in a bridged-ring ligand is resolved by taking at a bridgehead that path which would be preferred by the Standard Sub-rules.

In illustration of the described procedure, the internal priorities of the ligating atoms in some chelate ligands, assumed maximally ligated to the same central atom, are indicated by letter-labels (a > b > c > d, *etc.*) in formulae *(95)–(98)*. The first two of these are unbranched ligands, and the second two are branched ligands. In the latter, the ligating atoms in branches receive lower priorities than any in the main series. The only use of the Standard Sub-rules in these examples is to determine which of the non-equivalent ligating atoms of propylenediamine *(95)* is to be made the leading ligating atom.



(95) *(96)* *(97)*



(98)

We may now formally state the Octahedral Sequence Sub-rules which are to be successively applied:

(1) *Ligands of higher denticity precede those of lower.*

(2) *The leading ligating atom of a ligand being its terminal ligating atom most preferred by the Standard Sub-rules, or, in an endless ligand, the ligating atom which is so most preferred, the ligands are ordered, ended before endless, and otherwise as their leading ligating atoms would be ordered by the Standard Sub-rules.*

(3) *The ligating atoms of a ligand are ordered according to position, with diminishing precedence from the leading ligating atom along the longest continuous chain of atoms that leads to a terminal ligating atom, and thereafter in the successively situated branches from that chain. The sense of the succession in a cyclic ligand is taken as from the leading ligating atom to that next ligating atom which is preferred by the Standard Sub-rules, or, in case a choice remains, by following the path preferred by the Standard Sub-rules.*

5.3. The Octahedral Numbering Rule and its Sub-Rules

The Octahedral Sequence Rule gives to the differing ligating atoms a "linear" sequence, which has now to be converted into an "octahedral" sequence, by the use of a numbering scheme, preconditioned to describe octahedral arrangements, but capable of registering such information contained in the linear sequence as is significant for the description of the geometrical relations of the ligating atoms.

The pattern of the octahedral numbering scheme is *Werner*'s. This is prescribed in the first two of the following set of four sub-rules. The last two of these sub-rules adapt the priorities of the ligating atoms, as given by the Octahedral Sequence Rule, to the octahedral numbering pattern. The Octahedral Numbering Sub-rules, which are to be successively applied, are as follows:

(a) *The numbers 1 and 6 mark trans-positions.*

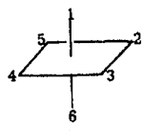
(b) *The numbers 2–5 form a cyclic sequence.*

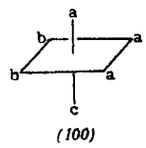
(c) *With the number 1 is associated the ligating atom which is most preferred by the Octahedral Sequence Rule; or, in case a choice is open, that most preferred ligating atom which allows the least preferred possible to be associated with the number 6; or, if a choice is still open, that which allows more preferred ligating atoms to be associated with lower numbers in the range 2–5.*

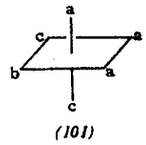
(d) *The numbers 2–4 are successively associated with the most preferred of the ligating atoms remaining available to each.*

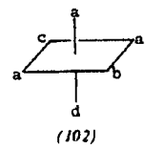
In order to show how the Octahedral Numbering Sub-rules work with sexiligant atoms, we number some illustrative formulae, in the first place achiral formulae, below. Chelate ligands are represented by symbols such as A–A, A–B, B–A–B, the leading ligating atoms of which are A, A, and B, respectively. The order of precedence of the ligating atoms, as this would be given by the Standard Sub-rules, is taken to be A > B, *etc.* It is assumed, as is the usual situation, that successive ligating atoms of chelate ligands ligate in *cis*-positions.

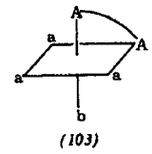
Non-chelate ligands are represented by a, b, *etc.* Their order, as given by the Standard Sub-rules, is taken to be a > b, *etc.*

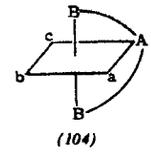

(99)


(100)

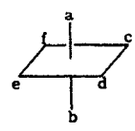

(101)

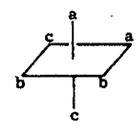

(102)

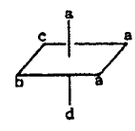

(103)

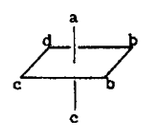

(104)

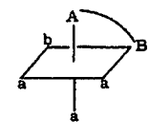
A set of numbers consistent with the Octahedral Numbering Sub-rules (a) and (b) is shown at *(99)*. The formulae *(100)–(104)* are so drawn that these numbers can be superposed on them by a translation alone, consistently with the Numbering Sub-rules (c) and (d). Now these are all achiral structures, and it is an easily proved characteristic of such that they can be numbered by the Octahedral Numbering Sub-rules in two completely equivalent ways, only one of which is illustrated in the diagrams. The alternative numberings are all obtainable by mirror-reflexions. For *(100)*, we reverse the positions of the numbers 2 and 3, and also 4 and 5. For *(101)*, we reverse 1 and 3, and also 5 and 6. For *(102)*, we reverse numbers 2 and 4; for *(103)*, numbers 3 and 5; and for *(104)*, 1 and 6. In every case, either of the alternative distributions of numbers on the octahedron, if carried into the name of the structure, produces an identical name, which, conversely, uniquely defines the achiral structure.

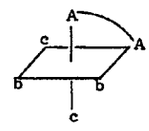

(105)

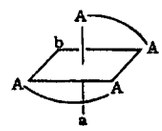

(106)

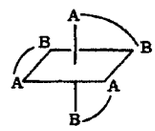

(107)

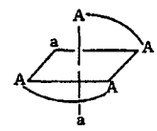

(108)

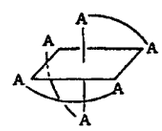

(109)

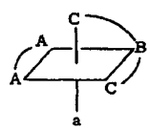

(110)

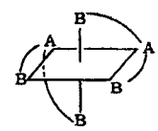

(111)

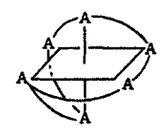

(112)

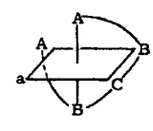

(113)

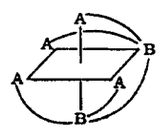

(114)


(115)


(116)


(117)


(118)


(119)

Formulae *(105)–(119)* illustrate application of the Octahedral Numbering Sub-rules to chiral structures. Again the formulae are so drawn that the numbering shown at *(99)* can be superposed by a pure translation consistently with the Octahedral Numbering Sub-rules. For many such structures, the numbering thus obtained is the only allowable one. But for others it is one of two or more completely equivalent number-distributions, inter-related by rotations. Structures *(113)*, *(116)*, and *(119)* each have two, structure *(117)* has four, and structure *(114)* has six such equivalent number-distributions. Obviously, these apparent alternatives, lead to the same name, which conversely, describes the same model, except only with respect to its chirality.

5.4. The Octahedral Chirality Rule

The Numbering Sub-rules are such that, when any chiral structure, such as one of those shown at *(105)* to *(119)*, is reflected in a plane, and the resulting structure is re-numbered, the result is the same as if the numbering as well as the structure, had suffered the reflexion. In other words, any chiral isomer and its enantiomer have their ligating atoms identically numbered, and, if the numbers are incorporated in a name, are represented by the same name. Thus the numbering system takes care of every feature of diastereoisomerism, excepting only associated chirality.

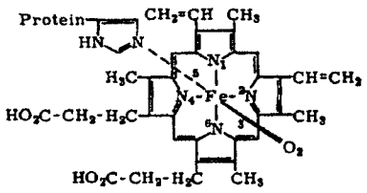
The outstanding matter of the specification of chirality is, however, very easily dealt with by reference to the numbering. The rule for so doing is as follows:

> **Octahedral Chirality Rule.** *The chiral centre of the numbered model is specified as R or S, according as the path of the numbers 1, 2, 3 in order appears right- or left-handed from the side of the model remote from 4, 5, 6.*

According to this rule, all the structures figured at *(105)–(119)* are in *R*-form. So also is that represented by *(120)*, which shows the iron atom and one valence-bond structure of the haem of the oxygen-myoglobin adduct[34]. The iron atom is σ-complexed, and two phantom atoms must make up the ligancy deficiencies in the two tertiary nitrogen atoms present in any valence-bond structure. Tertiary and quaternary nitrogen atoms in any such structure are always linked by conjugation, in the manner already illustrated in the cyanine ion *(16)* (p. 394). Hence, in the blended structure, each of the four nitrogen atoms carries half a phantom atom, and each nitrogen atom and each ring-carbon atom has

[34] *J. C. Kendrew, H. C. Watson, B. E. Strandberg, R. E. Dickerson, D. C. Phillips*, and *V. C. Shore*, Nature (London) *190*, 666 (1961); cf. *R. E. Dickerson* in *H. Neurath*: The Proteins. Academic Press, New York 1964, Vol. 2, p. 634.

a delocalised valency. The atomic numbers associated with these delocalised valencies are 3 for nitrogen atoms, $6^1/_3$ for carbon atoms adjacent to nitrogen, and 6 for other carbon atoms. The Octahedral Sequence Subrules place the quadridentate ligand ahead of the non-chelate ligands, and identify in the former the leading ligating atom, and the sense of the cyclic ordering. Thus, the first two ligating atoms will belong to the vinyl-bearing pyrrole rings, and their relative order will follow from comparative explorations from N-1 to vinyl-2 and from N-2 to methyl-6 (if we distinguish the substituted pyrrole moieties with their side-chains by the numbers here attached to their nitrogen atoms). Then, the Octahedral Numbering Rule completes the association of ligating atoms with numbers on the octahedron, as shown in *(120)*, and the designation of chirality follows.



(120)

5.5. Symmetry in Central Chirality with Ligancy Six

Octahedral chiral systems can belong to any of the following five symmetry classes. First, there is the asymmetric class, C_1, illustrated by models *(105)* to *(111)*, *(115)*, and *(118)*. Next higher in symmetry stands the C_2 class, which has one two-fold rotational axis as its only symmetry, and is illustrated in models *(113)*, *(116)*, and *(119)*. Then comes the C_3 class, which has one three-fold rotational axis as its only symmetry, as illustrated in model *(112)*. Above that stands the V class, whose symmetry comprises three two-fold rotational axes, as exemplified by model *(117)*. Finally, the highest class, D_3, whose symmetry is constituted from one three-fold and three two-fold rotational axes, is exemplified by model *(114)*. In these five classes, the "multiplicities" (of group theory), or "symmetry numbers" (of statistical mechanics), are also the numbers of equivalent number-distributions on the octahedral figure, namely, one, two, three, four, and six, respectively.

The first octahedral complexes to be assigned absolute configurations were of the D_3 class. The self-contained method of diffraction by a favourable crystal structure of X-rays of a critical wavelength [35] was applied to the ion tris(ethylenediamine)cobalt(III) by *Saito* and his co-workers [36], who thus showed that the isomer with $[M]_D = +600°$ in water has structure *(114)* (AA = en), and so is the *R*-enantiomer. By a comparative analysis of the relevant circular dichroism spectra, Mason and his co-workers have correlated this configuration with those of a number of other complexes of like symmetry, and thus have established that $[Cr(en)_3]^{3+}$ giving $[M]_D = +300°$, $[Co(ox)_3]^{3-}$ giving $[M]_D = -7500°$, and $[Cr(ox)_3]^{3-}$ giving $[M]_D = +8000°$ in water, all have the *R*-configuration [37]. These workers have given the rule, applying to complexes with D_3 symmetry of d^3 and d^6 metals, that according as the longest-wave, spin-allowed absorption along the axis of the uniaxial crystal has a positive or negative rotational strength, the configuration of the complex will be *R* or *S*. They also evolved a second self-contained method of determining absolute configuration, a method wholly based on the theoretical analysis of suitable circular dichroism spectra. Thus they showed [38], without reference to any substance of known chirality, that (−)-tris-(*o*-phenanthroline)ruthenium(II) has the *R*-configuration *(114)* (AA = *o*-phen).

Again, by comparative analyses of circular dichroism spectra, the same workers have shown [37] that certain ions of C_2 symmetry, *viz.* (+)-*cis*-diammine- and (+)-*cis*-dicyano-(bisethylenediamine)cobalt(III), have the *R*-configuration *(113)* (AA = ethylenediamine; a = NH_3, CN^-).

They have similarly shown that some C_1 (asymmetric) ions, *viz.* (+)-*cis*-chloro-, (+)-*cis*-bromo-, and (+)-*cis*-aquo-ammine(bisethylenediamine)cobalt(III), have the *R*-configuration *(111)* (AA = ethylenediamine; a = Cl^-, Br^-, OH_2; b = NH_3).

5.6. Secondary Structures Involving Ligancies Six

When a unique helical relation is apparent in a structure, the Helicity Rule (p. 391) affords a particularly easy description of the chirality. We have applied this description to conformations and to secondary structures; and, because of its convenience when applicable, we have treated as secondary some organic structures which are so only marginally, such as the helicenes. We now propose a similar liberty in the field of octahedral structures, again taking advantage of the circumstance that the term "secondary structure" is not defined.

Octahedral structures with three *cis*-pairs of ligating atoms, like within each pair, but either like or unlike as between the pairs, contain a helical axis. This property bears no uniform relation to symmetry. Some, though not all, C_1 structures, which, being asymmetric, contain no axis of symmetry, nevertheless possess a helical axis. Model *(110)* is an example: it has *secM*-helicity. A C_2 structure may have zero, one, or two helical axes. Such axes never coincide with the symmetry axis. Model

[35] *J. M. Bijvoet, A. F. Peerdeman*, and *A. J. van Bommel*, Nature (London) *168*, 271 (1951).

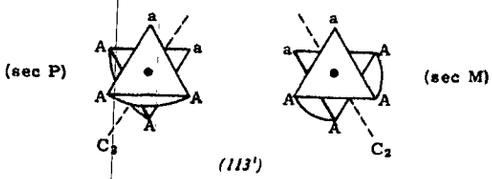
[36] *Y. Saito, K. Nakatsu, M. Shiro*, and *H. Kuroya*, Acta crystallogr. *8*, 729 (1955).

[37] *R. E. Ballard, A. J. McCaffery*, and *S. F. Mason*, Proc. chem. Soc. (London) *1962*, 331; *A. J. McCaffery* and *S. F. Mason, ibid. 1962*, 388; Trans. Faraday Soc. *59*, 1 (1963); Mol. Physics *6*, 359 (1963); *S. F. Mason*, Quart. Reviews *17*, 57 (1963); *A. J. McCaffery, S. F. Mason*, and *B. J. Norman*, Chem. Commun. *1965*, 132; *A. J. McCaffery, S. F. Mason*, and *R. E. Ballard*, J. chem. Soc. (London) *1965*, 2883.

[38] *A. J. McCaffery* and *S. F. Mason*, Proc. chem. Soc. (London) *1963*, 211.

(113) has two helical axes: about one it has *secM*, and about the other *secP*-helicity. All D_3 structures, without exception, contain four helical axes. One of these is co-incident with the three-fold axis of symmetry. None of the other three helical axes is co-incident with any of the three two-fold axes of symmetry. Model *(114)* is an example: with respect to the helical axis co-incident with the three-fold symmetry axis, it has *secM*-helicity: with respect to any of the other three helical axes, it has *secP*-helicity. The former assignment of helicity will probably be preferred on grounds of obviousness, but it is clearly not definitive unless the relevant axis of helicity is specified.

This discussion would modify the helicity symbols given to ions of C_2 symmetry, referable to model *(113)*, in a paper[39] which appeared while the present paper was in press: $P(C_2)$ would become *secP* or *secM*, according to the helical axis chosen; or, in the system which is always unequivocal, it would be *R*. The symbols *M* and *P* should refer to a helical axis, such as those shown in end-projection in the alternative representations *(113')* of *(113)*. Under octahedral geometry, the rotational axis C_2 is not a helical axis, because, *inter alia*, the chelate ligands AA spread apart along the direction of C_2.



(113')

We thank Dr. H. H. Westen, not only for the German translation, but also for discussions and proposals arising therefrom that stimulated many improvements in the paper as a whole.

Received: August 12th, 1965 [A 516/292 IE]
German version: Angew. Chem. *78*, 413 (1966)

[39] *A. J. McCaffery, S. F. Mason*, and *B. J. Norman*, J. chem. Soc. (London) *1965*, 5094.

COMMUNICATIONS

A Novel Synthesis of Adipic Acid from Acetylene and Acetic Acid

By Dr. J. DiPietro and Dr. W. J. Roberts

Research Laboratories of Celanese Corporation of America, Summit, New Jersey (U.S.A.)

It is known that carboxylic acids are formed when acetic acid is reacted with olefins in the presence of radical-producing agents[1,2].

We wish to report a novel synthesis of adipic acid by the free-radical addition of acetic acid to acetylene. A rocking bomb was charged with 1.8 kg of glacial acetic acid and 3.3 g (0.02 mole) of di-t-butyl peroxide. The bomb was then closed, purged with N_2 and heated. Once the temperature of the solution inside the bomb had reached 110 °C, anhydrous acetylene gas (4.94 g) was slowly introduced. The bomb was rocked and heated up to 120 ± 5 °C for 18 hours, after which it was cooled down to room temperature. The liquid portion of the reaction mixture was then distilled under nitrogen until most of the acetic acid was removed. Addition of cold H_2O separates water-clear crystals of adipic acid from an oily product; the latter possesses a molecular weight of about 300, with a carboxyl content of 36 % by weight and has no unsaturation detectable by infrared spectroscopy. Based on the acetylene charged the yield of adipic acid was 10 %. Unreacted acetylene (64 %) can be recovered.

It remains to be established whether the reaction proceeds step-wise through the formation of vinylacetic acid, or by a simultaneous free-radical addition of two moles of acetic acid to acetylene. It is of interest in this respect that vinylacetic acid, when added to a large excess of boiling acetic acid in the presence of di-t-butyl peroxide, yields adipic acid.

Received: October 4th, 1965 [Z 102/929 IE]
German version: Angew. Chem. *78*, 388 (1966)

[1] *W. Banes, F. J. Fitzgerald*, and *M. C. Nelson*, U.S.-Patent 2585723 (1952).

[2] *J. C. Allen, I. G. Cadogan*, and *H. D. Hey*, Chem. and Ind. *1962*, 1621.

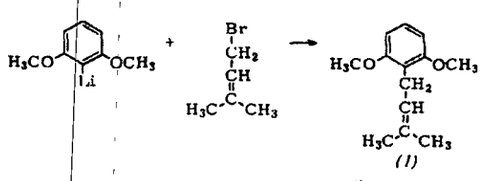
New Synthesis of 5-Chromanol Derivatives and of Dihydroseselin [1]

By Dr. K.-H. Boltze and Dr. H.-D. Dell

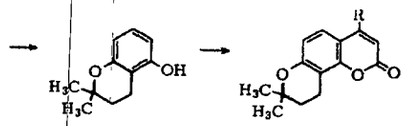
Chemische Abteilung der Troponwerke, Köln-Mülheim (Germany)

Dihydroseselin *(3b)*[2] previously has been obtained by cyclization from osthenol or, during ether cleavage, from osthol[3] (two-stage synthesis; 3.7 % yield).

2-Lithioresorcinol dimethyl ether, prepared from resorcinol dimethyl ether and phenyl-lithium[4], was treated with 3-methyl-2-butenyl bromide, affording the new compound 2-(3-methyl-2-butenyl)resorcinol dimethyl ether *(1)*, a colorless liquid of b.p. 101 °C/0.55 mm, $n_D^{20} = 1.5320$ (98 % yield). Ether cleavage of this product by heating with pyridinium chloride at 210–220 °C for 5 h gave 2,2-dimethyl-5-chromanol (dihydro-β-tubanol) *(2)* as yellowish needles, m.p. 120–122 °C (from light petroleum, b.p. 80–100 °C) in 74 % yield. This procedure constitutes a new and simple synthesis of compound *(2)*, which was previously obtained from 5-methoxycoumarin in five stages (15–36 % yield; 1.9–4.6 % overall yield) or from dihydro-2-isoprenylresorcinol in mediocre yield.



(1)



(2) *(3a)*, R = CH_3
(3b), R = H

A GUIDE TO ORGANOPHOSPHORUS CHEMISTRY

LOUIS D. QUIN
Distinguished Visiting Professor
Department of Chemistry
University of North Carolina at Wilmington
and
Professor Emeritus, Duke University and University of Massachusetts

STRUCTURAL ILLUSTRATIONS BY
GYÖNGYI SZAKÁL QUIN
Research Scientist
University of North Carolina at Wilmington

WILEY-INTERSCIENCE
A John Wiley & Sons, Inc., Publication
New York / Chichester / Weinheim / Brisbane / Singapore / Toronto

L00041127.022

formed. A summary of the stereochemistry of some important reactions that take place with stereochemical retention or inversion is also provided.

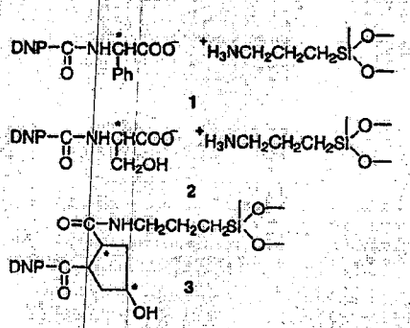
In specifying absolute configurations at phosphorus, the usual Cahn-Ingold Prelog rules for group sequence determination are used, with the following additions to handle phosphorus functional groups: the lone pair is always the group of lowest priority, and the P=O group is of lower priority than P–O–C.

...IC MIXTURE SEPARATION TECHNIQUES

...phine Oxides

...as been done on the preparation of optically active phosphine oxides, ...se they are immediate precursors, on reduction, of optically active ...There are important methods for obtaining the phosphine oxides ...procedures, to be discussed separately, but direct resolution is an ...s been demonstrated on many occasions. These compounds generally ...to the modern techniques of separation on a chiral chromatographic ...this resolution method already appears to be the preferred one for ...ide resolution. Several types of columns have been employed for ...

The well-known, commercially available Pirkle chiral packing ... been used effectively; this consists of the optically active group ...$H_3CONHC^*HPhCONHCH_2CH_2CH_2-$ bonded to silica gel. Other ...tically active column packings that have been used include ...cyclodextrin[17] and poly(trityl methacrylate).[18] Some specially designed Pirkle-type packings are also described in papers[19,20] that give full details on their preparation and the procedures for conducting the HPLC separations. For example, silica gel to which the 3-aminopropyl group was covalently bonded was treated to form a chiral salt structure (1 and 2) or to form a covalently bonded chiral amide group (3); chiral centers are marked with *, and DNP is the common Pirkle aryl substituent (3,5-dinitrophenyl).



L00041127.022